

RÔMULO MENNA BARRETO VALENÇA

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DAS INFECÇÕES POR
Leptospira spp., Toxoplasma gondii e Chlamydomphila abortus
EM SUÍNOS DE GRANJAS TECNIFICADAS
NO ESTADO DE ALAGOAS**

RECIFE

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

RÔMULO MENNA BARRETO VALENÇA

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DAS INFECÇÕES POR
Leptospira spp., Toxoplasma gondii e Chlamydomphila abortus
EM SUÍNOS DE GRANJAS TECNIFICADAS
NO ESTADO DE ALAGOAS

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção de grau de Doutor em Ciência Veterinária

Orientador: Maria Madalena Pessoa Guerra

Co-orientador: Rinaldo Aparecido Mota

RECIFE- PERNAMBUCO

Outubro/2009

FICHA CATALOGRÁFICA

V158a Valença, Rômulo Menna Barreto
Aspectos epidemiológicos das infecções por *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Chlamydophila abortus* em suínos de granjas tecnificadas no estado de Alagoas / Rômulo Menna Barreto Valença. – 2009.
134 f. : il.

Orientador: Maria Madalena Pessoa Guerra
Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Medicina Veterinária.
Inclui referência e anexo.

CDD 636.089444

1. Medicina veterinária preventiva
2. Doenças parasitárias
3. Diagnóstico
4. Doenças bacterianas
5. Suinocultura
6. Alagoas (BR)
 - I. Guerra, Maria Madalena Pessoa
 - II. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DAS INFECÇÕES POR
Leptospira spp., Toxoplasma gondii e Chlamydomphila abortus
EM SUÍNOS DE GRANJAS TECNIFICADAS
NO ESTADO DE ALAGOAS

Tese de Doutorado elaborada por
RÔMULO MENNA BARRETO VALENÇA

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Madalena Pessoa Guerra
Orientadora- Departamento de Medicina Veterinária

Dra. Rosa Maria Piatti
Instituto Biológico de São Paulo

Prof. Dr. Wagner José Nascimento Porto
Campus Arapiraca/Polo - Vicosa - UFAL

Prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim
Unidade Acadêmica de Garanhuns - UFRPE

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, irmãos, esposa, e filhos, que constituem a razão de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar uma vida perfeita, com muita saúde, família sempre unida e muita esperança nos dias que virão;

Aos meus pais (Cláudio do Amaral Valença e Márcia Maria Menna Barreto Valença) e irmãos (Marcela, Cláudio e Ana Beatriz), por “tudo”;

À Esposa, Mãe, Amiga e Professora Sandra Regina Fonseca de Araújo Valença, pelo amor, apoio incondicional, ajuda e muita paciência nos momentos de dificuldades;

Aos meus filhos, razão de nossas vidas, João Pedro e José Luís, pela alegria de todos os dias;

Aos meus padrinhos, Paulo Luciano de Queiroz Menezes e Martha Menna Barreto de Queiroz Menezes, pela ajuda e participação em todos os momentos de minha vida;

À professora Maria Madalena Pessoa Guerra, pelas orientações e ensinamentos durante minha vida acadêmica;

Ao professor Rinaldo Aparecido Mota, pela oportunidade de convivência. Sua sabedoria e simplicidade andam sempre juntas e nos mostram que a vida acadêmica, mesmo com o volume de atividades que apresenta, pode ser vivida com base no respeito ao próximo e sempre de bom humor;

Às professoras Rosa Maria Piatti e Vanessa Castro, pelo auxílio na realização da pesquisa e simplicidade que demonstraram durante nossa breve, porém proveitosa, passagem pelo Instituto Biológico de São Paulo;

Ao amigo Giulliano Aires Anderline, pelo convívio nas dificuldades vividas durante o Doutorado;

Ao grande José Wilton Pinheiro Júnior, pela ajuda e ensinamentos na realização da pesquisa;

Aos Alunos do Centro Universitário CESMAC (Marcelo Araújo da Silva, Fabiano Santana e Luís Carlos de Souza), e também aos alunos da UFRPE (Orestes e Pedro Paulo), pelo empenho na realização da pesquisa. Aos colegas de pós-graduação Érica Samico e Eduardo Bento de Faria, pela boa vontade de sempre ajudar;

Aos amigos do CESMAC, pelo convívio diário em nossa atarefada, porém divertida rotina de trabalho.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo pesquisar os aspectos epidemiológicos nas infecções causadas por *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Chlamydophila abortus* em matrizes e reprodutores suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil. Foram avaliadas sete granjas localizadas em cinco municípios distribuídos nas regiões Leste e Agreste Alagoano. A análise dos fatores de risco foi realizada por meio da aplicação de questionários investigativos, constituídos por perguntas objetivas referentes ao criador, às características gerais da propriedade, ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário. O diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp. foi realizado pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* utilizou-se a técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e para o diagnóstico sorológico da infecção por *Chlamydophila abortus* empregou-se a microtécnica de Reação de Fixação do Complemento (RFC). Observou-se prevalência de 16,1% (55/342) de suínos soropositivos para a infecção por *Leptospira* spp. Os fatores associados à infecção foram: não realização de quarentena ($p = 0,003$; OR = 5,43; IC = 1,79 – 16,41) e a utilização da inseminação artificial ($p = 0,023$; OR = 3,38; IC = 1,18 – 9,66). Detectou-se associação significativa entre a infecção das matrizes e o aumento do número de natimortos e mumificados, assim como com a maior frequência de repetição de cio e aumento do intervalo desmama/estro das matrizes soropositivas. A prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* foi de 26,9% (92/342). O fator associado à infecção foi a introdução de reprodutores nas granjas nos últimos cinco anos ($p = 0,014$; OR = 1,83; IC = 1,13 – 2,96). A prevalência de anticorpos anti-*Chlamydophila abortus* foi de 10,5% (36/342). As variáveis que demonstraram associação significativa foram: utilização de bebedouros comuns para jovens e adultos ($p = 0,024$; OR = 10,83; IC = 1,36 – 86,03) e monta natural associada à inseminação artificial ($p = 0,05$; OR = 7,62; IC = 1,00 – 58,31). Os resultados obtidos nesse estudo indicam que os suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas estão expostos à infecção por *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Chlamydophila abortus*. Medidas sanitárias de prevenção e controle destes agentes infecciosos devem ser incentivadas na busca por melhoria da saúde animal e coletiva.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the epidemiological aspects in *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* and *Chlamydophila abortus* infection in sows and boars on commercial swine farms on the state of Alagoas, Brazil. It was evaluated seven pig farms located in five districts on the State of Alagoas. The risk factor analysis was performed by the application of research questionnaires, consisting of objective questions relating to the designer, the general characteristics of the property, the production, reproductive and health management. The serological diagnosis of infection by *Leptospira* spp. was performed by Microscopic Agglutination Tests (SAM). For the detection of anti-*Toxoplasma gondii* was examined by Immunoflorescency technique (IFA) and the *Chlamydophila abortus* sorological diagnosis was performed by complement fixation reaction microtechnique (RFC). Observed a prevalence of 16.10% (55/342) of pigs positive for infection by *Leptospira* spp. The factors associated with infection were: not perform quarantine ($p = 0.003$, OR = 5.43, CI = 1.79 to 16.41) and the use of artificial insemination ($p = 0.023$, OR = 3.38, CI = 1, 18 - 9.66). Was found significant association of infection of the index sows with the increasing number of stillborn and mummified as well as greater frequency of repetition of heat and increase the range weaning/oestrus of seropositive sows. The anti-*T. gondii* antibodies seroprevalence was 26.9% (92/342). The factor associated with the infection was the introduction of boars on farms in the last five years ($p = 0.014$, OR = 1.83, CI = 1.13 to 2.96). The anti-*Chlamydophila abortus* antibodies prevalence was 10.5% (36/342). The variables that showed significant association were use of common drinking for young and adults pigs ($p = 0.024$, OR = 10.83, CI = 1.36 to 86.03) and natural mating associated with artificial insemination ($p = 0.05$, OR = 7.62, CI = 1.00 to 58.31). The results suggest that pigs from technician farms in the state of Alagoas are exposed to infection by *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* and *Chlamydophila abortus*. Sanitary measures should be encouraged aiming to improve the prevention and control of these important infectious agents in animal and public health.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1 - Ciclo de vida de <i>Toxoplasma gondii</i>	34
Figura 2 - Ciclo de transmissão de <i>Toxoplasma gondii</i>	35
Figura 3 - Ciclo de replicação de <i>Chlamydia</i>	43

LISTA DE TABELAS

Artigos Científicos

Artigo 1

	Página
Tabela 1- Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por <i>Leptospira</i> spp. em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	81
Tabela 2 – Análise multivariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por <i>Leptospira</i> spp. em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	82
Tabela 3 – Associação entre a infecção por <i>Leptospira</i> spp. e os índices reprodutivos de matrizes suínas, em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	83

Artigo 2

	Página
Tabela 1- Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	88
Tabela 2 – Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	89
Tabela 3 – Análise multivariada para os fatores de risco associados à infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	90
Tabela 4 – Associação entre a infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> e os índices reprodutivos de matrizes suínas, em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	90

Artigo 3

	Página
Tabela 1- Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por <i>Chlamydophila abortus</i> em matrizes e reprodutores criados em granjas suínícolas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	113
Tabela 2 – Análise multivariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por <i>Chlamydophila abortus</i> em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008.....	113
Tabela 3 – Associação entre dados reprodutivos e infecção por <i>Chlamydophila abortus</i> em matrizes criadas em granjas suínícolas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil.....	114

LISTA DE ABREVIATURAS

CE	- Corpo Elementar
CEs	- Corpos Elementares
CIAs	- Centrais de Inseminação Artificial
CR	- Corpo Reticulado
DPI	- Dias Após a Inoculação
DT	- Dye Test
ELISA	- Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EUA	- Estados Unidos da América
HAI	- Hemaglutinação Indireta
IA	- Inseminação Artificial
IC	- Intervalo de Confiança
IDE	- Intervalo Desmame-Estro
LAT	- Teste de Aglutinação em Latex
MAD	- Teste de Aglutinação Direta Modificado
MMA	- Mastite Metrite Agalaxia
MN	- Monta Natural
OIE	- Organização Mundial de Saúde Animal
OR	- Odds Ratio
PCR	- Reação em Cadeia de Polimerase
PRRS	- Síndrome Respiratória e Reprodutiva nos Suínos
RFC	- Reação de Fixação do Complemento
RIFI	- Reação de Imunofluorescência Indireta
SAM	- Teste de Soroaglutinação Microscópica

ANEXO

	Página
Questionário Investigativo.....	115
Normas para publicação da Pesquisa Veterinária Brasileira.....	119
Normas para publicação na Preventive Veterinary Medicine.....	124

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Geral	17
2.1 Específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Desempenho Reprodutivo de Matrizes Suínas	18
3.2 Sanidade e índice de retorno ao estro em matrizes suínas	18
3.3 Aborto em matrizes suínas	19
3.4 A reposição de matrizes e reprodutores no plantel	21
3.5 A Inseminação Artificial na Prevenção de Doenças	23
3.6 A Transmissão de Agentes Infecciosos Via Sêmen	24
3.7 Leptospirose suína	26
3.8 Toxoplasmose suína	33
3.9 Clamidiofilose suína	43
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
5 ARTIGOS CIENTÍFICOS	64
5.1 Prevalência e fatores de risco associados à infecção por <i>Leptospira</i> spp. em granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil	65
5.2 Prevalência e fatores de risco associados à infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil	84
5.3 Prevalência e fatores de risco associados à infecção por <i>Chlamydomphila abortus</i> em granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil	98
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	115

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura industrial é uma atividade de grande impacto econômico e a superação dos desafios relacionados à produtividade e sanidade não têm sido suficientes para garantir o sucesso da atividade. As doenças em granjas suinícolas ocasionam sérios prejuízos aos produtores, interferindo de forma direta sobre os índices de produtividade dos plantéis. A ocorrência de doenças de caráter zoonótico que podem ocasionar danos à saúde da população que trabalha com os animais, assim como nos produtos de origem animal destinados ao mercado consumidor, ampliam o índice dos prejuízos (BIANCHI et al., 2006).

Para Rothschild e Plastow (1999), as perdas econômicas em decorrência das desordens reprodutivas são na ordem de bilhões de dólares. Estes prejuízos refletem-se no aumento da morbidade, mortalidade, gastos com serviços veterinários e perdas genéticas, observadas através do aumento no intervalo entre gerações e diminuição da intensidade de seleção.

O desempenho insatisfatório pode estar associado à presença de microrganismos específicos, assim como a efeitos ambientais (clima e instalações), manejo, genética, nutrição e problemas sanitários. Dessa forma, o diagnóstico da falha reprodutiva é uma tarefa difícil, necessitando de uma complexa pesquisa dos fatores de risco envolvidos na ocorrência de determinado problema reprodutivo para propor estratégias de controle e prevenção eficazes (AMARAL et al., 2000).

Para Vargas et al. (2006), os principais agentes infecciosos causadores de abortamentos em matrizes suínas podem ser virais (*Orthomyxovirus* Suíno Tipo A, *Arterivirus*, *Herpesvirus porcino* 1, *Adenovirus* e *Pestivirus*), assim como bacterianos (*Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Leptospira* spp. e *Brucella suis*) e parasitários (*Toxoplasma gondii*). Somam-se, ainda, as nefrites e cistites crônicas que determinam abortos ocasionais; os problemas no aparelho locomotor que ocasionam dor crônica e a presença de abscessos que promovem a regressão do corpo lúteo e a interrupção da gestação por estresse (MUIRHEAD e ALEXANDER, 1997).

Inúmeros fatores avaliados sob diferentes pontos de vista podem interferir sobre o desempenho reprodutivo nos rebanhos suínos. Adotando as matrizes como unidade experimental, Amaral et al. (2000) detectaram sete variáveis envolvidas: antecedentes reprodutivos, infecção urinária, temperatura retal no momento da cobertura, temperatura retal nos quatro dias pós-parto, método de cobertura, tempo de cobrição e nível de anticorpos para o parvovírus. Quando adotou as granjas como unidades experimentais, Madec (1986), além

das variáveis já descritas, detectou a influência do intervalo parto-cobrição, antecedentes reprodutivos dos machos, estado nutricional das fêmeas, receptividade ao macho no momento de cobertura, níveis de ingestão de lisina por dia do ciclo reprodutivo, atividade motora das fêmeas, temperatura ambiente no primeiro mês de cobrição e tipo de piso no local de cobertura.

É importante ressaltar que os fatores de risco para a ocorrência das doenças podem variar entre países ou entre regiões distintas, fazendo com que cada pesquisa envolvendo este tema possa determinar resultados diferentes devido à variedade de sistemas de produção, manejo e clima (MORES et al., 1995).

As pesquisas envolvendo distúrbios reprodutivos ocasionados por agentes infecciosos em granjas suínolas tecnificadas no Brasil ainda são escassas. No Estado de Alagoas, particularmente, não existem estudos enfocando essa temática. Desta forma, é importante a investigação dos agentes envolvidos neste processo para esclarecer sobre sua ocorrência e seus efeitos nos plantéis suínolas do Estado. A identificação dos fatores de risco envolvidos poderá ainda contribuir para a implementação de medidas de controle e profilaxia dessas enfermidades.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Estudar os aspectos epidemiológicos das infecções por *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Chlamydophila abortus* em matrizes e reprodutores suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas.

2.2 Específicos

- ✓ Calcular a prevalência da infecção por *Leptospira* spp. em matrizes e reprodutores de granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas;
- ✓ Calcular a prevalência da infecção por *Chlamydophila abortus* em matrizes e reprodutores de granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas;
- ✓ Calcular a prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em matrizes e reprodutores de granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas;
- ✓ Identificar os fatores de risco associados às infecções por *Leptospira* spp., *Chlamydophila abortus* e *Toxoplasma gondii* em granjas suinícolas tecnificadas do Estado de Alagoas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Desempenho Reprodutivo de Matrizes Suínas

O desempenho produtivo em um sistema de exploração de suínos está diretamente relacionado à eficiência reprodutiva, medida pelo número de leitões produzidos por fêmea por ano. A eficiência reprodutiva obtida em criações tecnificadas de pequeno e médio porte no sul do Brasil é da ordem de 9,5 leitões/leitegada e 1,9 partos/porca/ano (DIAL et al., 1992). Já existem granjas no Brasil que registram médias anuais de 30 leitões desmamados/porca/ano (NEVES, 2006) e, em se tratando de potencial reprodutivo, existem relatos de índices de 32 leitões desmamados/porca/ano (PEREIRA, 2004).

Neste contexto, a taxa de parição em uma granja comercial deve alcançar índices iguais ou superiores a 90%, interferindo de forma direta a produtividade de um plantel. Seus resultados interferem sobre os setores de cobrição, gestação e maternidade, influenciando de forma marcante o custo de produção de leitões/porca/ano. Fatores como a preparação dos lotes de leitões a serem introduzidas no plantel, manejo de desmame, práticas de manejo com as matrizes recentemente cobertas, assim como o monitoramento sanitário dos rebanhos, podem ser alguns dos fatores responsáveis pelas falhas reprodutivas nestas granjas de alto desempenho (SILVEIRA, 2007).

Em pesquisa realizada por Amaral et al. (2000), observou-se que das 271 matrizes avaliadas, 236 (87,1%) pariram em média $11,28 \pm 2,8$ leitões, onde 36 (11,4%) apresentaram repetição de estro, 3 (1,1%) abortaram e 1 (0,4%) apresentou falsa gestação. Os autores determinaram que as fêmeas com perfil reprodutivo adequado deveriam apresentar resultados de tamanho de leitegada superiores a 10,8 leitões/parto, tempo de cobertura superior a quatro minutos, cobertura em sistema de monta natural, não apresentar febre no dia da cobertura e nos quatro dias subseqüentes ao parto, não ter infecção urinária e estar imunizada contra o parvovírus.

3.2 Sanidade e Índice de Retorno ao Estro em Matrizes Suínas

A manutenção no plantel de matrizes já selecionadas, objetivando alcançar a meta do número de coberturas semanais, favorece o aparecimento de falhas na concepção, determinando prejuízos sobre a taxa de parição. O retorno ao estro pode tornar-se mais

freqüente pelo fato destas fêmeas terem tido mais contato com fatores limitantes a uma gestação, como agentes infecciosos, umidade e higiene das baias, problemas de aprumos, fatores determinantes de estresse, dentre outros. No manejo de granjas de alto desempenho, preconiza-se que as fêmeas que apresentaram retorno ao estro ou abortamento sejam novamente cobertas desde que não demonstrem sinais clínicos referentes a processos infecciosos (VARGAS et al., 2006).

Os retornos regulares ao estro, compreendidos entre os dias 18 e 24 pós-cobertura, ocorrem devido ao não reconhecimento fisiológico da gestação. Geralmente estão associados a fatores como incorreta detecção do cio, qualidade da dose inseminante, falhas no procedimento ou momento de inseminação, morte espermiática ou embrionária, falhas na ovulação ou no transporte dos oócitos, cistos foliculares, assim como falhas na higienização das baias ou galpão de gestação. Em rebanhos bem manejados, consideram-se aceitáveis índices que variem entre 5 e 9% de retorno regular ao estro (MEREDITH, 1995).

Os retornos irregulares compreendem a apresentação do cio em intervalos mais curtos (< 18 dias) ou mais longos (> 24 dias) que a duração fisiológica do ciclo estral na porca, que é de 21 dias. Em granjas comerciais, considera-se como normal os índices entre 2 a 4% de ocorrência desse evento. Os retornos que acontecem antes dos 18 dias pós-cobertura podem estar relacionados às falhas endócrinas da fase luteal do ciclo estral, inseminações fora do período do estro e falhas ovulatórias.

As repetições de cio ocorridas após os 24 dias de cobertura podem ocorrer devido à inatividade ovariana e não detecção do estro. Quando observadas entre os dias 26 e 37 de gestação, caracterizam reconhecimento inicial da gestação com posterior interrupção ocasionada por ocorrência de febre, agentes infecciosos ou micotoxinas (MEREDITH, 1995). Para Espörke (2006), a razão entre os retornos regulares e irregulares deve ser igual ou menor a 35%. Quando essa razão for maior que 35%, sugere-se elevado grau de infecção uterina.

3.3 Aborto em Matrizes Suínas

As doenças reprodutivas de ocorrência nos rebanhos suínos são responsáveis por prejuízos econômicos consideráveis em todo o mundo. Os sinais reprodutivos observados nas matrizes suínas são muito variáveis, podendo ocorrer desde uma infecção sub-clínica a uma interrupção na gestação. Esta variação sofrerá influência tanto do estado fisiológico

apresentado pelo animal infectado, quanto pelo grau de agressividade do agente etiológico causador da doença (GRESHAM et al., 2003).

Um grande número de agentes virais e bacterianos foram apontados como responsáveis por falhas reprodutivas em porcas, podendo promover sintomatologia clínica na matriz ou ultrapassar a barreira placentária e ocasionar a infecção dos conceptos (MENGELING et al., 2000). A interrupção dos mecanismos que promovem a prenhez favorece a ocorrência dos abortos. Estes eventos não devem ultrapassar 2% (COSTA et al., 2005). A classificação dos tipos de aborto leva em consideração as variações das causas envolvidas, podendo ocorrer por fatores infecciosos ou não.

Sendo de 114 dias o período de duração fisiológico da gestação na espécie suína, o abortamento pode ser definido como a expulsão dos fetos antes dos 110 dias de gestação, sem que nenhum destes leitões sobreviva por período superior a 24 horas (VARGAS et al., 2006; SOBESTIANSKY et al., 2007). As causas não infecciosas seriam responsáveis por 60% destes abortamentos. Já as ocorrências infecciosas estariam relacionadas a enfermidades como Doença de Aujeszky, Influenza Suína, Síndrome Respiratória e Reprodutiva Suína (PRRS), Ruiva, Leptospirose, Brucelose e Toxoplasmose (VARGAS et al., 2006).

As causas não infecciosas de abortamentos estão relacionadas às falhas maternas, tendo a luteólise como agente desencadeador (MEREDITH, 1995). Para este autor, 70% dos abortamentos em matrizes suínas estão relacionados à infertilidade sazonal, onde demonstrariam dificuldade de manutenção da gestação durante os períodos de verão e outono, caracterizando a infertilidade de verão e a síndrome de aborto do outono, os quais ainda não apresentam origens totalmente esclarecidas. Para Silveira (2007), estresse, problemas no aparelho locomotor, baixo nível de higiene, pouco contato com o reprodutor, reação vacinal, substâncias tóxicas, rações contaminadas por fungos, fotoperíodo decrescente, temperaturas extremas, queimaduras solares são caracterizados como fatores genéricos promotores de abortamento em matrizes suínas.

