

Leptospira* SPP. EM RINS DE SUÍNOS ABATIDOS SOB INSPEÇÃO SANITÁRIA: POTENCIAL RISCO DE TRANSMISSÃO A TRABALHADORES DE MATADOURO FRIGORÍFICO

Kênia de Fátima Carrijo¹⁺, Elmiro Rosendo do Nascimento², Nelson Morés³, Marcos Antônio Zanella Morés³, Laerte Pereira de Almeida⁴ e Rogerio Tortelly⁵

ABSTRACT. Carrijo K.de F., do Nascimento E.R., Morés N., Morés M.A.Z., de Almeida L.P. & Tortelly R. [*Leptospira* spp. in kidneys of pigs slaughtered under sanitary inspection: potential risk of transmission of workers at slaughterhouses]. *Leptospira* spp. em rins de suínos abatidos sob inspeção sanitária: potencial risco de transmissão a trabalhadores de matadouro frigorífico. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(4):279-282, 2012. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Av. Pará, 1720, Bloco 2T, Jardim Umuarama, Uberlândia, MG 38400-902, Brasil. E-mail: keniacarrijo@famev.ufu.br

This study aimed to investigate the presence of *Leptospira* spp. in kidneys of pigs slaughtered under sanitary inspection, to verify their potential risk of transmission to slaughterhouse workers who handle them. We evaluated 100 kidneys from pigs coming from 50 different farms, slaughtered under sanitary inspection in the Santa Catarina state, Brazil. None of these animals showed clinical signs consistent with leptospirosis at the time of the ante-mortem inspection. We did not detect any sample positive for the bacterium *Leptospira* spp. by direct immunofluorescence, although 64 (64%) of the kidneys analyzed showed microscopic inflammatory changes (nephritis) after histopathological evaluation. Although has not been found positive samples for *Leptospira* spp. is of fundamental importance to constant monitoring of the etiologic agent, because of its zoonotic potential, which endangers the health of workers in pigs slaughterhouses.

KEY WORDS. *Leptospira* spp., sanitary inspection, kidneys, swine.

RESUMO. Este trabalho objetivou pesquisar a presença de *Leptospira* spp. em rins de suínos abatidos sob inspeção sanitária, a fim de verificar seu potencial risco de transmissão a trabalhadores de matadouro frigorífico que os manipulam. Foram avaliados 100 rins de suínos, procedentes de 50 granjas diferentes, abatidos sob Inspeção Sanitária, no Estado de Santa Catarina. Nenhum dos animais apresentava sinais

clínicos compatíveis com a Leptospirose na ocasião da inspeção *ante-mortem*. Não foi detectada nenhuma amostra positiva para a bactéria *Leptospira* spp. pela técnica de Imunofluorescência Direta, embora 64 (64%) dos rins analisados apresentassem alterações inflamatórias microscópicas (nefrites) após avaliação histopatológica. Mesmo não tendo sido encontradas amostras positivas para *Leptospira* spp.,

*Recebido em 30 de dezembro de 2011.

Aceito para publicação em 10 de agosto de 2012.

¹ Médica-veterinária, DSc. Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Av. Pará, 1720, Bloco 2T, Jardim Umuarama, Uberlândia, MG 38400-902, Brasil. +Autor para correspondência. E-mail: keniacarrijo@famev.ufu.br

² Médico-veterinário, PhD. Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Veterinária (FV), Universidade Federal Fluminense (UFF), Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói, RJ 24230-340, Brasil. E-mail: elmiro@vm.uff.br

³ Médico-veterinário, MSc. Embrapa Suínos e Aves, BR 153, Km 110, Distrito de Tamanduá, Caixa Postal 21, Concórdia, SC 89700-000, Brasil. E-mail: nelson.mores@cnpsa.embrapa.br; marcos.mores@cnpsa.embrapa.br

⁴ Médico-veterinário, DSc. FAMEV, UFU, Av. Pará, 1720, Bloco 2T, Jardim Umuarama, Uberlândia, MG 38400-902. Email: laerte@umuarama.ufu.br

⁵ Médico-veterinário, Dr.CsVs. Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, FV, UFF, Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói, RJ 24230-340. E-mail: rtortelly@hotmail.com

é de fundamental importância o constante monitoramento deste agente etiológico, em função de seu potencial zoonótico, que coloca em risco a saúde dos trabalhadores de matadouros frigoríficos de suínos.