Os abortos infecciosos originam-se da invasão de microrganismos no ambiente uterino, promovendo morte fetal ou acometimento da placenta, dificultando o suprimento sanguíneo direcionados aos fetos e promovendo septicemia e febre (MUIRHEAD e ALEXANDER, 1997). Estes abortos são observados, inicialmente, através de sintomas de desconforto da fêmea e culminam com a expulsão dos fetos em decomposição e toxemia nas matrizes. Estas podem recuperar-se de forma espontânea em alguns dias, porém seu desempenho reprodutivo para futuras coberturas estará prejudicado.

De acordo com Vannier (1999), os agentes infecciosos responsáveis por falhas reprodutivas em porcas utilizam duas rotas tidas como principais. A primeira onde a infecção se dá através do trato genital, com a penetração no ambiente uterino durante os períodos de estro ou no parto. Na segunda, a infecção ocorre via sanguínea, com a infecção dos conceptos após viremia ou bacteremia.

A septicemia é observada quando ocorre a presença maciça do agente na corrente sanguínea e, em geral, é acompanhada por toxemia e febre. Os efeitos ocasionados pela toxemia serão variáveis de acordo com a quantidade de toxina presente, podendo ser considerada uma grande responsável pela ocorrência de abortos em porcas (MUIRHEAD et al., 1986).

A toxemia pode interferir sobre o controle endócrino uterino, assim como ocasionar danos ao epitélio endometrial. Os efeitos tornam-se sistêmicos nos casos de infecção aguda, proporcionando a ocorrência de febre e a possível instalação de uma placentite favorece a liberação de prostaglandinas durante o processo inflamatório. Estas irão atuar diretamente na lise dos corpos lúteos, favorecendo a queda nos níveis de progesterona e consequente interrupção da gestação, favorecendo assim ao aborto (SOBESTIANSKY et al., 2007).

3.4 A Reposição de Matrizes e Reprodutores no Plantel

As falhas reprodutivas em rebanhos suínos ocasionam elevados prejuízos aos produtores. O aumento dos dias não produtivos e as altas taxas de remoção de matrizes e reprodutores do plantel favorecem a queda dos índices de produtividade desejados, promovendo grandes perdas à cadeia de produção da carne suína (VARGAS et al., 2006). Distúrbios que envolvem o retorno ao estro após cobertura, abortamentos, fêmeas vazias ao parto, assim como longos períodos de anestro, constituem o principal motivo de descarte de fêmeas em plantéis suínos. A taxa de remoção anual de matrizes em granjas comerciais é de, aproximadamente, 50% e 32% a 40% destes descartes ocorrem devido às falhas reprodutivas (KOKETSU et al., 1997).

O crescimento dos sítios de produção de suínos em granjas tecnificadas favorece de forma direta o aumento do fluxo de animais nos diferentes setores de produção das granjas. O fluxo de fêmeas reprodutoras no rebanho estará sob influência da taxa anual de reposição de matrizes, assim como da estrutura de idades do plantel, representada pela ordem de parto das fêmeas. A introdução de leitoas nos plantéis suínos com o objetivo de substituição das fêmeas

descartadas é um manejo bastante indicado. Recomenda-se que, anualmente, esta prática alcance índices anuais de 30 a 50% do número total de matrizes do rebanho (SILVEIRA, 2007).

A busca pela maximização constante dos resultados favorece a procura por maior eficiência reprodutiva das matrizes, não sendo admitidas perdas, assim como lacunas na produção de leitões devido às falhas reprodutivas. Os riscos de perdas se tornam reais, principalmente no que se refere à queda do número de matrizes parindo com consequente redução do número de leitões produzidos. Um reflexo observado diante do surgimento destes eventos é um completo descontrole no fluxo de produção, decorrente da elevação imediata e desorganizada do número de matrizes, buscando-se a recuperação das perdas anteriores. Dessa forma, tornam-se frequentes um estrangulamento das instalações e um descompasso da produção e do risco sanitário, principalmente devido ao aumento do fluxo de produção, limpeza e desinfecção, vazio sanitário e adensamento de animais confinados (BRANT, 2008).

Neste sentido, as leitoas de reposição representam entre 16 e 18% das matrizes do plantel, sendo responsáveis por 13% dos leitões nascidos na granja (BRANT, 2008). Porém, para a entrada de animais em uma granja deve-se observar algumas recomendações sanitárias de extrema importância, pois podem gerar consequências reprodutivas a partir da introdução de animais portadores de agentes infecciosos envolvidos em distúrbios reprodutivos. Este manejo deve envolver práticas de monitoramento sorológico e imunização dos animais a serem introduzidos, cuidados na alimentação, nas práticas de manejo que estarão destinadas ao melhor desempenho reprodutivo destas leitoas (SILVEIRA, 2007). É de grande importância o conhecimento do status sanitário da granja fornecedora dos animais reprodutores, assim como da granja que irá receber estes animais. Esta atuação irá garantir um planejamento do controle e indução da imunidade no lote antes da primeira cobertura.

De acordo com Ciacci-Zanella et al. (2008), um surto de Doença de Aujeszky foi observado no oeste do Estado de Santa Catarina no ano de 2004, onde, após rastreamento epidemiológico, detectou-se a origem do foco como sendo de animais introduzidos em granjas em processo de despovoamento e repovoamento sem nenhum controle de biossegurança. Os suínos foram fornecidos por uma granja que distribuía reprodutores ilegalmente, sem certificação sanitária. Esta granja trabalhava em sistema de integração com 40 produtores, onde eram fornecidos reprodutores e leitoas para reposição de plantel e animais para terminação. Após testes sorológicos, foram detectados anticorpos anti-Vírus da Doença de Aujeszky em 12 daquelas propriedades integradas. Da mesma forma, em uma granja

localizada a 2,5 Km de raio de distância do foco inicial, que funcionava como central de inseminação e fornecia sêmen para outras cinco granjas do mesmo proprietário, também foram detectados reprodutores com reação positiva aos testes.

Na suinocultura moderna trabalha-se com dois sistemas de introdução de leitoas no plantel. A compra direta de leitoas pré-púberes e a auto-reposição, onde são utilizadas fêmeas nascidas na própria granja para a reprodução. Ambos os métodos apresentam vantagens e desvantagens que irão variar de acordo com o tamanho do plantel, sanidade e grau de profissionalismo empregado (BRANDT, 2008). A compra de leitoas pré-púberes, método mais utilizado e tido como mais conservador, apresenta uma desvantagem marcante relacionada ao grande risco sanitário da introdução de agentes infecciosos a partir da importação de animais.

No caso de rebanhos com maior número de animais, o método de auto-reposição das matrizes é bastante recomendável, porém são necessárias algumas exigências para o alcance da eficiência de sua utilização. É necessário um número mínimo de 10% de avós no plantel, existência de instalações extras para a recria e manejo específico direcionado a esta categoria de animal. A grande vantagem deste método é a possibilidade de se trabalhar em um rebanho fechado com elevado grau de biossegurança e menores riscos na introdução de patógenos (BRANDT, 2007).

Tentando minimizar os efeitos sanitários sempre presentes nos manejos de reposição dos lotes, recomenda-se a realização de avaliações zootécnicas das leitoas introduzidas, cuidados com o calendário de imunizações, assim como com os protocolos de imunizações (BRANDT, 2008). A taxa de reposição dos reprodutores não é menos importante que a das leitoas, devendo ser bem planejada e executada na tentativa de garantir um atraso genético mínimo e favorecer a produção constante de sêmen de qualidade (ANTUNES, 2007)

3.5 A Inseminação Artificial na Prevenção de Doenças

A inseminação artificial (IA) é uma biotécnica que vem trazendo grandes avanços ao desempenho produtivo e reprodutivo nas granjas produtoras de suínos, através das técnicas de inseminação transcervical, pós-cervical e intra-uterina profunda (BIANCHI et al., 2006). A utilização desta biotécnica possibilita a melhoria das condições sanitárias de um plantel, mantendo-se os sistemas de produção sanitariamente fechados e geneticamente abertos. Desta

forma, pode-se afirmar que a sanidade é melhor em núcleos produtores de suínos que utilizam a IA, quando comparados àqueles que utilizam monta natural (BOUMA, 2000).

Porém, falhas na utilização desta ferramenta de auxílio reprodutivo podem gerar prejuízos severos a um sistema de produção. Existe a possibilidade de veiculação de agentes infecciosos para um grande número de fêmeas através da utilização de um único ejaculado contaminado. A infecção pode ocorrer de forma direta, por meio do reprodutor infectado que forneceu o ejaculado ou em algumas das etapas de manipulação, armazenamento ou no próprio ato de inseminação através de falhas na higiene em todas as etapas envolvidas (SOBESTIANSKY e MATOS, 2000).

É de fundamental importância o conhecimento da cadeia epidemiológica que envolve cada enfermidade passiva de transmissão via sêmen, para elaborar e implementar ações sanitárias efetivas que garantam qualidade e segurança das doses de sêmen a serem utilizadas no plantel ou que sejam comercializadas para outras unidades de produção (GUÉRIN e POZZI, 2005).

3.6 A Transmissão de Agentes Infecciosos Via Sêmen

O sêmen pode veicular patógenos que promovem efeitos negativos sobre o desempenho produtivo e reprodutivo dos suínos. Sendo assim, animais doentes devem ser afastados das coletas para reduzir os riscos de transmissão de patógenos. Porém, existem animais com infecção subclínica que apresentam grandes chances de veicular agentes infecciosos via sêmen (GUÉRIN e POZZI, 2005). Durante a fase de viremia todas as viroses podem ser potencialmente transmitidas via sêmen (Weitze, 1996). Dentre os agentes virais transmissíveis via sêmen citam-se o vírus da febre aftosa, da doença vesicular suína, da enterovírus, da peste suína clássica e peste suína africana, do parvovírus, da doença de Aujeszky, da PRRS, da encefalite japonesa B, reovírus, adenovírus e circovírus.

São inúmeras as enfermidades bacterianas que podem utilizar o sêmen como veículo de transmissão da infecção. Para Althouse et al. (2000), os principais agentes bacterianos detectados nas amostras seminais foram: *Alcaligenes xylosoxydans*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* e *Stenotrophomonas [Xanthomonas] maltophilia*. A contaminação bacteriana do sêmen acarretou motilidade espermática, geralmente inferior a 30%; aglutinação espermática; alto índice de lesão acrossomal (> 20%); e acidificação do plasma seminal (pH entre 5,7 e 6,4) em 93% das

amostras avaliadas. Da mesma forma, a utilização de doses de sêmen contaminadas eleva o índice de repetição de estro entre 17 e 100%, de acordo com o tempo de armazenamento da dose sob refrigeração. Granjas que utilizaram doses armazenadas por 48 horas observaram 100% de retorno ao estro nas matrizes inseminadas por períodos de 17 a 25 dias pós-inseminação.

Além dos baixos índices de concepção, eleva-se o risco eminente de infecção genital da fêmea inseminada com doses contaminadas. São frequentes as descargas vulvares multifatoriais, repetições de cio, abortos, aumento nos índices de natimortos e mumificados nas leitegadas, redução no número de leitões nascidos vivos e aumento da frequência de leitões fracos (SOBESTIANSKY e MATOS, 2000).

Para Perestrello-Vieira e Perestrello-Vierira (1995), os efeitos da utilização de doses de sêmen contaminadas sobre matrizes em estro são reduzidos pelos mecanismos de proteção não específicos do útero, os quais são muito eficazes durante os 2 a 3 dias de cio. Neste período, os polimorfonucleares atuam eliminando o excesso de sêmen e corpos estranhos, incluindo vírus e bactérias. Diante disto, é mais freqüente a ocorrência de distúrbios reprodutivos em fêmeas inseminadas tardiamente no período de metaestro. Nesta fase, as defesas naturais uterinas estão suprimidas e observa-se a redução do número de neutrófilos, sendo comum a ocorrência de infecções uterinas, corrimento vaginal e retorno irregular ao estro (POZZOBON et al., 2000).

A prevenção de enfermidades causadoras de distúrbios reprodutivos via sêmen deve seguir normas rígidas de controle, dentre as quais destacam-se o monitoramento sorológico dos reprodutores, cuidados na introdução de animais ao plantel, ações direcionadas à higiene e profilaxia nos rebanhos, dentre outras. A quarentena dos animais a serem introduzidos também é uma ferramenta importante no controle de doenças. Sobre este assunto, a Instrução Normativa (2002) n. 19 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) prevê sorologia para peste suína clássica, doença de Aujeszky, tuberculose, sarna, brucelose e leptospirose em centrais de inseminação artificial (CIAs).

3.7 Leptospirose Suína

De acordo com a OIE (Office International des Épizzoties), a leptospirose está classificada entre as doenças que proporcionam sérios prejuízos produtivos e sanitários em toda a cadeia de produtos de origem animal (SOTO et al., 2007). É considerada uma doença de risco ocupacional, envolvendo diferentes categorias de profissionais que, em geral, realizam suas atividades sem equipamentos de proteção individual e possuem pouco conhecimento sobre a enfermidade (ALMEIDA et al., 1994).

É uma doença infecto-contagiosa que ocasiona distúrbios reprodutivos em granjas suínolas, principalmente naquelas situadas no hemisfério Norte, Nova Zelândia, Argentina e Brasil (MAILLOUX, 2001). Neste último, a leptospirose suína é uma das principais causas de falhas reprodutivas em vários Estados, principalmente nas regiões sul e sudeste do país (LANGONI et al., 1995).

Entre os anos de 1915 e 1989, a classificação do gênero *leptospira* tinha apenas caráter sorológico. Era dividido em duas espécies: *Leptospira interrogans*, compreendendo todas as estirpes patogênicas, e *Leptospira biflexa*, reunindo as espécies saprófitas (SOTO et al., 2007). Posteriormente foram descritos 60 sorovares para a *L. biflexa* e mais de 200 para a *L. interrogans* (FAINE, 1994). Recentemente, esta forma de classificação foi modificada e as leptospirosas foram classificadas em genomespécies. As genomespécies aceitas atualmente são: *Leptospira interrogans sensu stricto*, *L. nogushi*, *L. santarosai*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *L. biflexa*, *L. fainei*, *L. borgpetersenii*, *L. kirschneri*, *L. weilli*, *L. inadai*, *L. parva* e *L. alexanderi* (LEVETT, 2001).

É uma zoonose de ampla distribuição geográfica, representando alto risco para a Saúde Pública, principalmente para veterinários, magarefes e funcionários de granjas, os quais estão em contato frequente e direto com o agente (FAINE et al., 1999). Uma associação entre os animais com leptospirose e os humanos expostos foi encontrada em estudo realizado por Campagnolo et al. (2000), onde relataram que funcionários que bebiam e fumavam apresentaram um risco de 5,1 e 14,4 vezes maior de infecção na granja, respectivamente.

A variedade de sorovares presentes em rebanhos suínos em todo o mundo interfere de forma direta sobre a complexidade epidemiológica que envolve esta enfermidade. As condições sanitárias, as quais estão sujeitas as granjas, a distância entre estas granjas e o trânsito de animais entre estas propriedades podem estar relacionados aos fatores que favorecem o avanço da infecção em granjas suínas (BURRIEL et al., 2003).

As leptospiiras são caracterizadas por persistirem por longos períodos no ambiente. As condições normais para sua viabilidade e multiplicação são 28°C de temperatura e pH neutro ou levemente alcalino, com registros experimentais de viabilidade por até 180 dias nestas condições (PERRY e REARDY, 2000). O sorovar Pomona pode sobreviver por mais de seis meses em solos úmidos, não conseguindo permanecer por trinta minutos em solo seco. Dessa forma, cada granja produtora de suínos funcionará de forma diferente em relação à viabilidade, permanência e transmissão da leptospira, pois cada uma apresentará características de ambiente, manejo e instalações diferentes (PIFFER et al., 1998).

A infecção nos suínos ocorre através das mucosas ou pele lesada, com período de incubação que varia de 2 a 5 dias. A bactéria produz septicemia e aloja-se no fígado, rins, baço e, em alguns casos, nas meninges (ROSE, 1966).

A doença pode ser observada na forma aguda ou crônica. Na primeira, se observa febre, mastite focal não supurativa e leptospiúria em suínos adultos. Em leitões, pode-se detectar febre, anorexia, icterícia, hemoglobinúria e elevada mortalidade. Estes achados geralmente estão relacionados ao sorovar Icterohaemorrhagiae (FAINE, 1999). A forma crônica é caracterizada por leptospiúria, geralmente associada ao sorovar Pomona.

Abortos no terço final da gestação, repetição de cio, perdas embrionárias, aumento nas taxas de leitões natimortos e mumificados, corrimento vaginal, nascimento de leitegadas pequenas são sinais clínicos observados em suínos (ELLIS, 1999). A infertilidade com a ocorrência de abortamentos e natimortos também já foi descrita como sendo comum aos sorovares Canicola, Pomona e Icterohaemorrhagiae (BASTOS, 2006).

No Brasil, a infecção por esta bactéria em plantéis suínocolas ocorre em frequências que variam de acordo com as regiões estudadas. Existem relatos sobre os efeitos negativos na produção em granjas suínocolas no Sul e Sudeste, como no Rio Grande do Sul (OLIVEIRA et al., 1995), no Paraná (FILIPPESEN et al., 2001; DELBEM, 2004), em São Paulo (LANGONI et al., 1996; GIRIO et al., 1998; AZEVEDO et al., 2008) e em Rondônia (AGUIAR et al., 2006).

Vários estudos relataram sobre o isolamento de diferentes sorovares de leptospira e seus efeitos na reprodução dos suínos. Um dos primeiros trabalhos sobre o isolamento da *L. pomona* e *L. tarassovi* em suínos no mundo foi realizado por Johnson (1939), na Austrália.

Hanson et al. (1971) cultivaram amostras de urina de 15 matrizes que pariram leitegadas fracas e com presença de natimortos, onde isolaram o sorovar Grippotyphosa em nove destas fêmeas. Posteriormente, os sorovares Bratislava e Kennewicki também foram isolados em

amostras de rins de suínos sadios abatidos no Chile (ELLIS et al., 1985). Ainda no Chile, Valdivia et al. (1991) isolaram nos rins de suínos abatidos os sorovares Pomona, San martini, Icteroahemorrhagiae e Canicola. Ellis e Thiermann (1986) isolaram o sorovar Bratislava na secreção do trato genital de duas matrizes suínas em um total de dez fêmeas no Estado de Iowa (EUA).

No Brasil, Guida (1948) foi o primeiro a relatar o isolamento dos sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae nos rins de suínos, aparentemente sadios, abatidos no município de Rio Claro, São Paulo. Mais tarde, no mesmo Estado, foram isolados os sorovares Hyos, Grippytyphosa, Australis, Ballum, Canicola, Icterohaemorrhagiae e Tarassovi (GUIDA, 1958; GUIDA et al., 1959). O sorovar Pomona também foi isolado em fetos abortados em granjas no Estado do Rio Grande do Sul, sendo atribuída a este sorovar a característica de ocasionar distúrbios reprodutivos (OLIVEIRA et al., 1980). Estes mesmos autores, em estudos posteriores no mesmo Estado, detectaram suínos sororreagentes para o sorovar Bratislava (OLIVEIRA et al., 1995).

Em pesquisa recente, Azevedo et al. (2006) determinaram frequência de 16,5% de matrizes soropositivas para pelo menos dois sorovares de *Leptospira* spp. dentre os 22 sorovares patogênicos e dois saprófitos testados em 164 amostras de soro de matrizes suínas no Estado de São Paulo. O sorovar mais provável foi o Hardjobovis, com 52,4% de animais positivos. Também foram detectados o Shermani (16,6%), Bratislava (12,5%), Autumnalis (12,5%) e Icterohaemorrhagiae (4,2%). Este rebanho não empregava nenhuma ação preventiva contra a leptospirose. As matrizes não eram vacinadas, assim como não existia controle de roedores nas instalações. A maior ocorrência de soropositividade para o sorovar Hardjobovis foi tida como surpreendente, pois este sorovar é comumente isolado em rebanhos bovinos e, apesar de existir criação de bovinos na mesma propriedade, não havia contato entre as duas espécies.

Lima (1996) constatou 42,2% de reagentes para a *Leptospira* sp. em 1.545 suínos provenientes de 83 granjas localizadas no Estado do Rio Grande do Sul. Destas, 31 propriedades apresentavam transtornos reprodutivos e os sorovares predominantes foram Bratislava e Icterohaemorrhagiae.

Souza (2000) realizou estudo de prevalência de *Leptospira interrogans* em reprodutores suínos no Estado de Goiás e identificou como sorovares mais prevalentes: Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Grippytyphosa, Djasiman, Autumnalis, Pomona, Hardjo, Tarassovi, Pyrogenes, Canicola e Australis.

Fávero et al. (2002) realizaram estudos sorológicos em suínos com suspeita clínica em amostras colhidas no período de 1983 a 1987 em diferentes Estados e identificaram como predominantes os sorovares: Grippytyphosa e Icterohaemorrhagiae em Minas Gerais; Pomona, no Rio Grande do Sul; Pomona e Icterohaemorrhagiae, em Pernambuco e Rio de Janeiro; Autumnalis, no Ceará, e Icterohaemorrhagiae, em Goiás, Paraná, Santa Catarina e São Paulo.

Ramos e Lilenbaum (2002) avaliaram 18 criações de suínos tecnificadas no Estado do Rio de Janeiro e encontraram a predominância dos sorovares: Icterohaemorrhagiae (28,48%), Pomona (11,97%), Copenhageni (9,69%), Tarassovi (6,55%), Hardjo (4,56%), Bratislava (2,56%) e Wolffii (2,28%). Shimabukuro (2003) considerou uma maior importância epidemiológica no Brasil para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Djasiman e Hebdomadis, considerados não adaptados aos suínos, sendo, portanto, oriundos de infecção acidental (ELLIS, 1992).

Em estudo realizado por Delbem et al. (2004), foram analisadas 298 amostras de soro sanguíneo de matrizes criadas em granjas no Norte do Estado do Paraná, obtendo-se uma prevalência de 44,3% (132/298). Todas as granjas apresentaram animais soropositivos e frequência variando entre 20% e 77,3%. Dentre as matrizes positivas, o sorovar predominante foi o Icterohaemorrhagiae com 98,5% (130/132), seguido pelo Sentot com 1,5% (2/132). Estes autores destacaram a ausência de soropositivos para os sorovares Bratislava e Pomona, considerados como causadores de distúrbios reprodutivos na espécie suína. Girio et al. (1998) detectaram uma baixa frequência de suínos soropositivos para o sorovar Pomona (5/112) criados em granjas no Estado de São Paulo.