PALAVRAS-CHAVE. *Leptospira* spp., inspeção sanitária, rins, suínos.

INTRODUÇÃO

A Leptospirose, enfermidade causada por bactérias patogênicas da espécie *Leptospira interrogans*, é uma zoonose de grande importância do ponto de vista sócio-econômico e/ou sanitário, em nível mundial, causando graves problemas, tanto para os animais, quanto para o ser humano (Blaha 1989, Faine et al. 1999, Perry & Hardy 2000). Os animais são considerados hospedeiros primários importantes para a persistência dos focos da infecção e o homem, hospedeiro acidental e terminal, sendo pouco eficiente na perpetuação da doença (Badke 2001).

Em suínos, a forma aguda da Leptospirose ocorre principalmente de forma subclínica, podendo passar despercebida na granja. A forma crônica é caracterizada pela ocorrência de abortamento no terço final da gestação, repetição de cio, mumificação fetal, natimortalidade, nascimento de leitões fracos, baixo número de leitões, descarga vulvar e morte embrionária (Ellis 1992). A eliminação de leptospirosas na urina é o fator mais importante na epidemiologia da Leptospirose em suínos. A urina de um suíno infectado pode eliminar grande quantidade de leptospirosas, entre 30 e 60 dias após a infecção (Sobestiansky & Barcellos 2007). Os sorovares mais comumente encontrados, infectando e causando a doença nesta espécie são: Pomona, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Canicola, Gryppotyphosa, Bratislava e Muenchen (Sobestiansky et al. 1999).

Além do prejuízo econômico, ocasionado em virtude da infecção aos animais, a Leptospirose é considerada uma doença de risco ocupacional, atingindo diferentes categorias profissionais, como trabalhadores em arrozais e canaviais, minas, matadouros frigoríficos e saneamento, além de tratadores de animais. Essas atividades geralmente são executadas na ausência de recursos tecnológicos e de equipamentos de segurança, por mão-de-obra desqualificada e mal remunerada, o que aumenta ainda mais o risco da infecção ser contraída (Almeida et al. 1994). Desta forma, funcionários que trabalham diretamente no abate de suínos têm risco ocupacional de adquirirem a Leptospirose suína (Bastos 2006, Mérien & Artharid 2005), por estarem expostos ao

seu agente etiológico enquanto manipulam rins de animais recém abatidos, muitas das vezes sem luvas, sendo este fato de grande relevância para a saúde coletiva. Tendo em vista o potencial risco à saúde destes trabalhadores, este trabalho objetivou pesquisar a presença de *Leptospira* spp. em rins de suínos abatidos sob inspeção sanitária, a fim de verificar-se seu potencial risco de transmissão a trabalhadores de matadouro frigorífico que os manipulam.

MATERIAL E MÉTODO

Foram avaliados 100 rins de suínos, procedentes de 50 granjas diferentes (dois animais por granja), abatidos em um estabelecimento sob Serviço de Inspeção Federal, no Estado de Santa Catarina, durante o mês de fevereiro de 2011. A escolha dos animais foi aleatória, sem discriminação de sexo, raça e idade. Também foi aleatória a escolha do rim colhido de cada animal, sem preferência quanto à posição do órgão, se direita ou esquerda. Nenhum dos animais apresentava sinais clínicos compatíveis com a Leptospirose, na ocasião da inspeção *ante-mortem*.

Após a coleta de cada rim na linha de inspeção, foi realizada a impressão de um fragmento com cerca de 0,5 a 1 cm, abrangendo tanto a região medular quanto a cortical, em lâminas para microscopia, as quais foram secas em temperatura ambiente, segundo metodologia descrita por Miller et al. (1989) e, posteriormente, foram fixadas em acetona P.A. por 10 minutos, secas em temperatura ambiente e estocadas a -20°C. Armazenadas sob refrigeração em caixas de polímero expandido contendo gelo, as lâminas foram encaminhadas e processadas no Laboratório de Patologia Animal do Complexo de Sanidade e Genética Animal do Centro de Pesquisa em Suínos e Aves da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Para o diagnóstico de Leptospirose, foi utilizada a técnica de Imunofluorescência Direta (IFD), conforme descrita por Ellis et al. (1982), na qual se utiliza anticorpos multivalentes (NVLS, Ames, IA, EUA) preparados em coelhos e conjugados com isotiocianato de fluoresceína. Essa técnica é constituída das seguintes etapas:

1. aplicação de cerca de 25 µl de conjugado anti-*Leptospira* sp. em uma diluição de 1:2500, deixando-o em câmara úmida a 37°C por 30 minutos;
2. lavagem das lâminas com água destilada rapidamente;
3. Segunda lavagem em Tampão Fosfato Salino (PBS) por 15 minutos em agitador orbital;

4. contra coloração com Preto de Eriocromo (1 grama de preto de eriocromo em 59 mL de água destilada – 1:60) por 10 a 20 segundos;
5. lavagem em água destilada;
6. montagem de lâmina-lamínula com solução de glicerina tamponada e
7. leitura das lâminas em microscópico de epifluorescência, onde se observa a presença de *Leptospira* com fluorescência forte e de formas típicas.

Como controle positivo da reação, foi utilizado esfregaço de culturas puras de *Leptospira interrogans* sorovares Canicola (maior tamanho celular) e Icterohaemorrhagiae (menor tamanho celular), fixados em chama (calor) e Acetona P.A. Como controle negativo foi utilizado esfregaço de cultura pura de *Escherichia coli*, fixado igualmente ao controle positivo. Tais culturas foram gentilmente cedidas pelo Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal (CEDISA), de Concórdia, SC.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi detectada nenhuma amostra positiva para a bactéria *Leptospira* spp. pela técnica de IFD, embora 64 (64%) dos rins analisados tivessem alterações inflamatórias microscópicas (nefrites) após avaliação histopatológica (dados não publicados). Martinez et al. (2006) encontrou duas amostras positivas para *Leptospira* spp. em 44 amostras analisadas, utilizando a mesma técnica adotada no presente estudo. O diagnóstico laboratorial da Leptospirose suína pode ser realizado por diferentes métodos na detecção direta ou indireta do agente ou do seu material genético (Santa Rosa et al. 1970, Faine et al. 1999). A escolha da técnica adotada no presente trabalho foi norteada levando-se em consideração as vantagens que esta representa. A demonstração de leptospirose com IFD utilizando anticorpos multivalentes fornece evidências definitivas de que houve uma infecção, ou seja, demonstra a presença do agente no tecido (Miller et al. 1989). Este fato é particularmente importante, quando se leva em consideração a epidemiologia da Leptospirose. As leptospirose podem penetrar ativamente no organismo através das mucosas (ocular e nasofaríngea, por exemplo), da pele íntegra (imersa em água) ou da pele com solução de continuidade (Levett 2001, Riet-Correa et al. 2007). Após a penetração, disseminam-se rapidamente por via sanguínea ou linfática (Badke 2001, Genovez 2007).

Uma vez presente nos tecidos, durante a manipulação para a execução dos exames que constituem a inspeção *post-mortem* (palpação e cortes do parênquima), os agentes de inspeção e os inspetores de carne podem se infectar, estando em risco a saúde desses trabalhadores (Baker et al. 1989).