Delbem et al. (2004) estudaram os fatores de risco associados à ocorrência da leptospirose em granjas suínas no Estado do Paraná. Verificaram que a infecção esteve relacionada às variáveis de bebedouro tipo canaleta, existência de áreas alagadiças próximas às instalações e falta de higienização nos reservatórios de água. Plantéis onde os animais utilizam o bebedouro tipo canaleta apresentaram um risco 1,58 vezes maior de ter animais soropositivos, quando comparados aos animais criados com a utilização de bebedouros automáticos. Quando os animais eram criados próximos a áreas alagadiças apresentaram um risco 1,73 vezes maior de ter animais soropositivos, assim como 2,25 vezes mais chances de infecção quando eram criados em granjas com falhas na higienização sistemática do reservatório de água.

As fontes de água para consumo ou utilização na limpeza das instalações são consideradas importantes fatores disseminadores da leptospira, pois a água, principalmente a parada, é um elemento essencial para sua sobrevivência (MURHEKAR et al., 1998). Andre e Garniere (1990) também demonstraram que a água é o fator epidemiológico mais importante para a leptospirose, e a presença de água estagnada nas proximidades das baias dos suínos seria uma importante fonte de infecção.

A presença de roedores nas instalações também foi considerada um importante fator de risco para a ocorrência de leptospirose em rebanhos suínos. Para Delbem et al. (2004), a predominância de soropositivos para o sorovar *Icterohaemorrhagiae* sugere que a principal fonte de leptospiros seja os roedores. Estas seriam lançadas ao ambiente juntamente com a urina, contaminando as fontes de água parada como bebedouros tipo canaleta, áreas alagadiças próximas às baias e falta de higienização periódica dos reservatórios de água.

O *Ratus norvegicus* também foi incriminado pela eliminação da *Leptospira icterohaemorrhagiae* na urina, contaminando, principalmente as fontes de água fornecidas às matrizes na pesquisa realizada por Azevedo et al. (2006) em rebanho suíno do Município de Ibiuna, São Paulo.

Neste mesmo estudo, foram detectadas matrizes soropositivos para o sorovar Shermani, o qual não havia sido referenciado como responsável por distúrbios reprodutivos em matrizes suínas. Seu isolamento foi confirmado em spiny rats (rato espinhoso- *Proechimys semispinosus*) na região do Canal do Panamá (SOLZER et al., 1982).

Inevitavelmente, a condição de higiene dos estabelecimentos em uma granja suinícola irá determinar a população de roedores existentes no ambiente de criação. Este fator irá atuar de forma direta sobre o grau de infecção por *Leptospira* spp. no plantel de matrizes (BURRIEL et al., 2003).

Os testes de diagnóstico são uma importante ferramenta para determinar a participação das doenças reprodutivas em rebanhos suínos, principalmente devido à ocorrência de infecções subclínicas. A determinação da ocorrência destas enfermidades irá favorecer a tomada de decisões que visam o controle da doença no rebanho, assim como a redução dos riscos de infecção das pessoas que têm contado direto com os animais infectados (BURRIEL et al., 2003).

Devido à ocorrência de infecção subclínica, infecções crônicas, recorrentes e à dificuldade de interpretação dos resultados dos testes sorológicos, assim como devido à complexidade existente nos aspectos epidemiológicos da leptospirose em rebanhos suínos,

recomenda-se o monitoramento frequente dos eventos que possam determinar a evolução desta enfermidade nos plantéis suínos (LEVETT, 2001).

O diagnóstico da leptospirose nos suínos pode ser realizado por diferentes métodos laboratoriais de detecção direta ou indireta do agente ou do seu material genético (FAINE et al., 1999). Duas formas de diagnóstico direto tem sido mais utilizadas a partir da observação de sintomas e lesões características da doença. Um primeiro por colheita de sangue heparinizado e urina para exame ao campo escuro ou contraste de fase. Uma segunda forma pode ser o cultivo do agente em meio bacteriológico como o de Fletcher, ou por inoculação em cobaias e ramsters (SOTO et al., 2007). Para Faine et al. (1999), o método que determina o diagnóstico definitivo é o isolamento do microrganismo, pois permite a identificação do sorovar infectante que é importante para a condução de estudos epidemiológicos e profiláticos da doença.

As técnicas de biologia molecular vêm ocupando as lacunas de sensibilidade e praticidade presentes nas demais provas de diagnóstico das leptospirosas (LANGONI, 1999). A técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) é sensível, específica e rápida, além de representar um importante meio diagnóstico, auxiliando nas investigações epidemiológicas (RAMADASS, 1997). A técnica de Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), apesar de pouco utilizada no diagnóstico da leptospirose (SOTO et al., 2007), apresenta as vantagens de utilização apenas de frações bacterianas, não necessitando da utilização de antígenos vivos e permite a detecção de anticorpos das classes IgG e IgM, o que favorece a correlação dos resultados e o tempo de infecção (YAN et al., 1999).

A soroaglutinação microscópica (SAM) é considerado o teste padrão para diagnóstico da leptospirose no ponto de corte de 1:100. Porém, este teste possui suas limitações para o diagnóstico de infecções crônicas em diferentes indivíduos. Acredita-se que alguns animais mesmo infectados podem apresentar títulos de anticorpos abaixo do ponto de corte de 1:100 e, dessa forma, não reagem positivamente, mesmo apresentando a infecção (MOUSING et al., 1995). Sendo assim, alguns autores consideram este teste como de moderada sensibilidade e de boa especificidade (ELLIS, 1999). Segundo Cumberland et al. (1999), o SAM possui especificidade acima de 97% e sensibilidade de 76%, quando da utilização de amostras de soro de matrizes convalescentes.

Para Faine (1999), a SAM não determina se a infecção está em evolução ou em fase de declínio, por ser um método indireto de determinação da infecção por *Leptospira* spp. e a ocorrência de reações cruzadas para diferentes sorovares é achado comum. Para Faine et al.

(1999), a colheita de sangue para diagnóstico sorológico da leptospirose por SAM, em animais vacinados, deve obedecer a um período mínimo de 120 dias pós-vacinação, evitando assim as reações com anticorpos vacinais e garantindo a veracidade dos resultados.

A detecção do sorovar Bratislava em animais sororreagentes é difícil devido à baixa titulação de anticorpos detectados em suínos adultos infectados. A presença ou a ausência de reação de soroaglutinação no SAM para este sorovar não implica em excluí-lo de ser o agente causador da infecção. Isto foi sugerido pelo fato da detecção de soroaglutinação positiva em soro fetal, em leitões natimortos e em leitões fracos ao nascimento, oriundos de partos de matrizes que apresentaram reação negativa de soroaglutinação (BOLIN, 1990).

As técnicas de imunofluorescência são indicadas para detecção de leptospira em tecidos fetais e fluidos corporais. São testes rápidos, seguros e que podem ser realizados a partir de amostras congeladas para realização de diagnóstico laboratorial. Porém, os conjugados utilizados nas técnicas de imunofluorescência não são específicos para cada sorovar, determinando apenas a presença ou não da leptospira na amostra avaliada (BOLIN et al., 1991).

A imunização do plantel com sorovares presentes na região, ações sobre as fontes de infecção, diminuição da eliminação de leptospiros no ambiente e identificação dos fatores que favorecem sua evolução nos rebanhos, são tidas como as principais formas de controle da leptospirose suína. A redução ambiental de leptospiros tem sido conseguida com atuações direcionadas aos reservatórios, principalmente os roedores, e com o tratamento massal de rebanhos infectados com antibióticos (FAINE et al., 1999).

Soma-se às atuações de controle, a drenagem de áreas alagadiças presentes no perímetro das instalações, a utilização de bebedouros automáticos ou a limpeza periódica dos mesmos, a higienização rotineira dos reservatórios de água, estratégias de controle e eliminação de roedores nas instalações, depósitos e fábricas de ração (DALBEM et al., 2004).

3.8 Toxoplasmose Suína

A toxoplasmose é uma enfermidade de ocorrência mundial, causada por um parasito intracelular obrigatório, o *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) (MILLAR et al., 2008). Foi primeiramente descrito por Nicolle e Manceaux (1908) em um roedor (*Ctenodactylus gundi*) na África do Sul. No Brasil, o primeiro relato do isolamento de *T. gondii* foi feito por Splendore em 1908, no Departamento de Bacteriologia do Hospital da Sociedade de Beneficência Portuguesa em São Paulo, detectando-se o agente em coelho de laboratório (FREIRE, 1989).

Os felídeos são considerados os seus hospedeiros definitivos e participam de forma marcante na transmissão deste agente para o homem e diferentes espécies de animais (DUBEY et al., 1995). É considerada uma zoonose de grande impacto mundial e a infecção de humanos se dá pelo consumo de carne mal cozida ou crua, contendo cistos teciduais, pela ingestão de oocistos esporulados, assim como pela via placentária (CAPORALI et al., 2005).

O ciclo de vida de *T. gondii* é heteroxeno facultativo. Os exemplares da família *Felidae* são os únicos animais que permitem a realização do ciclo biológico completo deste agente (DUBEY, 1998b). Apenas nestes hospedeiros o agente realiza a reprodução sexuada (gametogamia) durante o ciclo enteroepitelial, que é observada nas células epiteliais do intestino delgado. Da mesma forma, pode ocorrer a reprodução assexuada durante o ciclo extra-intestinal, sendo encontrada tanto nos hospedeiros definitivos quanto nos intermediários (MARTINS e VIANA, 1998).

O agente apresenta-se sob três formas evolutivas infectantes, como demonstrado na Figura 1. Os taquizoítos, os bradizoítos contidos em cistos teciduais e os esporozoítos em oocistos esporulados (DUBEY, 1998a). O oocisto (1) é eliminado nas fezes do hospedeiro definitivo, obrigatoriamente na forma não esporulada. Após liberado no ambiente e em contato com o ar, necessita de no mínimo 24 horas para esporular, o que ocorre, em média, dentro de 3 a 5 dias e, só então, se torna infectante (FREIRE, 1993). Esta eliminação de oocistos pelos felinos pode durar de 7 a 23 dias em uma infecção primária (DUMÈTRE e DARDÉ, 2003), não sendo observada a eliminação destes oocistos quando reinfectados, pois esses animais desenvolvem imunidade após a primoinfecção.

Os taquizoítos (2) são as formas intracelulares e livres que se multiplicam rapidamente no tecido do hospedeiro (MARTINS e VIANA, 1998). Sua presença representa a fase aguda

da infecção e demonstra elevada importância epidemiológica, pois é a forma transmitida verticalmente na gestação (2 e 3).

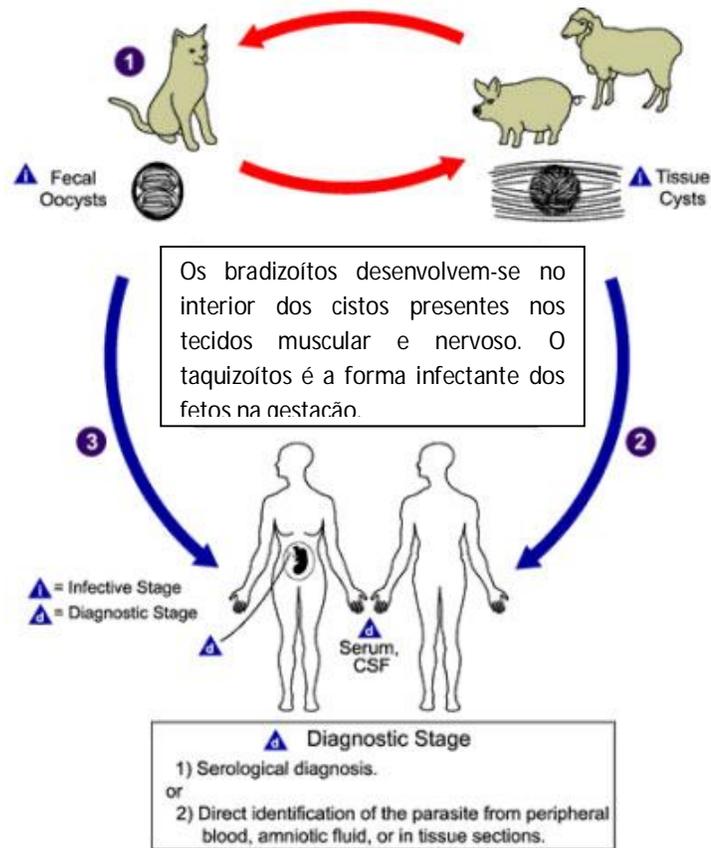


Figura 1- Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*

Fonte: <http://www.sistemanervoso.com>

Os bradizoítos encontram-se dentro dos cistos teciduais, caracterizando a fase crônica ou assintomática da enfermidade e, mesmo após a morte do hospedeiro, os cistos mantêm-se como formas infectantes possibilitando a transmissão do agente (SHERDING, 1998). Dentro dos cistos, os bradizoítos tornam-se imunologicamente inertes e não são eliminados pelo sistema imunológico do hospedeiro, sendo uma forma de proteção do agente. Têm grande afinidade pelo tecido muscular, especialmente o músculo cardíaco, sistema nervoso central e retina, locais de difícil acesso pelos anticorpos (DUBEY, 1998b). Nos suínos, cistos de *T. gondii* podem permanecer viáveis, na forma de cistos, por mais de um ano na musculatura (DUBEY, 1994) ou durante toda a sua vida (TENTER et al., 2000).

Para Dias e Freire (2005), a elevada prevalência e disseminação de *T. gondii* em plantéis suínocolas, associado ao aumento na produção e no consumo de carne suína e ao fato dos cistos não serem detectados à inspeção, favorecem o surgimento de uma importante via de infecção para o homem ao consumir a carne suína mal cozida ou crua. A dificuldade da identificação da presença do agente evidencia-se quando, mesmo com uma elevada prevalência e facilidade de multiplicação no organismo do hospedeiro, dificilmente a doença cursa com a evidenciação de sinais clínicos que caracterizem a infecção (FAYER et al., 2002).

De acordo com Dubey (2008), um dos grandes problemas relacionados à falta de medidas que direcionem a redução dos riscos de infecção humana está a ausência de testes diagnósticos individuais nos suínos abatidos para o consumo, principalmente quando estes animais são oriundos de áreas endêmicas para a toxoplasmose.

A infecção nos suínos (Figura 2) ocorre por meio da ingestão de água, ração ou outros tipos de alimentos contaminados por fezes de felinos que contenham oocistos, assim como pela via placentária (DUBEY et al., 1995). A transmissão congênita pode ocorrer quando da infecção de fêmeas gestantes que não possuem imunidade prévia contra o agente, ressaltando a importância desta enfermidade para a Saúde Pública e sanidade dos rebanhos (DUBEY et al., 1994). Os taquizoítos atravessam a barreira placentária, infectando o feto (SHERDING, 1998). Para Giraldi et al. (1991), a ingestão de roedores infectados, associada à ingestão de carne infectada oferecida na forma de restos alimentares, também são responsáveis pela infecção nesta espécie.

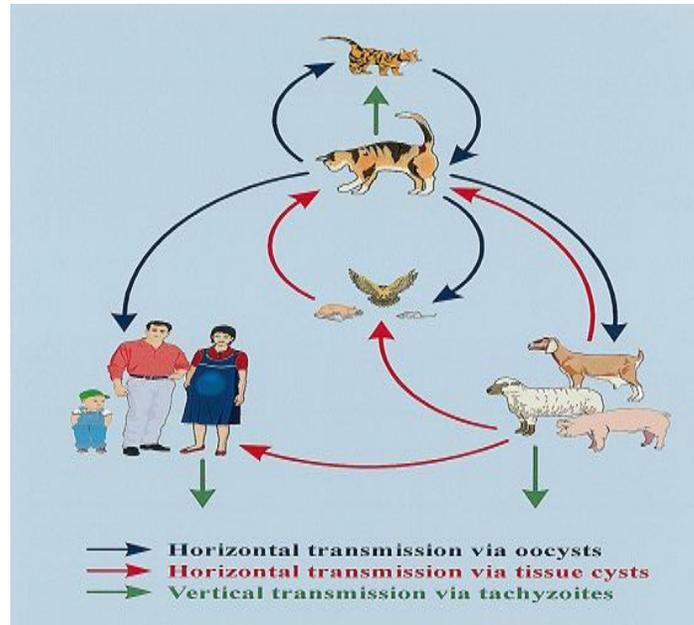


Figura 2- Ciclo de transmissão de *Toxoplasma gondii*

Fonte: Tenter et al. (2000)

Os sinais clínicos observados nos animais dependerão da virulência da amostra de *T. gondii*, como também do estado fisiológico do hospedeiro, o que irá interferir sobre a qualidade de sua resposta imunológica (LUFT et al., 1992). Para Vidotto et al. (1987), fêmeas suínas gestantes, infectadas experimentalmente, apresentaram febre, prostração e anorexia. Porém, os principais problemas observados estão relacionados às perdas reprodutivas, como repetição de estro, aumento no número de natimortos, mumificados e abortos.

Pesquisas para determinar a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* têm sido realizadas em todo o mundo, frente à importância desses dados epidemiológicos para a Saúde Pública e rebanhos suínos (DUBEY, 1998b). Os levantamentos sorológicos relacionados à prevalência da toxoplasmose em rebanhos suínos e outras espécies de produção são importantes tanto para determinar a ocorrência da enfermidade no local estudado, quanto para fornecer dados epidemiológicos que auxiliem na prevenção e no controle da infecção em humanos e animais (FIALHO e ARAÚJO, 2003).

Garcia et al. (1999) demonstraram a importância do conhecimento da soroprevalência de anticorpos para *T. gondii* nas diferentes espécies de animais domésticos e determinaram a prevalência da infecção em suínos, bovinos, ovinos e equinos em criações no município de Jaguapitã, Paraná. As amostras de soro foram avaliadas por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para anticorpos IgG, considerando-se como soropositivas

aquelas amostras com títulos maiores que 64. Os resultados demonstraram índices de 24% de soropositivos em 267 amostras de suínos, 25,8% em 400 amostras de bovinos, 51,8% em 228 amostras de ovinos e 12,1% em 173 amostras de eqüinos.

A infecção por *T. gondii* promove abortos em pequenos ruminantes (PEREIRA-BUENO et al., 2004), especialmente em ovelhas (DUNCANSON et al., 2001). A elevada prevalência de toxoplasmose na espécie ovina pode estar associada à baixa resistência desta espécie ao parasito, assim como às condições de criação destes animais que favorecem o contato freqüente com os oocistos eliminados pelo gato (DUBEY e HAMIR, 2002).

Em suínos, Vilari et al. (2009) na Sicília, Itália, determinando a influência da idade, do sistema de criação e do grau de higienização da granja, observaram que suínos com a idade entre 11 e 24 meses apresentaram maior prevalência que os animais jovens, com idade entre 5-7 meses (19,0% contra 7,0%, respectivamente), onde os animais mais velhos apresentaram 5,62 mais chances de se infectarem (OR = 5,62). Quanto ao sistema de produção utilizado (granja terminadora ou granja de ciclo completo), observou-se que aquelas que realizavam o ciclo de produção completo (cria, cria e engorda) apresentaram 6,85 vezes mais riscos de infecção pelo agente, quando comparada às granjas que realizavam apenas a terminação. Granjas com menos de 50 animais apresentaram 6,8 mais chances de infecção, quando comparada às granjas com maior número de matrizes. As granjas que não utilizavam estratégias de eliminação e/ou controle de roedores tinham 2,71 vezes mais riscos de infecção do plantel, e as granjas que utilizavam o fornecimento de água individual apresentaram 2,8 menos riscos de ocorrência da enfermidade.

Huong (2007), no Vietnã, avaliou 325 amostras de soro de suínos em fase de terminação, 207 matrizes e 55 varrões, onde se observou uma prevalência de 27,2% (n = 160) de animais positivos para *T. gondii*, através do teste de Aglutinação Direta Modificado (MAD). As prevalências variaram de acordo com a fase de produção e os resultados obtidos foram de 23,0% (75) para os suínos em terminação, 32,3% (63) para matrizes e 40,0% (22) para varrões.

Gaus et al. (2005) avaliaram a soroprevalência da infecção por *T. gondii* em 505 amostras de soros de suínos selvagens (*Sus scrofa*) na Espanha e detectaram 34,8% de soropositivos. Na região de Hesse-Alemanha, Damriyasa et al. (2004) estudaram a soroprevalência de anticorpos e os fatores de risco envolvidos na ocorrência da infecção por *T. gondii*, *Sarcocystis spp.* e *Neospora caninum* em plantéis suínos. Determinou-se uma prevalência de 16,7% de matrizes soropositivas para *T. gondii* em 2045 amostras provenientes

de 117 granjas, ressaltando-se a ocorrência de granjas com resultados de até 50,0% de matrizes infectadas.

Venturini et al. (2004) estudaram a prevalência de anticorpos anti- *T.gondii* em 230 porcas e em suínos nascidos e criados em 83 granjas com sistema intensivo e extensivo de produção, localizadas em cinco cidades da Argentina. Os anticorpos foram detectados através do MAD, onde foram considerados como positivas as reações com título maior ou igual 25. Detectou-se 37,8% (87) de soropositivos dentre as 230 matrizes estudadas. Ocorreu variação entre as prevalências nas diferentes províncias, com resultados variando entre 3,3% (San Luis) e 62,8% (Buenos Aires). Das 88 amostras de suínos criados em sistema de confinamento, quatro (4,5%) demonstraram reação positiva, enquanto que 42 (40,2%) das 112 amostras obtidas em suínos criados em sistema extensivo de produção foram positivas. Dessa forma, os autores concluíram que houve interferência do sistema de criação sobre o grau de infecção nas granjas.

Assadi-Rad et al. (1995) avaliaram os fatores de risco envolvidos na ocorrência da infecção por *T. gondii* em matrizes suínas criadas em 343 granjas, mantidas sob diferentes sistemas de criação no Tennessee, Estados Unidos da América (EUA). Foram analisadas 3841 amostras de soro, das quais foram detectados anticorpos anti-*T. gondii* em 1130 (36,0%). Dentre os fatores de risco estudados, as granjas que apresentavam contato dos animais com gatos demonstraram 2,6 vezes mais chances (OR = 2,6) de ter animais infectados do que aquelas granjas que não possuíam gatos. Granjas com manejo extensivo de criação apresentaram 23 vezes mais chances de infecção dos animais do que aquelas com sistema intensivo de criação. As granjas consideradas pequenas, com menos de 29 matrizes no plantel, apresentaram 4,5 vezes mais chance de possuírem animais soropositivos, quando comparadas com granjas com mais de 29 matrizes, justificando este achado ao pouco grau de tecnificação destas pequenas granjas.

Weigell et al. (1995), no Estado de Illinois (EUA), avaliaram os fatores de risco envolvidos na transmissão de *T.gondii* para os suínos. Foi avaliada a atuação dos roedores e gatos na transmissão do agente para matrizes suínas e animais de terminação. Observou-se uma associação altamente significativa ($p < 0,0001$) entre a presença de gatos jovens e a presença de abrigos de roedores ($p = 0,0023$) com a soropositividade nos suínos terminados.

Descrevendo sobre os fatores de risco envolvidos na ocorrência de toxoplasmose em granjas suinícolas no Estado de New England (EUA), Gamble et al. (1999) determinaram como relevantes o grau de infestação por roedores, o tipo e a qualidade da alimentação

utilizada, o acesso de gatos e animais silvestres às instalações e a deficiência no manejo higiênico-sanitário realizado. Porém, não se detectou associação significativa entre o índice de infecção e os fatores de risco.

No Brasil, o primeiro relato da ocorrência da toxoplasmose em granjas suínas foi descrito por Da Silva (1959), no Estado de Minas Gerais, que descreveram um caso de infecção natural em suínos. Recentemente, avaliou-se a soroprevalência da toxoplasmose em suínos criados e abatidos para consumo humano por meio da frequência de anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma gondii*, em 408 animais provenientes de plantéis de 25 municípios do Estado do Paraná, Brasil (MILLAR et al., 2008). Observou-se uma frequência de 25,5% de soropositivos, não sendo observada associação significativa entre a idade e o sexo com os índices de positividade.

Oliveira et al. (2007) avaliaram 550 amostras de soros de suínos criados sob condições rústicas em 161 granjas no Município de Registro em São Paulo, pelo método de aglutinação direta (MAD) e detectaram uma prevalência de 20,11% de animais positivos. Desses animais, 15,32% reagiram na diluição 1:64, 27,93% na 1:256, 39,64% na 1:1024, 10,81% na 1:4096, 4,5% na 1:16384 e 1,8% na 1:65536. A elevada prevalência de animais positivos neste estudo foi justificada pelas condições de pouca tecnificação em que eram criados os suínos.

Pezerico et al. (2007) pesquisaram a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em suínos abatidos em três matadouros nos Estados de Minas Gerais e São Paulo. Foram avaliadas 262 amostras de soros obtidos de animais abatidos e procedentes de 16 municípios. Os soros sanguíneos foram analisados pelo teste de aglutinação direta modificado (MAD) e não foram detectadas amostras positivas. Os autores justificam a ausência de soropositivos no sistema de confinamento total. Da mesma forma, os resultados podem estar relacionados ao pouco tempo de permanência dos animais no ambiente de criação, já que são abatidos aos cinco meses de idade, diminuindo o tempo de exposição dos animais ao parasito.

O sistema de criação intensivo, com os animais confinados e recebendo alimentação balanceada (ração comercial), pode ser um importante fator de proteção para os riscos de infecção por *T. gondii* em suínos. Para Tsutsui et al. (2003), este foi um fator determinante para o baixo índice de prevalência obtido em suínos criados sob esta condição no Estado do Paraná, Brasil.

Da mesma forma, Sousa (1995) realizou pesquisa sorológica em suínos e trabalhadores de matadouros no Grande Rio de Janeiro e determinaram que os baixos índices de prevalência da infecção estavam relacionados à utilização de rações comerciais em criações tecnificadas,

ao efetivo controle de roedores e ao manejo sanitário eficiente, com limpeza e desinfecção rigorosas.

A influência de *T. gondii* sobre os parâmetros seminais do ejaculado de varrões foi demonstrada por Moura et al. (2004), onde oito reprodutores foram inoculados com diferentes cepas do parasito por meio de diferentes vias de infecção. Três varrões foram inoculados com oocistos por via oral; três reprodutores foram inoculados com taquizoítos por via subcutânea e os outros dois animais formaram o grupo controle. Foram observados os parâmetros seminais quanto a volume, motilidade, vigor, concentração e morfologia espermática. Na RIFI foram detectadas a presença de anticorpos sete dias após a inoculação (DPI) nos grupos infectados por oocistos ou taquizoítos, apresentando titulações de 256 e 64, respectivamente, alcançando pico de 4096 após 11 dias (inoculação com oocistos) e nove dias (inoculação com taquizoítos). Não foram observadas alterações clínicas e/ou espermáticas nesta pesquisa, com efeito significativo sobre a qualidade do ejaculado que pudessem ser atribuídas à infecção por *T. gondii*.

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é fundamental, uma vez que a infecção pode assumir quadros clínicos facilmente confundidos com uma gama de outras enfermidades, dificultando a tomada de medidas específicas de tratamento e controle (VIDOTTO, 1992).

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose pode ser realizado através de MAD, que pode ser empregada em diversas espécies de animais domésticos e silvestres (DA SILVA et al., 2002). A hemaglutinação indireta (HAI) foi descrita primeiramente por Jacobs e Lunde (1957), como técnica recomendada para o diagnóstico da doença por meio da detecção de constituintes citoplasmáticos de origem protéica. A RIFI é considerada de aceitação universal, quando se pretende realizar o diagnóstico e inquéritos soropidemiológicos em humanos ou em animais, principalmente pela sua característica de elevada sensibilidade. Da mesma forma, tem a vantagem de não oferecer riscos aos laboratoristas, por não haver a utilização de organismos vivos nos “kits” de diagnóstico (ARAÚJO, 2001). Esta técnica detecta anticorpos IgG ou IgM direcionados a antígenos de superfície de *T. gondii*, de acordo com o conjugado gama-globulina utilizado (FIALHO, 2003).

Dubey et al. (1995), comparando a sensibilidade e a especificidade de vários testes, como MAD, Aglutinação em Látex (LAT), HAI e ELISA em soros de suínos, encontraram maior sensibilidade no MAD, com substancial concordância entre o ELISA e o MAD. Em outro estudo, DUBEY et al. (1997), analisando a capacidade de várias técnicas em detectar anticorpos anti-*T. gondii* por longos períodos em suínos, aproximadamente dois anos,

mostraram que o MAD e o ELISA são bons testes para ser utilizados nessas situações. A HAI e LAT não se mostraram muito sensíveis e o DYE TEST (DT), embora sensível, requer antígenos vivos e não é reproduzível em soros em processo de autólise. Eles afirmam que os resultados variaram muito de acordo com a amostra de *T. gondii* infectante e com a individualidade de cada animal.

Os resultados obtidos nas diferentes técnicas podem variar, merecendo cuidados na sua interpretação. Fialho (2003) observou efeito significativo quando comparou as duas técnicas HAI e RIFI, no diagnóstico de toxoplasmose em 240 suínos abatidos nos matadouros da grande Porto Alegre, Brasil. A técnica de HAI mostrou uma frequência de 48 animais reagentes na diluição 1:64, demonstrando uma frequência de 20,0% de soropositivos, enquanto que na RIFI detectou 81 animais com títulos iguais ou superiores a 16, o que representa uma frequência de 33,7% de positivos.

Uma vacina contra a toxoplasmose felina, administrada por via oral e contendo bradizoítos de amostra modificada de *T. gondii* (T263), foi testada por Frenkel et al. (1991), favorecendo a ausência de eliminação de oocistos nas fezes em 84,0% dos felinos vacinados. Da mesma forma, Freyre et al. (1993), utilizando programa de vacinação onde se preconizou a realização de duas doses da vacina, observaram a ausência da eliminação de oocistos nas fezes em 100% dos gatos utilizados na pesquisa. Estes achados têm auxiliado nas atuações direcionadas à redução dos índices de prevalência de *T. gondii* nos gatos, como forma de controle da evolução da toxoplasmose em rebanhos suínos, já que os felídeos são considerados como principais responsáveis pela eliminação de oocistos nas fezes, favorecendo a contaminação de água e ração fornecidos aos suínos.

Mateus-Pinilla (2002) descreveram a importância da imunização com a vacina (T263), na redução da eliminação de oocistos de *T. gondii* nas fezes da população de felinos presente nas granjas, com consequente diminuição da prevalência do agente no rebanho suíno. Porém, ressaltaram que a eficiência desta atuação dependerá mais do controle da população de gatos existente na propriedade do que de atuações como a captura e vacinação dos gatos no perímetro das instalações, do esquema vacinal realizado com estes animais e do tempo de viabilidade dos oocistos eliminados no ambiente.

3.9 Clamidiofilose suína

O impacto da presença de organismos da família *Chlamydiaceae* sobre o desempenho reprodutivo em rebanhos suínos ainda gera muita controvérsia. Isto se deve ao fato da ausência de justificativas que expliquem a detecção de elevadas prevalências em plantéis suínos, associadas à ausência de sintomatologia clínica nos animais infectados, além de poucos dados que caracterizem a infecção aguda causada por esse agente (CAMENISH et al., 2004).

As bactérias da família *Chlamydiaceae* são Gram-negativas, intracelulares obrigatórias, apresentam forma cocóide e um ciclo de vida onde se alternam formas infectantes denominadas de corpos elementares (CE) e vegetativas, conhecidas como corpos reticulados (CR). Além de infectarem os humanos, também infectam os animais domésticos e selvagens, causando sintomatologia variada (CORSARO et al., 2003). Nos animais, já foram detectados sinais de aborto, pneumonia, rinite, conjuntivite, artrite e enterite, assim como a ocorrência da infecção em sua forma subclínica (EVERETT, 2000).

O ciclo de replicação desta bactéria ocorre no citoplasma das células infectadas (Figura 3), iniciando-se através da fixação do CE na membrana celular (1) e posterior formação de um vacúolo endossomal (2). Posteriormente, inicia-se o processo de divisão binária (3), dando origem ao CR, que irá se reorganizar sob a forma de células intermediárias (4), originando novos CEs. Após 72 horas da infecção *in vitro*, centenas de formas infectantes distribuídas em CE, CR e formas intermediárias (5) estarão presentes no meio intracelular (VANRONPAY et al., 1995). Este ciclo se completa com a lise da célula infectada (6), que ocorre entre 48 e 72 horas da infecção, de acordo com a agressividade da amostra envolvida, liberando centenas de CEs, que darão continuidade à infecção de outras células (BEATY et al., 1994).

Até recentemente, a classificação taxonômica da família *Chlamydiaceae* possuía apenas o gênero *Chlamydia*, composta por duas espécies: a *trachomatis*, responsável por conjuntivite crônica e doenças sexualmente transmissíveis (DST) em humanos, e a *psittaci*, com vários sorovares e responsável pela ocorrência de abortos, infertilidade, artrite, conjuntivite e problemas respiratórios em diferentes espécies animais.

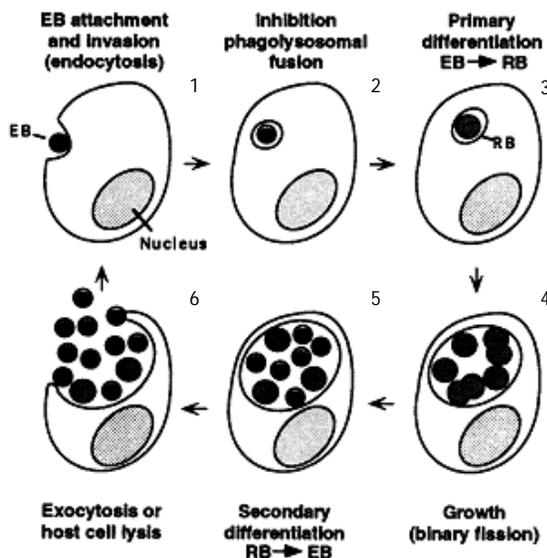


Figura 3 - Ciclo de replicação da Chlamydia

Fonte: Beaty et al. (1994)

Com o avanço das técnicas da biologia molecular, foi possível uma análise detalhada do gene 16S e 23S do RNAr, sugerindo então a divisão da família *Chlamydiaceae* em dois gêneros: *Chlamydia* e *Chlamydophila* e nove espécies. O gênero *Chlamydia* inclui as espécies *Chlamydia (C) trachomatis*, *C. suis* e *C. muridarum*. Já o gênero *Chlamydophila* compreende as espécies *Chlamydophila (C) psittaci*, *C. pneumoniae*, *C. pecorum*, *C. felis*, *C. caviae* e *C. abortus* (HERRMANN et al., 2000).

Para Vanrompay et al. (2004), alguns estudos recentes têm classificado as amostras de *Chlamydophila abortus* detectadas em provas imunológicas como sendo a *Chlamydophila psittaci* sorovar-1, pois concordam que a caracterização da *C. abortus*, conserva, aproximadamente, 100% da sequência *omp A* ribossomal deste sorovar. Algumas espécies foram descritas em suínos, como *C. suis*, *C. psittaci*, *C. abortus* e *C. pecorum*.

É importante salientar o caráter zoonótico da infecção por *C. abortus*, envolvendo os suínos e humanos. Relatos demonstram a ocorrência de aborto espontâneo ou partos prematuros relacionados à infecção por *C. abortus* em mulheres gestantes (LONGBOTTON e COULTER, 2003). Porém, dados que descrevam os efeitos zoonóticos da infecção por diferentes espécies desse gênero ainda são muito reduzidos, devido aos poucos estudos determinando a prevalência e as características epidemiológicas deste agente. Consequentemente, não é possível quantificar as perdas econômicas nas atividades de

produção em diferentes espécies por problemas reprodutivos, infertilidade, queda nos índices produtivos de produção de leite, assim como a interferência sobre a qualidade do leite (LONGBOTTON, 2004).

Stors et al. (1960) relataram o primeiro isolamento de uma bactéria da família *Chlamydiaceae* em material obtido de um aborto na espécie bovina. O aborto enzoótico observado em ovinos tem ampla distribuição nas regiões produtoras desta espécie, sendo considerada a maior causa de aborto em rebanhos europeus. No Reino Unido, a *C. abortus* foi diagnosticada como responsável por 45,0% dos abortos em ovinos, onde 1,5 milhões de ovelhas (8,6% do rebanho) são infectadas anualmente (LEONARD et al., 1993). Porém, em outras regiões caracterizadas por grande população de ovinos, como a Austrália e Nova Zelândia, esta enfermidade ainda não é considerada relevante (LONGBOTTON e COULTER, 2003).

O aborto enzoótico em caprinos apresenta características semelhantes ao ovino, porém tem sido pouco pesquisado, necessitando de novos estudos, inclusive no Brasil. A *C. abortus* também está relacionada ao aborto epizoótico em bovino e encontra-se disseminada em rebanhos da Europa e dos Estados Unidos da América (HOLLIMAN et al., 1994).

Apesar de representar grandes prejuízos aos sistemas de produção em diferentes espécies, são desconhecidos os relatos descrevendo sobre a ocorrência de distúrbios reprodutivos ocasionados pela *C. abortus* em suínos no Brasil. A infecção por bactérias da família *Chlamydiaceae* em matrizes suínas foi relatada como responsável pela ocorrência da Síndrome Mastite Metrite Agalaxia (MMA) e mortalidade perinatal de leitões (ENGGEMANN et al., 2000). Os abortamentos em suínos e eqüinos têm sido relatados, porém acredita-se que sua ocorrência seja menor que a observada em ovinos e bovinos (LONGBOTTON e COULTER, 2003).

A *C. abortus* tem facilidade de replicação em tecido placentário e está associada à ocorrência de leitões nascidos fracos em leitegadas provenientes de porcas infectadas, além de pneumonia e aborto em suínos (WENDT et al., 1998).

Abortos associados à *Chlamydia spp.* ocorreram entre os intervalos de 77 e 105 dias de gestação em cinco rebanhos suínos na Suíça (THOMA et al., 1997). Porém, uma das dificuldades de se relacionar a presença da clamídia como agente causador de abortos em matrizes suínas é justificada pelo fato desta bactéria ter tropismo por epitélios coriônicos, demonstrado em abortos nas ovelhas e, experimentalmente, em porcas. Sendo assim, pela rápida deterioração observada em tecidos placentários e fetais após a ocorrência de abortos

em granjas, é comum ocorrer a inviabilidade do material destinado à realização de testes imunohistoquímicos e histopatológicos para determinação do agente envolvido (VASQUES-CISNEROS et al., 1994).

Estudos sorológicos determinaram a prevalência de *Chlamydia* em rebanhos suínos europeus, como o realizado por Thoma et al. (1997), que avaliaram por meio da imunohistoquímica amostras de fígado e pulmão de fetos abortados em 139 casos de abortamento em matrizes suínas na Suíça. Determinou-se uma prevalência de 3,6% dos abortos, como conseqüência da infecção por *C. psittaci*. Ao avaliar a prevalência de infecção por bactérias da família *Chlamydiaceae* em rebanhos suínos na Bélgica, utilizando o ELISA e PCR, Varompay et al. (2004) determinaram uma prevalência de 96,5% de granjas infectadas por *Chlamydia* spp. Reinhold et al. (2008) relataram ocorrência de febre e lesões pulmonares em oito leitões experimentalmente infectados, determinando a diminuição da capacidade de difusão de gases e reduzindo a capacidade respiratória.

Para Longbotton (2004), a *C. suis*, anteriormente descrita como *C. trachomatis*, tem sido descrita como maior causador de Clamidiose nos suínos. Porém, a determinação das falhas reprodutivas, associadas especificamente à elevada prevalência da *C. suis* em rebanhos suínos, torna-se dificultada, pois é freqüentemente detectada em infecções onde são isolados outros sorovares como a *C. abortus* (HOELZLE et al., 2000).

Camenish et al. (2004) coletaram amostras de soro sanguíneo e *swabs* vaginais de 193 matrizes suínas em rebanhos na Suíça, objetivando identificar a causa do elevado índice de retorno ao estro destas fêmeas. A *C. abortus* foi detectada em 33,3% das amostras de *swab* vaginal, assim como 61,7% das amostras de soro apresentaram reação positiva.

Hotzel et al. (2004) realizaram pesquisa sobre a ocorrência de infecção por bactérias da família *Chlamydiaceae* em uma população de suínos selvagens (*Sus scrofa L.*) na região da Thuringia, Alemanha. Amostras de pulmão, linfonodos mediastínicos e intestino grosso de sete machos adultos e de um animal jovem com menos de um ano de idade, além do útero de seis porcas foram avaliados pela PCR. Os resultados demonstraram a positividade em oito animais (57,1%), sendo cinco machos e três fêmeas. Foram diagnosticadas as seguintes espécies de clamídia: *C. psittaci* (n = 4 animais), *C. abortus* (n = 2) e *C. suis* (n = 2), sendo estas detectadas em amostras de útero e placenta.

Pouco se discute sobre dados epidemiológicos envolvendo a infecção por bactérias da família *Chlamydiaceae* em rebanhos suínos. Segundo Hotzel et al. (2004), acha-se pouco provável que a origem da infecção de suínos selvagens descrita no parágrafo anterior seja a

fonte de infecção para suínos domésticos, devido à raridade de criações comerciais na região onde foi detectada a ocorrência. A baixa presença da bactéria no intestino grosso sugere que este órgão não funcione como reservatório do agente, como já descrito em suínos domésticos, cabras e ovelhas (STORS e KALTENBÖCK, 1993).

Enggemann et al. (2000) realizaram estudo para determinar a prevalência da infecção por bactérias da família *Chlamydiaceae*, associada à ocorrência de distúrbios reprodutivos, em rebanhos suínos na Alemanha. Utilizaram o ELISA para analisar 1493 amostras de soro de suínos em diferentes granjas. Determinou-se uma prevalência de 33,0% animais infectados com freqüências de soropositivos variando entre 4,3% e 72,7% nas diferentes propriedades estudadas. Observou-se, ainda, uma correlação positiva quando da associação do grau de infecção do rebanho com a apresentação de MMA, repetição de cio e leitões doentes, assim como diminuição do número de leitões nascidos por parto e desmamados por fêmea. O elevado índice de prevalência da infecção em determinadas granjas foi associado às falhas no manejo sanitário e instalações precárias.

Alguns achados podem sugerir a real participação das bactérias da família *Chlamydiaceae* em distúrbios reprodutivos relacionados à repetição do estro em matrizes suínas. Kauffold et al. (2006), em pesquisa voltada para a detecção deste agente em diferentes porções da tuba uterina de 42 porcas descartadas por repetição de estro, em granjas suinícolas na Alemanha, detectaram através de testes de PCR em fragmentos de tecidos de ampola, ístimo, junção útero-tubárica e útero, 26 (61,0%) de fêmeas positivas. Destas, 19 (73,1%) foram positivas para um ou mais segmentos da tuba uterina. Foram diagnosticadas diferentes espécies como a *C. psittaci*, *C. suis*, *C. trachomatis* e *C. abortus*. As provas de imunohistoquímica (IHC) demonstraram a presença do agente no epitélio da ampola, ístimo e útero, assim como no estroma e camada muscular do ístimo e útero.

Pouco se conhece sobre a prevalência de bactérias do gênero *Chlamydia* em varrões e, conseqüentemente, sobre dados que justifiquem a transmissão venérea destes agentes através da presença da bactéria no trato genital ou no sêmen destes reprodutores. Estudos demonstraram a detecção da *Chlamydia* spp. no trato genital destes varrões (SARMA et al., 1983) e, mais recentemente, a presença deste agente no sêmen de varrões, touros e homem, através de técnica de imunofluorescência (VEZNIK et al., 1996).

Teankum et al. (2006) avaliaram a prevalência de *Chlamydia* spp. em reprodutores suínos criados em granjas na Suíça (n = 42) e Alemanha (n = 39), utilizando os testes LPS-ELISA, IHC e PCR. Das 25 amostras de sêmen obtidas dos reprodutores de granjas Suíças,

uma foi positiva para *C. psittaci* e duas para *Chlamydia* spp. Já nos varrões das granjas localizadas na Alemanha, dez ejaculados foram positivos para *C. suis* e dois positivos para *Chlamydia* spp. Apesar da positividade para a *C. psittaci* no sêmen de varrão subfértil com dois anos de idade, não foi observada sua presença no trato genital. Os autores justificaram este achado como consequência da pequena população bacteriana infectante presente nos animais estudados. Da mesma forma, a contaminação por bactérias deste gênero pode ocorrer nos processos de coleta e manipulação do sêmen.