Dentre as outras vantagens que a técnica adotada apresenta pode-se citar que sua metodologia apresenta rapidez, permitindo a execução imediata da técnica, é menos onerosa, além de permitir identificar diferentes sorovares (Miller et al. 1989). Adicionalmente, este método não sofre interferência quanto ao seu diagnóstico, como ocorre com outras técnicas, como a Soromicroaglutinação (SAM), preconizada como metodologia de referência pela Organização Mundial de Saúde (Faine et al. 1999). A interpretação desta última técnica é complexa devido às reações cruzadas que acontecem entre sorogrupos distintos, principalmente na fase aguda da doença (Rentko et al. 1992, Faine 1994, Mérien & Artharid 2005), além de haver a interferência no diagnóstico com o uso de vacinas polivalentes (Oliveira 1999).

Em virtude de não ter sido identificado nenhum animal portador de *Leptospira* por meio da IFD, pode-se inferir que este resultado está relacionado às práticas de saneamento adotadas nas granjas, proporcionando o controle da infecção por meio de uma série de medidas, como, por exemplo, a prática generalizada de vacinação de animais reprodutores, cuja prole (animais em terminação) recebe anticorpos de forma passiva. Além disso, as melhores condições de higiene adotadas no manejo e nas instalações, necessárias na suinocultura tecnificada, que incluem o controle de roedores, principal fonte de eliminação da bactéria (Badke 2001, Rende 2007, Soto 2007) favorecem a manutenção da sanidade dos animais. Complementarmente, a adoção de tratamento com antimicrobianos e o curto período de permanência dos animais terminados nas granjas contribuem para este quadro (Ribotta et al. 1999, Drolet et al. 2002).

Apesar da rapidez e facilidade na execução da técnica e na série de vantagens apresentadas, alguns autores que a utilizaram para a detecção de antígenos de *Leptospira* spp. em amostras de outros tecidos biológicos e fluidos de outras espécies animais, consideraram-na de baixa sensibilidade (Brown et al. 2003, Anzai 2006). Estes autores recomendam sua associação a outras técnicas, como por exemplo, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). No entanto, esta permite a identificação de fragmentos de DNA do microrganismo. Embora possua algu-

mas limitações, Donahue et al. (1991) e Oliveira Filho (2010) afirmam que a IFD é um teste bastante útil, rápido e eficaz para se estabelecer o diagnóstico desta doença sendo utilizado por vários laboratórios com resultados satisfatórios. Pescador et al. (2004) corroboram os autores supracitados, afirmando que este é um teste bastante útil no diagnóstico definitivo desta doença.

CONCLUSÃO

O risco de contaminação por *Leptospira* spp. para trabalhadores de matadouros frigoríficos sob inspeção sanitária que abatem suínos provenientes de granjas tecnificadas é baixo, mesmo assim é de fundamental importância o constante monitoramento deste agente etiológico, em função de seu potencial zoonótico.

Agradecimentos. Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida L.P., Martins L.F.S. & Brod C.S. Levantamento soropidemiológico de leptospirose em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental em localidade urbana da região sul do Brasil. *Rev. Saude Pub.*, 28:76-81, 1994.
- Anzai E.K. Utilização da PCR para o diagnóstico da leptospirose em cães naturalmente infectados por *Leptospira* spp. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006. 48p. (Disponível em: <http://www.uel.br/pos/ciencia_animal/arquivos/2006Eleine%20Anzai.pdf>)
- Badke M.R.T. *Leptospirose*. 2001. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/abraves-sc/pdf/Memorias2001/1_manoelrenato.pdf> Acesso em: 02 dez 2011.
- Baker T., Mcewen S., Prescott J. & Meek A. The prevalence of leptospirosis and its association with multifocal interstitial nephritis in swine at slaughter. *Can. J. Vet. Res.*, 53:290-294, 1989.
- Bastos M. *Leptospirose*. Disponível em: <<http://www.cca.ufes.br/caklbacteri.htm>>. Acesso em: 14 nov 2011.
- Blaha T. *Applied veterinary epidemiology*. Elsevier, Amsterdam, 1989. p.95-103.
- Brown P.D., Carrington D.G., Gravekamp C. Van de Kemp H., Edwards C.N., Jones S.R., Prussia P.R. & Garriques S. Direct detection of leptospiral material in human postmortem samples. *Res. Microbiol.*, 154:581-586, 2003.
- Donahue J., Smith B., Redmon K. & Donahue J. Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 3:148-51, 1991.
- Drolet R., D'Allaire S., Laroche R., Magar R., Ribotta M. & Higgins R. Infectious agents identified in pigs with multifocal interstitial nephritis at slaughter. *Vet. Rec.*, 150:139-143, 2002.
- Ellis W., O'Brien J., Neill S., Ferguson H. & Hanna J. Bovine leptospirosis: microbiological and serological findings in aborted fetuses. *Vet. Rec.*, 110:147-150, 1982.
- Ellis W.A. Leptospirosis in pig. *Pig Vet. J.*, 28:24-34, 1992.
- Faine S., Alder B., Perolat P. *Leptospira and leptospirosis*. 2ª ed. CRC Press, MedSci, Melbourne, 1999. 368p.
- Faine S. *Leptospira and Leptospirosis*. CRC Press, Boca Raton, 1994. 353p.
- Genovez M.E. Leptospirose, uma doença para além da época das chuvas. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/leptospirose/index.htm>. Acesso em: 14 nov 2011.
- Levett P.N. Leptospirosis. *Clin. Microbiol.*, 14:296-326, 2001.
- Martinez J., Segales J., Aduriz G., Atxaerandio R., Jaro P., Ortega J., Peris B. & Corpa J.M. Pathological and aetiological studies of multifocal interstitial nephritis in wasted pigs at slaughter. *Res. Vet. Sci.*, 81:92-98, 2006.
- Mérien F. & Artharid A.B. Leptospirosis a zoonotic under monitoring in New Caledonia and in the Pacific. *Prev. Vet. Med.*, 200:45-50, 2005.
- Miller D.A., Wilson M.A., Kirkbride C.A. Evaluation of multivalent *Leptospira* fluorescent antibody conjugates for general diagnostic use. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1:146-149, 1989.
- Oliveira S.J. Nova ameaça à reprodução em suínos, além da leptospirose? *Hora Vet.*, 19:87-90, 1999.
- Pescador C.A., Corbelline L.G., Loretto A.P., Júnior E.W., Frantz F.J. & Driemeier D. Aborto equino por *Leptospira* sp. *Cienc. Rur.*, 34:271-274, 2004.
- Perry G. & Hardy R. *A Scientific Review of Leptospirosis and implications for quarantine policy*. Editora Canberra, Austrália, 2000. 115p.
- Rende J.C., Rigobelo E.C., Marin J.M. & Ávila F.A. Infecção experimental em suínos jovens com *Leptospira interrogans* sorovar wolffi: determinação de parâmetros bioquímicos. *Cienc. Rur.*, 37:458-463, 2007.
- Rentko V.T., Clark N. & Ross L.A. Canine leptospirosis. A retrospective study of 17 cases. *J. Vet. Int. Med.*, 6:235-244, 1992.
- Ribotta M., Higgins R. & Perron D. Swine leptospirosis: low risk of exposure for humans? *Can. Vet. J.*, 40:809-810, 1999.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. *Doenças de ruminantes e eqüídeos*. Pallotti, Santa Maria, 2007.
- Santa-Rosa C.A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. *Rev. Microbiol.*, 1:97-109, 1970.
- Sobestiansky J. & Barcellos D.E.S.N. *Doenças dos suínos*. Cãnone Editorial, Goiânia, 2007. 780p.
- Sobestiansky J., Barcellos D., Mores N., Carvalho L.F. & Oliveira S. *Clínica e patologia suína*. 2ª ed. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1999. 464p.
- Oliveira Filho J.X. Estudo patológico, etiológico e importância econômica de nefrites em suínos abatidos no estado de Mato Grosso. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2010. 59p. (Disponível em: <<http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp125153.pdf>>).
- Soto F.R.M., Vasconcellos S.A., Pinheiro S.R., Bernarsi F. & Camargo S.R. Artigo de revisão: Leptospirose suína. *Arq. Inst. Biol.*, 74: 379-395, 2007.