Estes estudos podem sugerir que o sêmen pode participar da cadeia epidemiológica de transmissão do agente em suínos. Para alguns autores, a infecção e a evolução da doença nos rebanhos ocorrem por meio do contato com fetos abortados, restos placentários e secreções do parto em animais de qualquer idade. A *C. abortus* pode ser encontrada em secreções pós-parto, em períodos que variam entre sete e 14 dias. Sendo assim, a transmissão pode ocorrer de forma vertical, através de infecção do feto durante a gestação, na forma horizontal e, diretamente, por meio da ingestão de restos placentários presentes nas instalações (LONGBOTTON e COULTER, 2003; NAVRRO et al., 2004).

A amplificação do DNA pela PCR tem sido indicada para a identificação das diferentes espécies pertencentes à família *Chlamydiaceae* (EVERETT, 2000). Atualmente, outras técnicas como PCR em tempo real, Multiplex e sistemas fluorescentes de detecção da seqüência amplificada têm sido utilizadas (MADICO et al., 2000). Também usou-se para a detecção de anticorpos contra *C. abortus* testes como ELISA, RIFI e reação de fixação de complemento (RFC). Apesar de apresentarem vários inconvenientes como a dificuldade de padronização e produção de antígenos, estes testes apresentam alta sensibilidade e facilidade de execução em todo o rebanho, por isso são extensivamente empregados, principalmente nos países onde existem programas de controle da doença (GOMES et al., 2001).

Entre os diferentes testes para a detecção de anticorpos, o de fixação de complemento é o mais utilizado no diagnóstico de rotina, sendo o teste recomendado pela OIE. Ele detecta anticorpos produzidos contra o epítipo do antígeno lipopolissacarídeo presente em todas as espécies da família *Chlamydiaceae* (EVERETT, 2000).

A característica de existência de um grande número de animais infectados, porém assintomáticos, favorece o surgimento de reservatórios da *Chlamydia* spp. Estes suínos eliminam o agente no ambiente, o que favorece a presença constante das bactérias nas instalações e aumenta os riscos de evolução da infecção nos animais do plantel. Neste sentido, torna-se muito importante a determinação de estratégias de tratamento dos animais infectados,

assim como a prevenção da infecção de animais sadios, objetivando a diminuição da prevalência das bactérias da família *Chlamydiaceae* nos plantéis suínolas (POLLMAN et al., 2005).

Alguns antibióticos têm sido utilizados com eficiência no tratamento das infecções por *Chlamydia* em suínos. Na suinocultura tecnificada, já se recomenda o fornecimento de rações medicadas com tetraciclina, com efeitos positivos no controle da evolução da doença em rebanhos infectados (GUSTAFSON, 1991). Para Sperr et al. (1992), esta droga possui características de eficiência, baixo custo e baixa toxicidade. Porém, seu uso indiscriminado nas dietas tem sido condenado por uma corrente de pesquisadores, os quais responsabilizam a antibioticoterapia na ração como facilitadora do aumento da resistência bacteriana aos fármacos utilizados (SPEER et al., 1992). A resistência a tetraciclina e sulfadiazina em amostras de *C. trachomatis* e *C. suis* foi demonstrada em estudo realizado por Lenart et al. (2001).

Segundo Longbottom e Livingstone (2006), conseguiu-se bons resultados na utilização de vacinas com antígeno morto ou modificado de *C. abortus* e *C. felis*, necessitando-se de maiores pesquisas na elaboração de antígenos que favoreçam melhores respostas imunológicas humorais.

Knitz et al. (2003) realizaram pesquisa direcionada ao monitoramento da resposta vacinal de matrizes suínas imunizadas contra *C. abortus*. Foram utilizados como antígenos corpos elementares (CEs) inativados, obtidos a partir de amostra de descarga vaginal de porcas em um rebanho comercial de suínos. Um grupo de 25 matrizes foi vacinado, utilizando-se duas doses de 2,0 mL da vacina, por via intramuscular, com intervalo de três semanas entre as aplicações. A resposta vacinal em cada fêmea avaliada foi monitorada através de exames de ELISA, onde foi detectada resposta imunológica entre os dias 7 e 14 após a primeira imunização, permanecendo com titulações elevadas até a 27ª semana pós-vacinal.

A eficácia da utilização de pró-biótico, contendo amostras de *Enterococcus faecium* como método de diminuição da eliminação de *Chlamidia spp.* no ambiente das instalações e, conseqüentemente, reduzindo os riscos da infecção natural, foi descrita por Pollmann et al. (2005). Um grupo de 22 matrizes suínas foi utilizado na pesquisa e 16 (73,0%) foram diagnosticadas como infectadas por *C. trachomatis* através da detecção do agente nas fezes, utilizando o PCR como método diagnóstico. Sendo assim, iniciou-se o fornecimento por um período de 13 semanas, de ração suplementada com Cylactin LBC ME (produto comercial

contendo *Enterococcus faecium*), na concentração de 50 mg/Kg de peso vivo das matrizes, as quais iniciaram o consumo 24 dias após a cobertura. Os resultados mostraram uma redução do número de leitões infectados nas leitegadas pertencentes às fêmeas tratadas com o pró-biótico. Para os autores, este resultado pode ser justificado pela diminuição da presença do agente nas fezes das porcas, diminuindo as chances da infecção oral dos leitões.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, D.M., CAVALCANTE, G.T., DIB, C.C., VILLALOBOS, E .M. C. et al. Anticorpos contra agentes bacterianos e virais em suínos de agricultura familiar do município de Monte Negro-RO. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 73, n. 4, p. 415-419, 2006.

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

ALTHOUSE, G. C.; KUSTER, C. E.; CLARK, S. G.; WEISIGER, R. M. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. **Theriogenology**, v.53, p.1167-1176, 2000.

AMARAL A.L.; MORÉS, N.; BARIONI JÚNIOR, W.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P.; SOBESTIANSKY, J.; DALLA COSTA, O.A. Fatores de risco associados ao desempenho reprodutivo da fêmea suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 54-67, 2000.

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

ANTUNES, R. C. Planejando a reposição de reprodutores (macho e fêmea) e impacto sobre a eficiência reprodutiva da granja. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 1, p. 41-46, 2007.

ARAÚJO, F.A.P.; DE SOUZA, W.J.S. Avaliação soro-epidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da região da Grande Erechim, RS - Brasil, detectados através das técnicas de imunofluorescência indireta e imunoenzimática. **Arquivos da Faculdade de Veterinária**, v. 29, n. 2, p. 149-150, 2001.

ASSADI-RAD, A.M.; NEW, J.C.; PATTON, S. Risk factors associated with transmission of *Toxoplasma gondii* to sows kept in different management systems in Tennessee. **Veterinary Parasitology**, v. 57, p. 289-297, 1995.

AZEVEDO, S.S.; SOTO, R.M.; MORAIS, Z.M.; PINHEIRO, S.R. et al. Frequência de aglutininas anti-leptospiras em matrizes suínas de um rebanho do município de Ibiúna, Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 73, n. 1, p. 97-100, 2006.

BASTOS, M. Leptospirose. Disponível em :< [http:// www.cca.ufes.br/caklbacteri.htm](http://www.cca.ufes.br/caklbacteri.htm). Acesso em: 07 de outubro de 2008.

BEATY, W.L.; MORRISON, R.P.; BYRNE, G.I. Persistent *chlamydiae*: from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. **Microbiological Reviews**, v. 58, n. 4, p. 686-689, 1994.

BIANCHI, I.; SCHAAF, S.; CORRÊA, E.K.; PERONDI, A.; LUCIA, T.; DECHAMPS, J.C.; CORRÊA, M.N. Importância do uso da inseminação artificial na prevenção da veiculação de patógenos através do sêmen suíno. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 1/2, p. 72-77, 2006.

BLAHA, T. **Applied veterinary epidemiology**. Amsterdam: Elsevier, p. 95-103, 1989.

BOLIN, C.A.; CASSELLS, J.A. Isolation of *Leptospira interrogans* sorovar Bratislava from stillborns and weak pigs in Iowa. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 196, p. 1601-1604, 1990.

BOLIN, C.A.; CASSELLS, J.A.; HILL, H.T.; FRANTS, J.C.; NIELSEN, J.N. Reproductive failure associated with *Leptospira interrogans* sorovar Bratislava infection of swine. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, n. 3, p. 152-154, 1991.

BOUMA, A. Transmissible virus disease in porcine reproduction. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 35, p. 243-246, 2000.

BRANDT, G. Logística na produção de suínos: ameaça ou oportunidade. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 13, 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, p. 87-94, 2007.

BRANDT, G. Quarto sítio seria a melhor solução para a incorporação de matrizes de reposição em um rebanho suíno? **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36 (supl. 1), p. 137-142, 2008.

BURRIEL, A.R.; VAROUDIS, L.; ALEXOPOULOS, C.; KRITAS, S.; KYRIAKIS, S. Sorological evidences of *Brucella* species and *Leptospira interrogans* serovars in Greek swine herds. **Journal of Swine Health and Production**, v. 11, n. 4, p. 186-189, 2003.

CAMENISH, U.; LU, Z.H.; VAUGHAN, L.; CORBOZ, L. et al. Diagnostic investigation into the role of *Chlamydiae* in cases of increased rates of return to oestrus in pigs. **Veterinary Record**, v. 155, p. 593-596, 2004.

CAMPAGNOLO, E.R. et al. Analysis on 1998 outbreak of leptospirosis of Missouri in humans exposed to infected swine. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 216, p. 676-682, 2000.

CAPORALI, E.H.G.; SILVA, A.V.; MENDONÇA, A.O.; LANGONI, H. Comparação de métodos para determinação da prevalência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em suínos dos Estados de São Paulo e Pernambuco - Brasil. **Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia**, v. 8, n. 1, p. 19-24, 2005.

CIACCI-ZANELLA, L.R.; AMARAL, A.L.; VENTURA, L.V.; MORÉS, N.; BORTOLUZZI, H. Erradicação da Doença de Aujeszky em Santa Catarina: a importância da condição sanitária de leitões de reposição. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 749-754, 2008.

CORSARO, D. et al. Increasing diversity within *Chlamydiae*. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 29, n. 1, p. 37-78, 2003.

COSTA, M.S.; AMARAL FILHA, W.S.; BERNARDI, N.L.; WENTS, I.; BORTOLOZZO, F.P. Características da taxa de abortamento em uma granja de suínos do Rio Grande do Sul.

In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 12, 2005, Fortaleza, **Anais...** 2005, p. 220-221.

DA SILVA, J.M.L. Sobre um caso de toxoplasmose espontânea em suínos. **Arquivo da Escola Superior de Veterinária da Universidade Rural do Estado de Minas Gerais**, v. 12, p. 425-428, 1959.

DAMRIYASA, I.M. et al. Cross-section survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis spp.* and *Neospora caninum* in sows. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 271-286, 2004.

DE AZEVEDO, S.S.; SOTO, F.R.M.; DE MORAIS, Z.M.; PINHEIRO, S.R.; BATISTA, C.S.; VUADEN, A.E.; VASCONCELLOS, S.A. The effects of the leptospiral infection on reproductive performance in sows. **Veterinarski Arhiv**, v. 78, n. 1, p. 13-21, 2008.

DELBEM, A.C.B.; FREIRE, L.R.; SILVA, C.A.; MÜLLER, E.E.; DIAS, R.A.; NETO, J.S.F.; FREITAS, J.C. Fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em matrizes suínas, **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 847-852, 2004.

DIAS, R.A.F.; FREIRE, L.R. Surtos de toxoplasmose em seres humanos e animais. **Seminário de Ciências Agrárias**, v. 6, n. 2, p. 239-247, 2005.

DUBEY, J.P.; BAKER, D.G.; DAVIS, S.W.; URBAN, J.F.Jr.; SHEN, S.K. Persistence of immunity of toxoplasmosis in pig vaccinated with a non-persistence strain of *Toxoplasma gondii*. **American Journal Veterinary Research**, v. 55, n. 7, p. 982-987, 1994.

DUBEY, J.P.; WEIGEL, R.M.; SEIGEL, A.M.; KITRON, U.D.; MANNELLI, A.; et al. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 5, p. 736-741, 1995.

DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal of Parasitology**, v. 28, p. 1019-1024, 1998a.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. In: PALMER, S.R.; SOULSBY, E.J.L.; SIMPSON, D.I.H. Zoonosis. **Oxford Medical publication**, p. 579-597, 1998b.

DUBEY, J.P.; HAMIR, A.N. Experimental toxoplasmosis in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 3, p. 514-519, 2002.

DUMÈTRE, A.; DARDÉ, M.L. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? **FEMS Microbiology Reviews**, p. 1-11, 2003.

ELLIS, W.A. Leptospirosis. In: LEMAN, A.D. et al. **Diseases of swine**. 7.ed. Ames Iowa State University, 1999. p. 483-493.

ENGGEMANN, G.; WENDT, M.; HOELZLE, L.E. et al. Prevalence of *Chlamydia* infection in breeding sows in their importance on reproductive failure. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 107, p. 3-10, 2000.

EVERETT, K.D.E. *Chlamydia and Chlamydiales*: more than meets the eye. **Veterinary Microbiology**, v. 75, p. 109-126, 2000.

FAINE, S. et al. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: Australia, MediSci, 1999. 272p.

FAINE, S. **Leptospira and Leptospirosis**. Boca Raton: CRC, 1994. 353p.

FAYER, R.; TROUT, J.M.; LEWIS, E.J.; XIAO, L.; LAL, A.; JENKINS, M.C.; GRACZYK, T.K. Temporal variability of *Cryptosporidium* in the Chesapeake Bay. **Parasitology Research**, v. 88, n. 11, p. 998-1003, 2002.

FERREIRA NETO, J.S. et al. *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae seropositivity and the reproductive performance of sows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 31, p. 87-93, 1997.

FIALHO, C.G.; ARAÚJO, F.A.P. Detecção de anticorpos para toxoplasma gondii em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da Grande Porto Alegre-RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 893-897, 2003.

FILIPPSEN, L.F.; LEITE, D.M.G.; DA SILVA, A.; VARGAS, G.A. Prevalência de doenças infecciosas em rebanho de suínos criados ao ar livre na região Sudoeste do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 299-302, 2001.

FRENKEL, J.K.; PFEFFERKORN, E.R.; SMITH, D.D.; FISHBACK, J.L. Prospective vaccine prepared from a new mutant of *Toxoplasma gondii* for use in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, p. 759–763, 1991.

FREYRE, A.; CHOROMANSKI, L.; FISHBACK, J.L.; POPIEL, I. Immunization of cats with tissue cysts, bradyzoites and tachyzoites of the T. 263 strain of *T.gondii*. **Journal of Parasitology**, v. 79, n. 5, p. 716-719, 1993.

GAMBLE, H.R. et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in the New England states. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 129-136, 1999.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do Norte do Paraná-Brasil. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 29, n. 1, p. 91-97, 1999.

GAUSS, C.B.L. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild pigs (*Sus scrofa*) from Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 131, p. 151-156, 2005.

GIRIO, R.J.S.; DIAS, H.L.T.; MATHIAS, L.A.; SANTANA, A.E.; ALESSI, A.C. Reproductive, haematologic and anatomopathological disorders in swine females with antibody titres to *Leptospira interrogans* sorovar icterohaemorrhagiae. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 5, p. 99-103, 1998.

GOMES, M.F.M.; GIROTTO, A.F.; TALAMINI, D.J.D. et al. **Análise prospectiva do complexo agroindustrial de suínos no Brasil**. Concórdia: EMBRAPA – CNPSA, 1992. 108p.

GOMES, M.J.P. et al. Isolamento de *Chlamydia psittaci* em touros com vesiculite seminal, no Rio Grande Do Sul. **A Hora Veterinária**, n. 119, p. 43-46, 2001.

GRESHAM, A. Infectious reproductive disease in pigs. *Farm Animal Practice*. **In Practice**, v. 25, p. 466-473, 2003.

GUERIN, B.; POZZI, N. Viruse in boar semen: detection and clinical as well as epidemiological consequences regarding disease transmission by artificial insemination. **Theriogenology**, v. 63, p. 556-572, 2005.

GUIAMARÃES, M.C. et al. Epidemiologia e controle da leptospirose bovina. Importância do portador renal e do seu controle terapêutico. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 6/7, n. 1/4, p. 21-34, 1982/1983.

GUIDA, V.O. Identificação sorológica de amostras de *Leptospira (L. hyos)*, isoladas de suínos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 25, p. 73-75, 1958.

GUIDA, V.O.; CINTRA, M.L.; SANTA ROSA, C.A.; CALDAS, A.D. Leptospirose suína provocada pela *L. canicola* em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 26, p. 49-54, 1959.

GUSTAFSON, R.H. Use of antibiotics in livestock and human health concerns. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 1428–1432, 1991.

HANSON, L.E.; REYNOLDS, H.A.; EVANS, L.B. Leptospirosis in swine caused by serotype grippotyphosa. **American Journal Veterinary Research**, v.32, n.6, p.855-860, 1971.

HERRMANN, B. et al. Characterization of rnp B gene and RNase P RNA in the order Chlamydiales. **International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 149-158, 2000.

HOELZLE, L.E.; STEINHAUSEN, G.; WITTENBRINK, M.M. PCR-based detection of chlamydial infection in swine and subsequent PCR-coupled genotyping of Chlamydial omp 1-gene amplicons by DNA-hybridization, RFLP-analysis, and nucleotide sequences analysis. **Epidemiology and Infection**, v. 125, p. 427-439, 2000.

HOLLIMAN, A. et al. Chlamydioses in abortion in a dairy herd. **Veterinary Record**, v. 134, p. 500-502, 1994.

HOTZEL, H.; BERNDT, A.; MELZER, F. et al. Occurrence of *Chlamydiaceae spp.* in a wild boar (*Sus scrofa L.*) population in Thuringia (Germany). **Veterinary Microbiology**, v. 103, p. 121-126, 2004.

HUONG, L. T.; DUBEY, J.P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs from Vietnam. **Journal of Parasitology**, v. 93, n. 4, p. 951-952, 2007.

INSTRUÇÃO NORMATIVA SD/A. n. 19 de 15 de fevereiro de 2002. In: **Regulamento de Defesa Animal**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2002.

JHONSON, D.W. Leptospirosis in Australia. In: PACIFIC SCIENCE CONGRESS, 4., 1939, Sydney, Australia. **Proceedings....** Sydney: 1939. v. 5, p. 33.

KAUFFOLD, J.; MELZER, F.; BERNDT, A. et al. Chlamydia in oviducts and uteri of repeat breeder pigs. **Theriogenology**, v. 66, p. 1816-1823, 2006.

KNITZ, J. C; HOELZLE, L. E; AFFOLTER, P.; HAMBURGER, A.; ZIMMERMANN, K.; HEINRITZI, K.; WITTENBRINK, M. M. Humoral immune response in breeding sows after vaccination with a herd-specific *Chlamydomydia abortus* vaccine. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 110, n. 9, p. 369-374, 2003.

KOKETSU, Y.; DIAL, G. D.; KING, V. L. Returns to service after mating and removal of sows for reproductive reasons from commercial swine farms. **Theriogenology**, v.47, p.1347-1363, 1997.

LANGONI, H; CABRAL, K.S. M.; JACOBI, H. Inquérito soropidemiológico para leptospirose suína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 1995, Blumenau, **Anais...** Blumenau, 1995, p. 153.

LENART, J.; ANDERSEN, A.A.; ROCKEY, D.D. Growth and Development of Tetracycline-Resistant *Chlamydia suis*. **American Society for Microbiology**, v. 45, n. 8. p. 2198-2203, 2001.

LEONARD, C et al. An estimate of the prevalence of enzootic abortion of ewes in Scotland. **Veterinary Record**, v. 133, p. 180-183, 1993.

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

LONGBOTTON, D. Chlamydial infections of domestics ruminants and swines: new nomenclature and new knowledge. **Veterinary Journal**, v. 168, p. 9-11, 2004.

LONGBOTTON, D.; COULTER, L. J. Animal chlamydioses and zoonotics implications. **Journal of Comparative Phatology**, v. 128, p. 217-244, 2003.

LUFT B. J.; REMINGTON, J. S. Toxopasmic encephalitis in AIDS. **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, n. 2, p. 211-222, 1992.

MADICO, G. et al. Touchdown enzyme time release- PCR for detection and identification of *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* and *Chlamydia psittaci*: using the 16S-23S spacer rRNA genes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, p. 1085-1093, 2000.

MADRUGA, C.R.; ARAÚJO, F.R. de; SOARES, C.O. **Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária**. Campo Grande : EMBRAPA Gado de Corte, 2001. 360p.

MAILLOUX, M. Leptospiroses = Zoonoses. **International Journal of Zoonoses**, v. 78, n. 12, p. 1158-1159, 2001.

MARTINS, C.S.; VIANA, J.A. Toxoplasmose- o que todo profissional da saúde deve saber- Revisão. **Clínica Veterinária**, n. 15, p. 33-37, 1998.

MATEUS-PINILLA, N.E.; HANNON, B.; WEIGEL, R.N. A computer simulation of the prevention of the transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms using a feline *T. gondii* vaccine. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 55, p. 17-36, 2002.

MENGELING, W.L.; LAGER, K.M.; VORWALD, A.C. Temporal characterization of transplacental infection of porcine fetuse with porcine reproductive respiratory syndrome virus. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 199-210, 2000.

MEREDITH, M. J. **Pig breeding and infertility**. In: Meredith, M. J. Animal breeding and infertility. Cambridge: Blackwell Science, 1995, p. 278-253.

MILLAR, P.R.; DAGUER, H.; VICENTE, R.T.; COSTA, T. et al. *Toxoplasma gondii*: estudo soro-epidemiológico de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 15-18, 2008.

MOURA, A.B.; FILHO, S.J.; DI MAURO, D.C.; PAIM, B.B.; PINTO, F.R.; COSTA, A.J. Avaliação dos parâmetros seminais de caçaços (*Sus scrofa*) experimentalmente infectados com *Toxoplasma gondii*. **Ciências Agrárias**, v. 25, n. 2, p. 107-116, 2004.

MOUSING, J.; CHRISTENSEN, J.; HAUGEGAARD, J.; SCHIRMER, A.L.; FRIIS, N.F.A. seroepidemiological survey of *Leptospira bratslava* infections in Danish sow herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 23, p. 201-213, 1995.

MUIRHEAD, M. R. Epidemiology and control of vaginal discharges in the sow after service. **Vet Rec**, v.119, p.233-235, 1986.

235, 1986. MURHEKAR, M.V. et al. Risk factors in the transmission of leptospiral infection. **Indian Journal Medical Research**, v. 107, p. 218-223, 1998.

NAVARRO, J.A. et al. Kinetics of infection and effects on the placenta of *Chlamydia abortus* in experimentally infected pregnant ewes. **Veterinary Pathology**, v. 41, p. 498-505, 2004.

NEVES, J.F. Desafios da nutrição para cumprir 30 leitões porca/ano. **Suínos e Companhia**, v. 4, n. 20, p. 38-41, 2006.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. **C. R. Herbd Séances Acad. Sci.**, v. 147, p. 763-766, 1908.

NOGAMI, S.; TABATA, A.; MORITOMO, T.; HAYASHI, Y. Prevalence of Anti-*Toxoplasma gondii* Antibody in Wild Boar, *Sus scrofa* riukiuanus, on Iriomote Island, Japan. **Veterinary Research Communications**, v. 23, p. 211-214, 1999.

OLIVEIRA, S.J.; PIANTA, C.; SITYA, J. Abortos em suínos causados por *Leptospira pomona* no Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desidério Finamor”**, n. 7, p. 47-49, 1980.

PERESTRELO-VIEIRA, R.; PERESTRELO-VIEIRA, H. Algumas notas sobre as doenças transmitidas pelo sêmen de suíno. **Méd Vet**, v.43, p.5-14, 1995.

PEREIRA, J.C.C. **Melhoramento genético dos suínos**. In: Pereira JCC. Melhoramento genético aplicado à produção animal. 4. Ed. Belo Horizonte: FEPMZ Editora, p. 372-392, 2004.

PERRY, G.; HEARDY, R.A **Scientific Review of Leptospirosis and implications for quarentene policy**. Austrália: Editora Canberra, 2000. 115p.

PEZERICO, G.B.; PEZERICO, S.B.; SILVA, R.C.; HOFFMANN, J.F; CAMARGO, L.B.; LANGONI, H. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira spp.* em suínos abatidos em três abatedouros dos Estados de Minas Gerais e São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p. 267-270, 2007.

PIFFER, I.A.; PERDOMO, C.C.; SOBESTIANSKY, J. **Efeitos de fatores ambientais na ocorrência de doenças**. In: SOBESTIANSKY, J. et al. Suinocultura Intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho. Brasília : Embrapa-SPI, Cap.13. p.257-274. 1998.

POLLMANN, M.; NORDHOFF, M.; POSPISCHIL, A.; TEDIN, K.; WIELER, L.H. Effects of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on the rate of natural Chlamydia infection in swine. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 4346-4353, 2005.

POZZOBON M.C.; MARCHETTI, A.N.; WENTS, I.; BORTOLOZZO, F.P.; BORCHARDT, G. Inseminação artificial pós-ovulatória e suas consequências sobre o desempenho reprodutivo de matrizes suínas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL MINITUB INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS, 3, 2000, Flores da Cunha, **Anais...** Flores da Cunha, RS, O Simpósio, 2000. p. 80-85.

RAMADASS, P.; JARVIS, B.D.; CORNER, R.J.; PENNY, D.; MARSHALL, R.B. Rapid diagnosis of leptospirosis by polymerase chain reaction. **The Indian Veterinary Journal**, v. 74, n. 6, p. 457-460, 1997.

REINHOLD, P.; KIRSCHVINK, N.; THEEGARTEN, D.; BERNDT, A. An experimentally induced *Chlamydia suis* infection in pigs results in severe lung function disorders and pulmonary inflammation. **Veterinary Record**, v. 39, n. 35, p. 1-19, 2008.

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

ROTHSCHILD, F.M.; PLASTOW, G. Advances in pig genomics and industry applications. **Ag. Biothec. Net.**, 1:1.

SARMA, D.K.; TAMULI, M.K.; RAHMAN, T. et al. Isolation of chlamydia from a pig with lesions in the urethra and prostate gland. **Veterinary Record**, v. 112, p. 525, 1983.

SHERDING, R.G. **Toxoplasmose, Neosporose e Outras Infecções Protozoárias Multissistêmicas**. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. (eds). Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais. São Paulo : Editora Roca, p. 157-162, 1998.

SILVA, F.G.; FREITAS, J.C.; MÜLLER, E.E. *Chlamydophila abortus* em animais de produção. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 342-348, 2006.

SILVEIRA, P.R.S. Fatores que interferem na taxa de parição em rebanhos suínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 1, p. 32-37, 2007.

SOBESTIANSKY, J. et al. **Clínica e Patologia Suína**. Laboratórios Pfizer Ltda, 1999.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELOS, D. **Doenças nos Suínos**. Goiânia: Cãnone Editorial, 2007. 770p.

SOBESTIANSKY, J.; MATOS, M.P.C. Doenças transmissíveis via sêmen. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS, 7, 2000, Foz do Iguaçu, **Anais...** Foz do Iguaçu, 2000, p. 295-297.

SOTO, F.R.M.; VASCONCELLOS, S.A.; PINHEIRO S.R.; BERNARSI, F.; CAMARGO, S. R. Leptospirose suína: Uma Revisão. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 74, n. 4, p. 379-395, 2007.

SOUZA, W.J.S. **Epidemiologia da toxoplasmose: avaliação sorológica de suínos e trabalhadores em abatedouros na mesorregião do Grande Rio de Janeiro**. 1995. 125f. Tese (Doutorado em parasitologia) - Instituto Oswaldo Cruz.

SPEER, B.S.; SHOEMAKER, N.B.; SALYERS, A.A. Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 5, p. 387-399, 1992.

SPÖRKE, J. Importância da taxa de parição em sistema de alta produção. **In: Simpósio Internacional de Produção Suína**, 2, 2006, Campinas, SP. Anais... Campinas, SP: Consuitec, 2006. p.116-129. CD-ROM.

STORS, J. et al. The isolation of aviral agent from epizootic bovine abortion. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 137, p. 509-514, 1960.

STORS, J.; KALTNBÖCK, B. **Diversity of Chlamydia induced disease**. In: WOLDHIWET, Z.; RISTIC, M. (Eds). *Richettsial and Chlamydial Disease of Domestic Animals*. Oxford: Pergamon Press, p. 363-393. 1993.

TENKUM, K.; POSPISHIL, A.; JANETT, F.; BÜRGI, E. et al. Detection of Chlamydiae in boar semen and genital tracts. **Veterinary Microbiology**, v. 116, p. 149-157, 2006.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

THOMA, R.; GUSCETTI, F.; SCHILLER, I.; SCHMEER, N. et al. Chlamydiae in porcine abortion. **Veterinary Pathology**, v. 34, p. 467-469, 1997.

VANNIER, P. Infectious causes of abortion in swine. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, p. 367-376, 1999.

VAN TIL, L.D.; DOHOO, I.R. A serological survey of leptospirosis in prince Edward Island swine herds and its association with infertility. **Canadian Journal Veterinary Research**, v. 55, p. 352-355, 1991.

VANRONPAY, D. et al. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydioses. **Veterinary Microbiology**, v. 45, p. 93-119, 1995.

VARGAS, A.J.; WENTS, I.; BORTOLOZZO, F. Desempenho de fêmeas suínas após apresentarem falhas reprodutivas. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS, 5, 2006. Florianópolis, SC. **Anais...** Concórdia: Embrapa suínos e aves, 2006. v. 3, p. 25-33. CD-ROM

VANROMPAY, D.; GUEENS, T.; DESPLANQUES, A.; HOANG, T.Q. et al. Immunoblotting, ELISA and culture evidence for *Chlamydiaceae* in sows on 258 Belgian farms. **Veterinary Microbiology**, v. 99, p. 59-66, 2004.

VASQUES-CISNEROS, C.; WILSMORE, A. J.; BOLLO, E. Experimental infections of pregnant sows with ovine *Chlamydia psittaci* strains. **Veterinary Microbiology**, v. 42, p. 383-387, 1994.

VENTURINI, M.C.; BACIGALUPE, D.; VENTURINI, L.; RAMBEAUD, M.; BASSO, W.; UNZAGA, J.M.; PERFUMO, C.J. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sows from slaughterhouses and in pigs from indoor and an outdoor farm in Argentina, **Veterinary Parasitology**, v. 124, n. 3-4, p. 161-165, 2004.

VESNICK, Z.; SVECOVA, D.; POSPISIL, L.; DIBLIKOVA, I. M. Detection of chlamydial in animal and human semen using direct immunofluorescence. **Veterinary Medicine (Praha)**, v. 41, p. 201-206, 1996.

VIDOTTO, O.; COSTA, A.J.; BALARIN, M.R.S.; ROCHA, M.A. Toxoplasmose experimental em porcas gestantes. I. Observações clínicas e hematológicas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 39, n. 34, p. 623-639, 1987.

VILLARI, S.; VESCO, G.; PETERSEN, E.; CRISPO, A.; BUFFOLANO, W. Risk factors for toxoplasmosis in pigs bred in Sicily, Southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 161, n. 1-2, p. 1-8, 2009.

YAN, K.T.; ELLIS, W.A.; MACKIE, D.P.; TAYLOR, M.J.; MCDONNELL, S.W.J.; MONTGOMERY, J.M. Development of an ELISA to detect antibody to protective lipopolysaccharide fraction of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo in cattle. **Veterinary Microbiology**, v.69, p.173-187, 1999.

WEIGEL, R.M.; DUBEY, J.P.; SIEGEL, A.M.; KITRON, U.D.; MANNELLI, A.; MITCHELL, M.A.; MATEUS-PINILLA, N.E.; THULLIEZ, P.; SHEN, S. K.; KWOK, O.C.H.; TOOD, K.S. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 5, p. 736-741, 1995.

WEITZE, K.F. Transmissible disease by insemination artificial in pigs. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996, Campo Grande, **Anais...**Campo Grande, MS, O Congresso, 1996, p. 1-7.

WENDT, M.; EGGEMANN, G.; WITTENBRINK, M. et al. Prevalence of Chlamydial infection in breeding sows. **In. Proceedings of the 15th IPVS Congress, Birmingham, England**, p. 437-450, 1998.

5 ARTIGOS CIENTÍFICOS

5.1 Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em granjas suínolas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil¹

Prevalence and risk factors associated with infection by *Leptospira* spp. on commercial swine farms in the state of Alagoas, Brazil

Resumo: Objetivou-se com este estudo calcular a prevalência e identificar os fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil. Para compor a amostra do estudo de prevalência foram utilizados 342 suínos, sendo 312 matrizes e 30 varrões, oriundos de sete granjas de ciclo completo e distribuídas em cinco municípios do Estado de Alagoas. O diagnóstico sorológico da infecção foi realizado pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM). A análise dos fatores de risco foi realizada por meio da aplicação de questionários constituídos por perguntas objetivas referentes ao criador, às características gerais da propriedade, ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário. Obteve-se uma prevalência de 16,10% (55/342) de suínos soropositivos. Os fatores associados foram: não realização de quarentena ($p = 0,003$; OR = 5,43; IC = 1,79 – 16,41) e a utilização da inseminação artificial ($p = 0,023$; OR = 3,38; IC = 1,18 – 9,66). Detectou-se associação entre a infecção das matrizes e o aumento do número de natimortos e mumificados, assim como com a maior frequência de repetição de cio e aumento do intervalo desmama/estro nas matrizes soropositivas. Conclui-se que a infecção por *Leptospira* spp. encontra-se disseminada nas granjas suínolas tecnificadas no Estado de Alagoas e contribui com a ocorrência de falhas reprodutivas e queda nos índices zootécnicos nessas propriedades. Os fatores de risco identificados nesse estudo são

¹ Artigo formatado no modelo da revista **Preventive Veterinary Medicine**

facilitadores na disseminação do agente e devem ser corrigidos para controlar a doença nos rebanhos estudados.

Palavras chave: Leptospirose; suínos; epidemiologia.

Abstract: The objective of this study was to determine the prevalence and identify the risk factors associated with infection by *Leptospira* spp. in commercial pig farms in the state of Alagoas, Brazil. To compose the study, were used 342 pigs (312 sows and 30 boars) from at seven swine herds distributed in five districts of the state of Alagoas. The serological diagnosis of infection was done by Microscopic Agglutination Test (SAM). The risk factors analysis was performed by the application of research questionnaires, consisting of objective questions relating to the designer, the general characteristics of the property, the production management, and reproductive health. Detected a prevalence of 16.10% (55/352) of pigs positive. The risk factors associated were: The not perform quarantine ($p = 0.003$, OR = 5.43, CI = 1.79 - 16.41) and artificial insemination utilization ($p = 0.023$, OR = 3.38, CI = 1.18 - 9, 66). Was found significant association of sows infection with the increased number of stillborn and mummified, and with the increase frequency of estrus recurrence and increased the numbers of days from weaning to service of seropositive sows. It is concluded that infection with *Leptospira* spp. is disseminated in commercial pig farms in the state of Alagoas, favoring the reproductive failures and decrease of zootechnical performance. The risk factors identified in this study are facilitators in the dissemination of infection and should be adjusted to control the disease in the herds studied.

Keywords: Leptospirosis; swines; epidemiology.

1. Introdução

Estudos soroepidemiológicos relacionados à infecção por *Leptospira* spp. em rebanhos suínos têm sido realizados mundialmente devido à interferência da mesma nos índices reprodutivos dos plantéis e ao potencial desta espécie como fonte de infecção para o homem (Ramos et al., 2006). A leptospirose é reconhecida como uma doença infecto-contagiosa que ocasiona distúrbios reprodutivos em granjas produtoras de suínos, principalmente naquelas situadas no hemisfério Norte, Nova Zelândia e Argentina (Mailloux, 2001).

No Brasil são poucos os trabalhos com esta enfermidade nos suínos e a infecção por esta bactéria em plantéis suínos ocorre em frequências que variam de acordo com as regiões estudadas (Soto et al., 2007). Os efeitos negativos da infecção por *Leptospira* spp. foram registrados em granjas suínos no Rio Grande do Sul (Oliveira et al., 1995), São Paulo (Girio et al., 1998; Azevedo et al., 2008), Paraná (Filippsen et al., 2001; Delbem et al., 2004) e Rondônia (Aguiar et al., 2006).

A complexidade epidemiológica da leptospirose está relacionada à variedade de sorovares presentes nos rebanhos suínos em todo o mundo e os efeitos reprodutivos dessa doença relacionam-se ao aumento no número de natimortos e mumificados, nascimento de leitões fracos (Ramos et al., 2006), aumento do intervalo entre o desmame e o estro, queda do número de leitões por parto, assim como no número de leitões desmamados (Azevedo et al., 2008). As condições sanitárias das granjas, a distância entre estas e o trânsito de animais entre as propriedades podem favorecer a disseminação do agente em granjas suínas (Burriel et al., 2003).

Alguns trabalhos realizados no mundo destacaram como principais fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp., a ocorrência de roedores nas granjas, o manejo da água dentro das granjas, presença de áreas alagadiças (Delbem et al., 2004), número de matrizes do plantel, nível de tecnificação e falhas no controle de roedores (Boqvist et al., 2002).

Objetivou-se com este estudo calcular a prevalência e identificar os fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil.

2. Métodos

2.1. Local de realização da pesquisa

Foram utilizados animais criados em granjas tecnificadas localizadas no Estado de Alagoas-Brasil. Este Estado situa-se na porção Centro-Oriental do Nordeste Brasileiro, em uma faixa intertropical, e apresenta longos períodos de irradiação solar com variação de 2200 a 2600 horas de sol distribuídas durante o ano. A temperatura é elevada durante a maior parte do ano, com variações ocorrendo entre 22 e 28°C. Divide-se em três mesorregiões: Leste Alagoano, Agreste Alagoano e Sertão Alagoano (Assis et al., 2007).

2.2. Amostragem

O experimento foi realizado entre os meses de janeiro e novembro de 2008. Para compor a amostra para o estudo de prevalência, considerou-se uma prevalência esperada de 33,6% (Azevedo et al., 2008), com nível de confiança de 95% e erro estatístico de 5% (Thrusfield, 2004), o que determinou uma amostra mínima de 340 animais.

Foram utilizados 342 suínos, sendo 312 matrizes e 30 varrões, oriundos das sete granjas suinícolas de ciclo completo, localizadas em cinco municípios distribuídos nas regiões Leste e Agreste do Estado de Alagoas. Os animais eram híbridos, pertencentes a diferentes linhagens genéticas e fornecidos por diferentes empresas que atuam no ramo de melhoramento genético da suinocultura brasileira. As fêmeas eram mantidas sob condições de confinamento total, alojadas em gaiolas durante a fase de lactação e em baias coletivas e/ou gaiolas na fase de gestação. Recebiam alimentação balanceada e eram submetidas a manejo de monta natural e/ou

inseminação artificial de acordo com os manejos reprodutivos e sanitários realizados nas diferentes granjas. Os varrões eram mantidos em baias individuais sob as mesmas condições disponibilizadas às matrizes.

2.3. Colheita e processamento das amostras

As amostras de sangue foram colhidas por meio de punção da veia cava cranial e após centrifugação, as amostras de soro sangüíneo foram acondicionadas em tubos de polipropileno e armazenadas a -20 °C. O diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp. foi realizado no Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo, pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), de acordo com Galton et al. (1965) e Cole et al. (1973), com uma coleção de antígenos vivos que incluiu os seguintes sorovares: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Grippotyphosa, Wolffi, Hardjo, Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Hebdomadis, Javanica, Panama, Pyrogenes, Shermani, Tarassovi, Whitcombi, Sentot e Mini. Os soros foram triados na diluição de 1:100 e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram titulados por meio de uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado positivo.

2.4. Estudo dos fatores de risco

A análise dos fatores de risco foi realizada por meio da aplicação de questionários investigativos constituídos por perguntas objetivas referentes ao criador, às características gerais da propriedade, assim como ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário.

Para identificar os fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp., foi realizada análise univariada das variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, quando necessário, com nível de significância adotado de 5%. Posteriormente aplicou-

se uma análise multivariada através do modelo de regressão logística considerando como variável dependente o status sorológico do animal (positivo ou negativo) para *Leptospira* spp. As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística $<0,20$. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (Hosmer e Lemeshow, 1989). O programa SPSS for Windows, versão 12,0 - Statistical Package for the Social Science foi utilizado para a realização dos cálculos estatísticos.

3. Resultados

Das 342 amostras analisadas, observou-se prevalência de 16,1% (55/342) de suínos soropositivos para *Leptospira* spp.. Foram detectados animais soropositivos em todas as sete granjas estudadas (100,0%), com frequência de animais positivos variando entre 4,0% e 24,3%. O sorovar mais predominante detectado foi o Icterohaemorrhagiae 41,8% (23/55), seguido pelo Autumnalis 29,1% (16/55) e Bratislava 9,1% (5/55). Ainda foram observados soropositivos para o sorovar Grippotyphosa 5,5% (3/55), Australis 5,5% (3/55), Pyrogenes 3,6% (2/55), Hardjo 1,8% (1/55), Castellonis 1,8% (1/55) e Pomona 1,8% (1/55).

A frequência de acordo com o sexo foi de 16,3% (51/312) para matrizes e 13,3% (4/30) para varrões. As granjas que não realizavam quarentena registraram 30,4% de animais soropositivos, enquanto que naquelas que realizam este manejo observou-se 13,9%, confirmando o efeito significativo ($p = 0,004$) da realização deste manejo profilático sobre o índice de infecção (Tabela 1). As granjas que não realizam quarentena apresentam 5,4 vezes mais chances de infecção por *Leptospira* spp., quando comparadas àquelas que a empregam (Tabela 2).

Observou-se maior frequência (21,4%) de animais soropositivos nos suínos submetidos ao manejo de inseminação artificial (IA), contra 16,8% de positivos quando da utilização da monta natural (MN) e menor frequência (12,4%) para o grupo de associação entre dois tipos de manejo

de cobertura (MN + IA) (Tabela 1). Na análise multivariada observou-se que os animais submetidos ao manejo de cobertura de IA possuem 3,38 vezes mais chances de se infectarem do que os suínos criados com MN (Tabela 2).

Detectou-se maior frequência de animais soropositivos em rebanhos que apresentavam mais de 300 matrizes (21,4%), contra uma frequência de 16,8% para propriedades com menos de 100 matrizes. A menor frequência de suínos positivos (12,4%) ocorreu nas granjas com plantel entre 100 e 300 matrizes.

Maior frequência de soropositivos foi observada em animais criados em granjas que não possuíam bebedouros comuns para jovens e adultos (18,2%; 50/275), enquanto que naquelas que utilizavam bebedouros comuns, a frequência foi de 7,5% (5/67). Confirmou-se uma associação significativa entre esta variável e o índice de infecção ($p = 0,032$) na análise univariada, não sendo confirmada na análise multivariada.

Na Tabela 3 encontram-se os resultados da análise de associação entre os índices de infecção e o desempenho reprodutivo. Observou-se que 23,0% das matrizes que apresentaram entre uma e duas repetições de cio foram soropositivas, demonstrando associação ($p = 0,011$) entre o grau de infecção sobre este índice reprodutivo. Detectou-se frequência de 22,0% de matrizes soropositivas e que apresentaram natimortos, conferindo uma associação significativa ($p < 0,001$), quando comparadas com as que não apresentaram natimortos, cuja frequência foi de 7,1%.

Observou-se frequência de 25,6% de soropositivos para matrizes que apresentaram ao menos um feto mumificado, contra 11,3% para aquelas que não apresentaram, confirmando a associação significativa ($p < 0,001$). Contudo, vale ressaltar que não foi observada a associação entre o índice de infecção sobre a ocorrência de abortos nas matrizes.

Observou-se frequência de 21,2% de soropositivos para matrizes que apresentaram intervalo entre o desmame e o estro com períodos superiores a oito dias, contra 50% para aquelas

que apresentaram intervalo inferior a cinco dias e 12,2% para o grupo de matrizes que apresentou intervalo entre cinco e oito dias. Não se observou associação significativa entre o status sorológico e o intervalo entre o desmame e o estro.

As matrizes com mais de três partos demonstraram maior frequência (19,0%; 16/84) de soropositivas, contra 16% (33/206) das que apresentaram entre dois e três partos, e 10,1% (2/22) das que eram primíparas. Não houve associação significativa entre o índice de infecção das matrizes e a ordem de parto, assim como entre o número de matrizes soropositivas e as médias de nascidos total e de nascidos vivos nas leitegadas.

4. Discussão

Este foi o primeiro estudo soroepidemiológico envolvendo a infecção por *Leptospira* spp em matrizes e reprodutores suínos em granjas suinícolas tecnificadas na região Nordeste do Brasil.

A prevalência de 16,1% de animais soropositivos difere de outros estudos realizados no Brasil e no mundo. Naito et al. (2007) estudaram a prevalência de matrizes suínas positivas para infecção por *Leptospira* spp. em rebanhos no Japão e observaram prevalência de 44,0%. Valentina et al. (2003) detectaram 6,0% de positivos dos 662 varrões criados livremente em seis municípios na região central da Itália. Boqvist et al. (2002) relataram uma prevalência de 32,0% de soropositivos em matrizes suínas criadas no sul do Vietnã. No Brasil, Lima (1996) constatou 42,2% de soropositivos, em 1.545 suínos de 83 granjas no Estado do Rio Grande do Sul. Langoni et al. (1995) encontraram 27,3% de positividade para infecção por *Leptospira* spp. em suínos de diferentes regiões do Estado de São Paulo. A presença de animais positivos em todas as granjas estudadas indica a presença de muitos focos da infecção e circulação da bactéria intra e inter-rebanhos. Para Piffer et al. (1998) cada granja produtora de suínos funcionará de forma diferente em relação à viabilidade, permanência e transmissão da

leptospira, pois cada uma apresentará características de ambiente, manejo e instalações diferentes.

A predominância do sorovar *Icterohaemorrhagiae* nesse estudo sugere os roedores como o principal responsável pela contaminação do ambiente das instalações, favorecendo a infecção dos animais e corroborando com o descrito por Delbem et al. (2004). Sobre esse aspecto, observou-se a presença desses animais circulando nas instalações em todas as granjas visitadas neste estudo. Para Favero et al. (2002), houve modificação no perfil da infecção por leptospiros nos rebanhos suínos brasileiros, pois o sorovar *Pomona* tradicionalmente diagnosticado como predominante, está sendo substituído pelo *Icterohaemorrhagiae*, sugerindo, assim, falhas no controle de roedores nas áreas das granjas. Ainda sobre esse aspecto, constatou-se que as granjas estudadas não realizavam controle dos roedores. Para Boqvist et al. (2002), as granjas que não realizavam estratégias de controle de roedores apresentaram 7,8 vezes mais chances de ocorrência de infecção dos animais.

A ausência de associação entre as frequências de animais reagentes vacinados (15,7%) ou não (16,8%) contra a leptospirose corrobora com os resultados obtidos por Delbem et al. (2004), que relataram que os grupos de matrizes soronegativas e soropositivas foram homogêneos quanto à idade e a condição vacinal. Este resultado pode ser justificado pelo fato das vacinas comerciais utilizadas na prevenção da infecção dos animais desta pesquisa serem compostas por antígenos de um grupo reduzido de sorovares (*Bratislava*, *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Hardjo*, *Icterohaemorrhagiae* e *Pomona*). Isto pode justificar a detecção de sorovares não incluídos nesta vacina como o *Autumnalis*, o *Castellonis*, o *Pyrogenes* e o *Australis*. Vale ressaltar ainda que na presente pesquisa a colheita de sangue realizada nas matrizes e reprodutores vacinados foi efetuada com intervalo mínimo de quatro meses após a última vacinação, o que, segundo Faine (1999), é suficiente para que os anticorpos vacinais não sejam detectados pela SAM.

O sorovar Bratislava, segundo mais predominante neste estudo, apresenta os suínos e cães como reservatórios (Aguiar et al., 2006). Ellis (1999) relataram esse sorovar como o mais frequente em granjas suínas no Brasil e esteve associado a ocorrência de falhas reprodutivas, como abortos, natimortos e nascimento de leitões fracos em plantéis suinícolas (Van til, 1991; Faine et al., 1999; Gummow et al., 1999). Esse sorovar também foi o segundo mais predominante em suínos de granjas no Estado do Rio de Janeiro (Ramos et al., 2006), assim como foi isolado em fetos abortados em granjas no Rio Grande do Sul (Oliveira et al., 1980). Na análise dos questionários também foi detectada a presença de cães em todas as granjas estudadas, sugerindo que possam estar envolvidos na contaminação do ambiente das granjas. O sorovar Castellonis detectado em um varrão também tem nos roedores os seus hospedeiros mais comuns (Aguiar et al., 2006), os quais podem ser indicados como responsáveis pela presença deste agente nas instalações das granjas.

A infecção dos varrões pelos sorovares Icterohaemorrhagiae e Castellonis merece uma avaliação mais criteriosa, devido ao fato de que três dos quatro machos soropositivos serem utilizados em granjas com manejo de IA. Sendo assim, a característica de melhoria das condições de sanidade do rebanho na utilização desta biotécnica pode ser prejudicada. Os reprodutores assintomáticos podem ter interferido sobre a disseminação da bactéria no rebanho. Para Boqvist et al. (2002), rebanhos com regime de IA apresentaram 11,3 vezes mais chances de se infectar com o sorovar Pomona do que aqueles que utilizavam a MN como manejo de cobertura. Os sorovares Bratislava e Pomona podem estar associados à transmissão venérea através da utilização de reprodutores infectados. O agente permanece por longos períodos nos rins e trato genital de matrizes e reprodutores, sendo eliminado pela urina e fluidos genitais (Ellis et al., 1986; Faine, 1999).

Este dado também pode justificar o resultado de maior frequência de matrizes e reprodutores soropositivos em granjas com rebanho superior a 300 matrizes (21,4%). Na

presente pesquisa, todos os rebanhos pertencentes a este grupo utilizavam a IA como sistema de cobertura. Como 75% dos machos soropositivos eram utilizados em manejo de IA, os riscos de transmissão do agente através do sêmen podem estar sendo potencializados.

A associação significativa observada na comparação entre as matrizes criadas em granjas que realizam o manejo de quarentena contra as que não realizam este manejo pode ser justificado pela realização de práticas sanitárias preventivas, dentre as quais a imunização contra a leptospirose realizada nas leitoas e varrões a serem introduzidos no rebanho. Soma-se a este fato, o impedimento de entrada de animais com alterações de comportamento e/ou clínicas, observados após o estresse de transporte e chegada ao novo ambiente.

A associação significativa detectada entre o índice de infecção das matrizes e o aumento no número de natimortos e mumificados corrobora com os dados descritos por Azevedo et al. (2008), que observaram efeito estatístico ($p = 0,001$) nesta associação. O sorovar *Icterohaemorrhagiae*, predominante na presente pesquisa, também foi relacionado ao aumento da ocorrência de natimortos por Ramos et al. (2006). Da mesma forma, Boqvist et al. (2002) detectaram associação entre as fêmeas reagentes para o sorovar Tarassovi e o número de natimortos por leitegada. Nesse estudo foram detectados 2,4 leitões natimortos por leitegada em matrizes positivas, sendo um número superior aos 1,6 natimortos observados nas fêmeas não reagentes. Para Ellis (1999), a presença de natimortos ou que nascem fracos são sinais característicos da infecção crônica de matrizes positivas para leptospirose, favorecendo perdas econômicas na atividade.

A ausência da associação significativa de matrizes soropositivas sobre o índice de abortos, observado nesta pesquisa, pode ser justificada pela ocorrência da forma crônica da doença nas matrizes estudadas. Esta falha reprodutiva é mais frequente em animais que nunca tiveram contato com o agente, ou em situações de queda da imunidade natural ou induzida pela vacinação (Boqvist et al., 2002).

Os resultados da associação significativa do intervalo entre a desmama e o estro (IDE) sendo influenciado pelo índice de infecção das matrizes corrobora com os achados de Boqvist et al. (2002) e Azevedo et al. (2008), que também associaram o aumento do IDE ao sorovar *Grippyphosa*. Este achado pode sugerir a interferência da infecção sobre fatores endócrinos que regulam o estro, após o desmame. O acometimento de órgãos que controlam a ocorrência do cio pós-desmame, como os ovários, podem alterar as respostas endócrinas esperadas. Kavanagh (1991), na Irlanda, detectou leptospiros em ovidutos através de imunofluorescência. As leptospiros tendem a se alojar em locais de difícil atuação de anticorpos, como os túbulos renais, olhos e útero (Sarazá e Sánchez-Vascaíno, 2002). Ellis et al. (1986) detectaram o agente nos rins, úteros e tecidos genitais de fêmeas que abortaram, sugerindo a transmissão venérea deste agente, assim como Girio et al. (1998) diagnosticaram matrizes soropositivas para *L. icterohaemorrhagiae* associadas às endometrites e salpingites.

Na presente pesquisa, observou-se associação significativa do grau de infecção das matrizes sobre a repetição de cio. Azevedo et al. (2008) demonstraram frequência de 10,5% de matrizes soropositivas para *Leptospira* spp. e que apresentaram repetição de cio. Para Ramos et al. (2006) esta falha reprodutiva foi o índice mais afetado na avaliação das matrizes soropositivas (12,15%), seguido pelo aborto (3%). Para os autores, o retorno ao estro em períodos maiores de 23 dias está relacionado à morte embrionária e favorecem ao aumento do intervalo entre partos para períodos superiores a 150 dias.

5. Conclusão

A infecção por *Leptospira* spp. encontra-se disseminada nas granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas e contribui com a ocorrência de falhas reprodutivas e queda nos índices zootécnicos nessas propriedades. Os fatores de risco identificados nesse estudo são facilitadores

na disseminação do agente e devem ser corrigidos para controlar a doença nos rebanhos estudados.

Agradecimentos

Ao laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo, pelo auxílio na realização dos testes laboratoriais.

Referências

- Aguiar, D.M., Cavalcante, G.T., Dib, C.C., Villalobos, E.M.C., Cunha, E.M.S., Lara, M. C.C.S.H., Rodriguez, C.R., Vasconcellos, S.A., Moraes, Z.M., Labruna, M.B., Camargo, L.M.A., Gennari, S.M., 2006. Anticorpos contra agentes bacterianos e virais em suínos de agricultura familiar do município de Monte Negro-RO. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo* 73 (4), 415-419.
- Assis, J.S., Alves, A.L., Nascimento, M.C., 2007. Atlas escolar Alagoas: espaço geohistórico e cultural. João Pessoa: Grafset, 208p.
- Azevedo, S.S., Soto, F.R.M., Moraes, Z.M., Pinheiro, S.R., Vuaden, E.R., Batista, C.S.A., Souza, G.O., Delbem, A.C.B., Gonçalves, A.P., Vasconcellos, S.A., 2006. Frequência de aglutininas anti-leptospiras em matrizes suínas de um rebanho do município de Ibiúna, Estado de São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo* 73(1), 97-100.
- Azevedo, S.S., Soto, F.R.M., Moraes, Z.M., Pinheiro, S.R., Batista, C.S.A., Vuaden, E., Arruda, S., 2008. The effects of the leptospiral infection on reproductive performance in sows. *Veterinarski Arhiv* 78(1), 13-21.
- Azevedo, S.S., Oliveira, R.M., Alves, C.J., Assis, D.M., Aquino, S.F., Farias, A.E.M., Lucena, T.C.C., Batista, C.S.A., Castro, V., Genovez, M.E., 2008. Prevalence of anti-*Leptospira* spp.

- antibodies in swine slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba state, Northeast region of Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo* 75(4), 517-520.
- Boqvist, S., Thu, H.T.V., Vagsholm, I., Magnusson, U., 2002. The impact of *Leptospira* seropositivity on reproductive performance in sows in southern Viet Nam. *Theriogenology* 58, 1327-1335.
- Burriel, A.R., Varoudis, L., Alexopoulos, C., Kritas, S., Kyriakis, S., 2003. Sorological evidences of *Brucella* species and *Leptospira interrogans* serovars in Greek swine herds. *Journal of Swine Health and Production* 11(4), 186-189.
- Cole, J.R., Sulzer, C.R., Ulssely, P.R., 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. *Applied Microbiology* 5, 976-980.
- Delbem, A.C.B., Freitas, J.C., Bracarense, A.P.F.R.L., Müller, E.E., Oliveira, R.C., 2002. Leptospirosis in slaughtered sows: serological and histopathological investigation. *Braz. J. Microbiol.* 33, 174-177.
- Delbem, A.C.B, Freire, L.R., Silva, C.A., Müller, E.E., Dias, R.A., Neto, J.S.F., Freitas, J.C., 2004. Fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em matrizes suínas, *Ciênc. Rural* 34(3), 847-852.
- Ellis, W.A., 1999. Leptospirosis. In: Leman, A.D. et al. *Diseases of swine*. 7.ed. Iowa: Ames Iowa State University, pp. 483-493.
- Ellis, W.A., Thiermann, A.B., 1986. Isolation of *Leptospira interrogans* serovar bratislava from sows in Iowa. *Am. J. Vet. Res.* 47(7), 1458-1460.
- Faine, S., Adler, B., Bolin, C., Perolat, P., 1999. *Leptospira and leptospirosis*. 2. ed. Melbourne: Australia MediSci, 272pp.

- Favero, A.C.M, Pinheiro, S.R., Vasconcellos, S.A., Morais, Z.M., Ferreira, F., Ferreira Neto, J.S., 2002. Most frequent serovars of leptospire in serological tests of buffaloes, sheeps, goats, horses, swines and dogs from several Brazilian states. *Ciênc. Rural* 32, 613-619.
- Filippsen, L.F., Leite, D.M.G., DA Silva, A., Vargas, G.A., 2001. Prevalência de doenças infecciosas em rebanho de suínos criados ao ar livre na região Sudoeste do Paraná, Brasil. *Ciênc. Rural* 31(2), 299-302.
- Galton, M.M., Sulzer, C.R., Santa Rosa, C.A., Fields, M.J., 1965. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Applied Microbiology* 13, 81-85.
- Girio, R.J.S., Dias, H.L.T., Mathias, L.A., Santana, A.E., Alessi, A.C., 1998. Reproductive, haematologic and anatomopathological disorders in swine females with antibody titres to *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. *Rev Bras. Ciênc. Vet.* 5, 99-103.
- Gummow, B., Myburgh, J.G., Thompson, P.N., Van Der Lugt, J.J., Spencer, B.T., 1999. Three case studies involving *Leptospira interrogans* serovar pomona infection in mixed farming units. *Journal of the South Africa Veterinary Association* 70, 29-34.
- Hosmer, D.W., Lemeshow, S., 1989. *Applied Logistic Regression*. New York: John Wiley & Sons, 241pp.
- Kanavagh, N., 1991. La experiencia irlandesa y la investigación indican que la descarga vulvar y la *L. bratislava* se relacionan. *International Pigg Letter*, v.11, n.4, p.13-14, 1991.
- Langoni, H., Cabral, K. S. M., Jacobi, H., 1995. Inquérito soroepidemiológico para leptospirose suína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 1995, Blumenau, Anais... Blumenau, 153.
- Lima, P.C.R., 1996. Diagnóstico de leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: exames laboratoriais em fêmeas suínas descartadas em frigoríficos e em reprodutores de granjas com

- e sem problemas de reprodução, durante o período de um ano. Arq. Fac. Vet. do Univ. Fed. do Rio Grande do Sul 24(1), 119-121.
- Mailloux, M., 2001. Leptospiroses = Zoonoses. Int. J. Zoonoses 78(12), 1158-1159.
- Naito, M., Sakoda, Y., Kamikawa, T., Nitta, Y., Hirose, K., Sakashita, M., Kurokawa, S., Kida, H., 2007. Serological evidence of leptospiral infection in pig populations in different districts in Japan. Microbiol. Immunol. 51(6), 593-599.
- Oliveira, S.J., Pianta, C., Sitya, J., 1980. Abortos em suínos causados por *Leptospira pomona* no Rio Grande do Sul. Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias 7, 47-49.
- Oliveira, S.J., Lima, P.C.R., Barcellos, D.E.S.N., Borowski, S.M., 1995. Sorologia para diagnóstico de leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: Resultados obtidos de granjas com e sem problemas de reprodução. Pesquisa Agropecuária Gaúcha 1(4), 263-267.
- Piffer, I.A., Perdomo, C.C., Sobestiansky, J., 1998. Efeitos de fatores ambientais na ocorrência de doenças. In: SOBESTIANSKY, J. et al. Suinocultura Intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho. Brasília : Embrapa-SPI, Cap.13. p.257-274.
- Ramos, A.C.F., Souza B.G.N., Lilenbaum, W., 2006. Influence of leptospirosis on reproductive performance of sows in Brazil. Theriogenology 66, 1021-1025.
- Sarazá, M.L., Sánchez-Vazcaíno, J.M., 2002. Mecanismo de infección de lãs enfermedades animales. Porcine, 68, 13-26.
- Soto, F.R.M., Vasconcellos, S.A., Pinheiro S.R., Bernarsi, F., Camargo, S.R., 2007. Leptospirose suína: Uma Revisão. Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo 74(4), 379-395.
- Thrusfield, M.V., 2004. Epidemiologia Veterinária. 2ª ed. São Paulo: ROCA, 556pp.
- Valentina, V., Ebani, D.C., Poli, A., Andreani, E., 2003. Prevalence of *Leptospira* and *Brucella* Antibodies in Wild Boars (*Sus scrofa*) in Tuscany, Italy. J. Wildl. Dis. 39(3), 718-722.
- Van Til, L.D., Dohoo, I.R., 1991. A serological survey of leptospirosis in Prince Edward Island swine herds and its association with infertility. Can. J. Vet. Res. 55, 352-355.

Tabela 1

Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por *Leptospira* spp. em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Variável	N	SAM n (%)	Análise Univariada	
			OR (I.C.95%)	P
Sexo				
Macho	30	4 (13,3)	1,0	0,799
Fêmea	312	51 (16,3)	1,27 (0,41 - 3,79)	
Nº de matrizes (cabeças)				
< 100 animais	113	19 (16,8)	1,0	0,195
Entre 100 e 300	145	18 (12,4)	0,70 (0,33 - 1,50)	
Acima de 300	84	18 (21,4)	1,35 (0,62 - 2,94)	
Realiza vacinação				
Não	113	19 (16,8)	1,0	0,795
Sim	229	36 (15,7)	0,92 (0,49 - 1,80)	
Realiza quarentena				
Não	46	14 (30,4)	1,0	0,004*
Sim	296	41 (13,9)	0,37 (0,18 - 0,75)	
Realiza vazio sanitário				
4 dias	191	30 (15,7)	1,0	0,832
> 5 dias	151	25 (16,6)	1,06 (0,57 - 1,98)	
Bebedouros comuns para jovens e adultos				
Não	275	50 (18,2)	1,0	0,032*
Sim	67	5 (7,5)	0,36 (0,11 ; 0,96)	
Sistema de cobertura				
Monta natural	113	19 (16,8)	1,0	0,194
Inseminação artificial	84	18 (21,4)	1,35 (0,62 ; 2,94)	
Monta + inseminação	145	18 (12,4)	0,70 (0,33 ; 1,50)	
Utiliza sêmen refrigerado				
Não	113	19 (16,8)	1,0	0,795
Sim	229	36 (15,7)	0,92 (0,49 ; 1,80)	
Roedores têm acesso aos comedouros				
Não	156	30 (19,2)	1,0	0,147
Sim	186	25 (13,4)	0,65 (0,35 ; 1,21)	
Roedores têm acesso aos bebedouros				
Não	188	32 (17,0)	1,0	0,601
Sim	154	23 (14,9)	0,86 (0,45 ; 1,59)	

N= Número de animais; Base = 342 suínos; *estatisticamente significante; OR - "Odds ratio" (razão de chances);

IC - Intervalo de confiança de 95%.

Tabela 2

Análise multivariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por *Leptospira* spp. em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Variável independente	OR	IC 95%	P
Quarentena (não vs sim)	5,43	1,79 – 16,41	0,003
Sistema de cobertura			
MN			0,044
MN + IA	1,76	0,62 – 4,95	0,286
IA	3,38	1,18 – 9,66	0,023

MN= Monta natural; IA= Inseminação Artificial; OR - “Odds ratio” (razão de chances); IC - Intervalo de confiança de 95%; * Análise multivariada por meio de regressão logística não-condicional.

Tabela 3

Associação entre a infecção por *Leptospira* spp. e os índices reprodutivos de matrizes suínas, em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Dados reprodutivos	Negativo		Positivo		Total		Valor de p
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	
Número de partos							
1	20	90,9	2	10,1	22	100,0	0,519
Entre 2 e 3	173	84,0	33	16,0	206	100,0	
>3	68	81,0	16	19,0	84	100,0	
Repetição de cio							
Sem repetição	167	88,0	23	12,0	190	100,0	0,011*
1 – 2	94	77,0	28	23,0	122	100,0	
Aborto							
Sem abortos	252	84,0	48	84,0	300	100,0	0,310
1	9	75,0	3	25,0	12	100,0	
Média de nascimento total							
<8	18	94,7	1	5,4	19	100,0	0,309
Entre 8 e 12	200	83,7	39	16,3	239	100,0	
>12	43	79,6	11	20,4	54	100,0	
Média de nascido vivo							
<8	21	91,3	2	8,7	23	100,0	0,546
Entre 8 e 11	180	82,6	38	17,4	218	100,0	
>11	60	84,5	11	15,5	71	100,0	
Natimorto							
Não	94	92,9	4	7,1	98	100,0	<0,001*
Sim	167	78,0	47	22,0	214	100,0	
Mumificado							
Não	180	88,7	23	11,3	203	100,0	<0,001*
Sim	81	74,3	28	25,6	109	100,0	
Média de desmame							
<8	53	75,7	7	24,3	60	100,0	0,497
Entre 8 e 10	169	82,0	37	18,0	206	100,0	
>10	39	84,8	7	15,2	46	100,0	
Média IDE							
<5	2	50,0	2	50,0	4	100,0	0,015*
Entre 5 e 8	166	87,8	23	12,2	189	100,0	
>8	93	78,2	26	21,2	119	100,0	

Convenções: F.A. – Frequência Absoluta; F.R. – Frequência Relativa; *Associação significativa; IDE – Intervalo Desmame-Estro.

5.2 Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em granjas suínolas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil¹

Prevalence and risk factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* on commercial swine farms in the state of Alagoas, Brazil

ABSTRACT: Objectived with this study to determine the prevalence and identify risk factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* in pigs on commercial swine farms in the state of Alagoas, Brazil. To compose the sample size of prevalence 342 pigs were used, with 312 sows and 30 boars, from of seven swine farms and distributed in five districts of the state of Alagoas. The serological examination for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies was achieved by Indirect Immunofluorescence (IFAT), using anti-pig IgG-conjugated to fluorescein isothiocyanate. The analysis of risk factors was performed by the application of questionnaires consisting of objective questions relating to the designer, the general characteristics of the property, the production, reproductive and health management. The prevalence was of 26.9% (92/342) of seropositive pigs. The associated factor was the boars introduction on farms in the last five years ($p = 0.014$, OR = 1.83, CI = 1.13 - 2.96). It is concluded that infection with *Toxoplasma gondii* is widespread in commercial pig farms in the state of Alagoas, Brazil. The results suggest the control of cats population, the performance of cleaning and sanitation practices and laboratory testing to detect of infection by *T. gondii* in animals to be placed on the farms as measures to reduce the infection rates on region studied.

INDEX TERMS: Boars, *Toxoplasma gondii* infection, sows.

RESUMO: Objetivou-se com este estudo calcular a prevalência e identificar os fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil. Para compor a amostra do estudo de prevalência foram utilizados 342 suínos, sendo 312 matrizes e 30 varrões, oriundos de sete granjas de ciclo completo e distribuídas em cinco municípios do Estado de Alagoas. O exame sorológico para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* foi realizado através da técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI), utilizando-se anticorpos anti-IgG-suíno conjugado ao isotiocianato de fluoresceína. A análise dos fatores de risco foi realizada por meio da aplicação de questionários

¹ Artigo formatado no modelo da revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**

constituídos por perguntas objetivas referentes ao criador, às características gerais da propriedade, ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário. Determinou-se uma prevalência de 26,9% (92/342) de suínos soropositivos. O fator associado à infecção foi a introdução de reprodutores nas granjas nos últimos cinco anos ($p = 0,014$; OR = 1,83; IC = 1,13 – 2,96). Concluiu-se que a infecção por *Toxoplasma gondii* encontra-se disseminada em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil. Recomenda-se o controle da população de gatos, a realização de práticas de limpeza e higienização das instalações e realização de testes laboratoriais para diagnóstico da infecção por *T. gondii* nos animais a serem introduzidos no plantel como medidas de redução dos índices de infecção na região estudada.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Varrões, infecção por *Toxoplasma gondii*, matrizes suínas.

INTRODUÇÃO

Os levantamentos sorológicos relacionados à prevalência da toxoplasmose em rebanhos suínos e outras espécies de produção são importantes tanto para determinar a ocorrência da enfermidade no local estudado como para fornecer dados epidemiológicos que auxiliem na prevenção e controle da infecção em humanos e animais (Fialho & Araújo 2003).

A infecção nos suínos por *T. gondii* ocorre por meio da ingestão de água, ração ou outros alimentos contaminados por fezes de felinos que contenham oocistos. Para Giraldo et al. (1996), a ingestão de roedores infectados ou de carne infectada, oferecida na forma de restos alimentares, também são responsáveis pela infecção nesta espécie. A transmissão congênita pode ocorrer através da infecção de fêmeas gestantes que não possuem imunidade prévia contra o agente (Weigel et al. 1995).

Para Vidotto et al. (1987), fêmeas suínas gestantes infectadas experimentalmente apresentaram febre, prostração e anorexia. Porém os principais problemas observados estão relacionados às perdas reprodutivas, como repetição de estro, aumento no número de natimortos, mumificados e abortos.

A idade, o grau de higienização e o sistema de produção foram citados como fatores de risco envolvidos na infecção por *T. gondii* em suínos na Itália (Vilari et al. 2009). O sexo e o sistema de produção foram associados à infecção em suínos no Vietnã (Huong et al. 2007). No Brasil, o grau de tecnificação foi citado como fator associado à infecção no Estado de São Paulo (Oliveira et al. 2007). O sistema de confinamento e o pouco tempo de permanência dos suínos nas granjas reduzem as chances de contato com gatos e roedores, sendo associado à baixa

frequência de soropositivos em suínos abatidos em matadouros de Minas Gerais e São Paulo (Pezerico et al. 2007).

Não existem dados sobre os aspectos soropidemiológicos da infecção por *T. gondii* em granjas suinícolas no Nordeste do Brasil. Sendo assim, objetivou-se com este estudo calcular a prevalência e identificar os fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento utilizou animais criados em granjas suinícolas tecnificadas localizadas no Estado de Alagoas, Brasil. Este Estado encontra-se situado na porção Centro-Oriental do nordeste Brasileiro, pertencente a uma faixa intertropical. Apresenta longos períodos de irradiação solar com variação de 2200 a 2600 horas de sol distribuídas durante o ano. Sendo assim, apresenta temperatura elevada durante a maior parte do ano, com variações ocorrendo entre 22°C e 28°C. O Estado de Alagoas apresenta-se subdividido em três mesorregiões: Leste Alagoano, Agreste Alagoano e Sertão Alagoano (Assis et al. 2007), das quais apenas as duas primeiras foram abordadas na presente pesquisa. Das sete granjas participantes da pesquisa, quatro situavam-se no Leste Alagoano e três no Agreste Alagoano.

O experimento foi realizado entre os meses de janeiro e novembro de 2008. Para compor a amostra do estudo de prevalência considerou-se uma prevalência esperada de 25,5% (Millar et al. 2008) com nível de confiança de 95% e erro estatístico de 5% (Thrusfield 2004), o que determinou uma amostra mínima de 292 animais.

Foram utilizados 342 suínos, sendo 312 matrizes e 30 reprodutores, criados sob condições de tecnificação, oriundos de sete granjas de ciclo completo, distribuídas entre cinco municípios do Estado de Alagoas-Brasil. Os animais eram híbridos, pertencentes a diferentes linhagens genéticas e fornecidos por diferentes empresas que atuam no ramo de melhoramento genético da suinocultura brasileira. As fêmeas eram mantidas sob condições de confinamento total, alojadas em gaiolas, durante a fase de lactação, e em baias coletivas e/ou gaiolas, durante a fase de gestação. Recebiam alimentação balanceada e eram submetidas a manejo de monta natural e/ou inseminação artificial, de acordo com os manejos reprodutivos e sanitários realizados nas diferentes granjas. Da mesma forma, os varrões eram mantidos em baias individuais, sob as mesmas condições de tecnificação disponibilizadas às matrizes.

As amostras de sangue foram colhidas por meio de punção da veia cava cranial e, após centrifugação, as amostras de soro sanguíneo foram acondicionadas em tubos de polipropileno e armazenadas a -20°C , para posterior análise laboratorial. O exame sorológico foi realizado no Laboratório de Doenças Infecciosas da UFRPE, onde, para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, empregou-se a técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI), utilizando-se anticorpos anti-IgG-suíno conjugado ao isotiocianato de fluoresceína. Em todas as reações foram incluídos soros padrões positivo e negativo previamente conhecidos. Foi considerado como reação positiva os soros que apresentaram fluorescência total na diluição 1:64. As amostras de soro dos suínos reagentes foram submetidas a diluições seriadas de razão dois até a obtenção da maior diluição positiva na RIFI. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado positivo (Mainar et al. 1996).

A análise dos fatores de risco foi realizada por meio da aplicação de um questionário investigativo, constituído por perguntas objetivas referentes ao criador, às características gerais da propriedade, ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário.

Para identificar os fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii*, foi realizada análise univariada das variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, quando necessário, com nível de significância adotado de 5%. Posteriormente foi feita uma análise multivariada através do modelo de regressão logística considerando como variável dependente o status sorológico do animal (positivo ou negativo) para *T. gondii*. As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística $<0,20$. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (Hosmer & Lemeshow 1989). O programa SPSS for Windows, versão 12,0 - Statistical Package for the Social Science foi utilizado para a realização dos cálculos estatísticos.

RESULTADOS

Detectou-se uma prevalência de 26,9% (92/342) de suínos soropositivos para a infecção por *Toxoplasma gondii*. Foram observados suínos soropositivos em 85,6% das granjas estudadas, com variação entre 0% e 47,9%. Observou-se maior frequência de matrizes soropositivas (27,6%) contra 20,0% para os varrões, não sendo demonstrada associação significativa entre esse fator e a infecção por esse parasito (Tabela 1).

Maior frequência de soropositivos (33,8%) foi detectada em animais criados em plantéis com número de matrizes variando entre 100 e 300, contra 26,2% de soropositivos nos plantéis com mais de 300 matrizes. A menor frequência de soropositivos (18,6%) foi observada em animais criados em plantéis inferiores a 100 matrizes (Tabela 1). Estes dados também confirmaram uma associação significativa entre o tamanho dos plantéis e o risco de infecção ($p = 0,023$) na análise univariada, sendo, porém, excluído na análise multivariada.

Tabela 1- Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Variável	N	RIFI n (%)	Análise Univariada	
			OR (IC 95%)	P
Sexo				
Macho	30	6 (20,0)	1,0	0,372
Fêmea	312	86 (27,6)	1,52 (0,58 - 4,71)	
Nº de matrizes (cabeças)				
< 100 animais	113	21 (18,6)	1,0	0,023*
Entre 100 e 300	145	49 (33,8)	2,24 (1,20 - 4,24)	
Acima de 300	84	22 (26,2)	1,55 (0,74 - 3,25)	
Realiza quarentena				
Não	46	7 (15,2)	1,0	0,055
Sim	296	85 (28,7)	2,24 (0,95 - 6,17)	
Realiza vazio sanitário (dias)				
4 dias	191	47 (24,6)	1,0	0,282
> 5 dias	151	45 (29,8)	1,30 (0,78 - 2,16)	
Bebedouros comuns para jovens e adultos				
Não	275	78 (28,4)	1,0	0,217
Sim	67	14 (20,1)	0,67 (0,32 ; 1,31)	
Manejo reprodutivo				
Monta natural	113	21 (18,6)	1,0	0,023*
Inseminação artificial	84	22 (26,2)	1,55 (0,74 ; 3,25)	
Monta + inseminação	145	49 (33,8)	2,24 (1,20 ; 4,24)	
Utiliza sêmen refrigerado				
Não	113	21 (18,6)	1,0	0,014*
Sim	229	71 (31,0)	1,97 (1,11 ; 3,60)	
Introduziu reprodutores no rebanho nos últimos 5 anos				
Não	197	43 (21,8)	1,0	0,014*
Sim	145	49 (33,8)	1,83 (1,13 - 2,96)	

OR - "Odds ratio"; IC - Intervalo de confiança de 95%; RIFI - Reação de imunofluorescência

Observou-se maior frequência de soropositivos (33,8%) nos suínos criados em granjas que utilizavam a monta natural (MN) associada à inseminação artificial (IA), contra 26,2% de

soropositivos nos animais manejados apenas com a IA. A menor frequência (18,6%) foi detectada nas granjas que utilizavam apenas a MN. Apesar da associação significativa ($p = 0,023$) detectada na análise univariada, não houve a confirmação desta variável na análise multivariada. Da mesma forma, observou-se maior frequência de positivos (31,0%) em granjas que utilizavam sêmen refrigerado, contra 18,6% de soropositivos nas granjas que não utilizavam. Apesar da associação significativa detectada ($p = 0,014$), esta variável também foi excluída da análise multivariada.

Tabela 2. Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Variável	N	RIFI n (%)	Análise Univariada	
			OR (I.C.95%)	P
Presença de gatos na propriedade				
Não	18	3 (16,7)	1,0	0,419
Sim	324	89 (27,5)	1,89 (0,53 - 6,69)	
Alimentação dos gatos				
Ração	9	0 (0,0)		0,120
Vísceras	333	92 (27,6)	-	
Acesso dos gatos a água fornecida aos animais				
Não	296	85 (28,7)	1,0	0,055
Sim	46	7 (15,2)	0,45 (0,16 - 1,06)	
Acesso dos gatos em depósito ou fábrica de ração				
Não	67	14 (20,9)	1,0	0,217
Sim	275	78 (28,4)	1,50 (0,76 - 3,10)	
Gatos se alimentam de restos placentários				
Não	44	10 (22,7)	1	0,504
Sim	298	82 (27,5)	1,29 (0,59 - 3,06)	

OR - "Odds ratio" (razão de chances); IC - Intervalo de confiança de 95%;

Maior frequência de soropositivos (27,5%) foi observada em suínos criados em granjas que possuíam gatos, contra 16,7% de soropositivos para suínos criados em propriedades que não possuíam gatos. Contudo, não se observou associação significativa entre esta variável e o índice de infecção (Tabela 2). Da mesma forma, o acesso dos gatos aos bebedouros ou comedouros, assim como ao depósito de ração presente nas instalações das granjas e o tipo de alimentação destes felinos, não foram fatores associados à infecção por *T. gondii*.

Tabela 3. Análise multivariada para os fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Variável independente	OR	IC 95%	P
Introdução de reprodutores no rebanho	1,83	1,13 – 2,96	0,014

OR - “Odds ratio” (razão de chances); IC - Intervalo de confiança de 95%; * Análise multivariada por meio de regressão logística não-condicional.

Tabela 4. Associação entre a infecção por *Toxoplasma gondii* e os índices reprodutivos de matrizes suínas, em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Dados reprodutivos	Negativo		Positivo		Total		Valor de p
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	
Número de partos							
1	14	63,6	8	36,4	22	100,0	0,388
Entre 2 e 3	154	74,8	52	25,2	206	100,0	
>3	58	69,0	26	31,0	84	100,0	
Repetição de cio							
Sem repetição	136	71,6	54	28,4	190	100,0	<0,001*
1 – 2	90	73,8	32	26,2	122	100,0	
Aborto							
Sem abortos	218	72,7	82	27,3	300	100,0	0,431
1	8	66,7	4	33,3	12	100,0	
Média de nascimento total							
<8	17	89,5	2	10,5	19	100,0	0,115
Entre 8 e 12	167	69,9	72	30,1	239	100,0	
>12	42	77,8	12	22,2	54	100,0	
Média de nascido vivo							
<8	18	78,3	5	21,7	23	100,0	0,779
Entre 8 e 11	156	71,6	62	28,4	218	100,0	
>11	52	73,2	19	26,8	71	100,0	
Natimorto							
Não	76	77,6	22	22,4	98	100,0	0,171
Sim	150	70,1	64	29,9	214	100,0	
Mumificado							
Não	145	71,4	58	28,6	203	100,0	0,587
Sim	81	74,3	28	25,7	109	100,0	
Média de desmame							
<8	48	80,0	12	20,0	60	100,0	0,152
Entre 8 e 10	142	68,9	64	31,1	206	100,0	
>10	36	78,3	10	21,7	46	100,0	
Média IDE							
<5	2	50,0	2	50,0	4	100,0	0,552
Entre 5 e 8	139	73,5	50	26,5	189	100,0	
>8	85	71,4	34	28,6	119	100,0	

Convenções: F.A. – Frequência Absoluta; F.R. – Frequência Relativa; * Associação significativa

Observou-se maior frequência de suínos soropositivos (33,8%) quando estes eram criados em granjas que realizaram a introdução de varrões no rebanho nos últimos cinco anos, contra 21,8% de soropositivos em granjas que não realizaram este manejo. Estes resultados apresentaram uma associação significativa ($p = 0,014$) na análise multivariada, onde os suínos criados em granjas que realizaram a introdução de varrões têm 1,83 vezes mais chances de se infectarem do que os animais criados em granjas que não introduziram varrões (Tabela 3).

Não se observou associação entre a infecção por *T. gondii* e o desempenho reprodutivo das matrizes participantes desta pesquisa (Tabela 4).

DISCUSSÃO

Este é o primeiro relato sobre os aspectos epidemiológicos da infecção por *Toxoplasma gondii* em matrizes e reprodutores suínos criados em granjas suinícolas tecnificadas na região Nordeste do Brasil.

A prevalência de 26,9% de animais soropositivos observada neste estudo é semelhante a outros estudos realizados em diferentes regiões do Brasil, como os descritos por Garcia et al. (1999) com 24% e Millar et al. (2008) com 25,5%, ambos no Estado do Paraná. Caporali et al. (2005) demonstraram frequências de 0,8% e 4,7% para suínos terminados em granjas de São Paulo e Pernambuco, respectivamente. Oliveira et al. (2007) relataram uma prevalência de 20,11% de soropositivos em suínos criados de forma rústica na microrregião de Registro, também em São Paulo. Fialho & Araújo et al. (2003) detectaram frequência de 33,75% de positivos em suínos abatidos na Grande Porto Alegre.

A variação na frequência de soropositivos entre as granjas (0% a 47,9%) corrobora com o descrito anteriormente por Matos et al. (1999) no Estado de Goiás, que também obtiveram variação entre 8,33% e 60% nas 40 granjas avaliadas. Da mesma forma, Gamble et al. (1999) detectaram frequência de soropositivos variando de 4% a 100% em 85 granjas de cinco Estados dos EUA. Esta variação pode ocorrer principalmente pela variedade de fatores de risco presentes entre regiões ou em granjas de uma mesma região (Suaréz-Aranda et al. 2003, Caporali et al. 2005). Outros fatores também podem favorecer a variação destes resultados, como a presença de felinos e roedores nas propriedades (Dubey et al. 1995), a raça ou a genética dos suínos (Garcia et al. 1999), o tipo de teste diagnóstico utilizado e o título mínimo a ser considerado como positivo (Caporali et al. 2005), assim como a categoria de animais avaliados (Huong 2007), o manejo sanitário e sistema de produção utilizado (Vilari et al. 2009).

Os dados epidemiológicos obtidos nesse estudo são importantes e auxiliam nas ações de prevenção e controle da infecção por *T.gondii* na população estudada. O alto índice de animais e rebanhos positivos assume importância na saúde do consumidor, pois a toxoplasmose é uma zoonose de impacto mundial e a infecção nos humanos também pode ocorrer pelo consumo de carne crua ou mal cozida (Caporali et al. 2005). Para Dubey (2008), a falta de medidas que direcionem a redução dos riscos de infecção humana está na ausência de testes diagnósticos individuais nos suínos abatidos para o consumo, principalmente em animais oriundos de áreas endêmicas.

O maior risco de infecção associado à introdução de reprodutores de reposição nos plantéis (OR = 1,83) é um aspecto epidemiológico importante relacionado à infecção. Os animais podem ter sido infectados ainda nas granjas multiplicadoras que comercializam animais de alta genética. Outro fator que pode ser considerado é a falha na realização do manejo de quarentena, pois na avaliação dos questionários epidemiológicos realizados nas granjas observou-se que nenhuma delas utilizava a sorologia como método diagnóstico preventivo de doenças antes da introdução de animais adquiridos nos plantéis. Isto pode ter influenciado sobre a maior frequência de soropositivos (28,7%) em suínos criados em granjas que realizavam este manejo.

A participação destes reprodutores como disseminadores do *T. gondii* através da MN ou da IA nos plantéis estudados merece estudos mais aprofundados. Pesquisas sobre este tema ainda não confirmaram a transmissão venérea ou via sêmen do agente para as matrizes suínas apesar de sua detecção no sêmen ou trato genital de varrões. Moura et al. (2007) demonstraram o isolamento do *T. gondii* no sêmen de varrões infectados experimentalmente com oocistos por via oral por períodos de até 56 dias após a infecção, assim como a detecção do agente no trato genital (epidídimo e glândula vesicular), sugerindo a possibilidade de transmissão venérea.

Apesar da ausência de associação significativa entre a presença de gatos nas instalações e a infecção dos suínos participantes deste estudo, os questionários epidemiológicos revelaram que 94,7% das matrizes e reprodutores eram criados em propriedades com presença de gatos, sugerindo uma participação destes animais na infecção dos suínos. Em algumas granjas era visível a presença de grande número de felinos nas instalações, inclusive consumindo restos placentários. Para Hill & Dubey (2002), os gatos podem eliminar milhões de oocistos pelas fezes após a ingestão de apenas um bradizoíto contido em cisto tecidual de um animal infectado. A grande maioria das pesquisas considera que os oocistos presentes nas fezes destes felinos sejam os responsáveis pela contaminação da água, ração e instalações, constituindo-se

em importantes disseminadores do agente nos rebanhos suínolas (Assadi-Rad et al. 1995, Dubey et al. 1995 Weigell et al. 1995, Lehmann et al. 2003).

Diante da observação da presença dos gatos nas granjas devem ser estimuladas medidas de controle da toxoplasmose suína, principalmente no que se refere à circulação de felinos nas fábricas de ração, monitoramento da água oferecida aos animais, além da limpeza e desinfecção das baias, comedouros e bebedouros. Outro fato importante é a correta realização da quarentena e de testes de diagnóstico para doenças de destaque na suinocultura, incluindo nesse protocolo a toxoplasmose.

A maior frequência de soropositivos nos plantéis com mais de 300 matrizes pode ter sido influenciada por fatores relacionados à maior exigência de tecnificação das granjas. Para Vidotto et al. (1990), estas granjas, na busca por redução de custos, possuem fábricas de ração em suas instalações, o que favorece o maior acúmulo de grãos e cereais em depósitos. Dessa forma, possuem maiores atrativos para roedores e felinos, reservatórios do *T.gondii*. Porém, alguns autores associam o número reduzido de animais no plantel ao baixo nível de tecnificação das granjas e às falhas no manejo sanitário, indicando-os como facilitadores da infecção. Vilari et al. (2009) observaram maior índice de infecção em granjas com menos de 50 animais, contra as que possuíam mais de 50 suínos (OR = 6,8). Assadi-Rad et al. (1995) também observaram maior chance de infecção (OR = 4,5) em granjas com menos de 29 matrizes no plantel.

Possivelmente o estado imunológico das matrizes participantes da pesquisa, estimulado por um contato prévio com o *T. gondii*, tenha favorecido a ausência de associação entre a infecção e a ocorrência de falhas reprodutivas. A grande maioria das matrizes (92,9%) apresentava mais de dois partos, o que significa uma permanência mínima de um ano nas instalações das granjas, computando-se o período entre a introdução no plantel, as duas gestações e lactações que juntamente com os intervalos para novas inseminações promoveram maior chance de contato com o agente. Para Dubey et al. (1990), as perdas fetais promovidas pela transmissão congênita podem ocorrer através da infecção de fêmeas gestantes que não possuem imunidade prévia contra o agente. A baixa ingestão de oocistos também pode estar relacionada à ausência de sintomas reprodutivos. Para Moura et al. (2004), a ausência de alterações clínicas e espermáticas em varrões infectados experimentalmente esteve relacionada às baixas doses dos inóculos ($1,0 \times 10^6$ taquizoítos via subcutânea e $1,5 \times 10^4$ oocistos via oral) que foram administrados aos reprodutores.

O momento da infecção das matrizes que dificilmente pode ser diagnosticado em pesquisas de campo pode ter favorecido a ausência de sintomas reprodutivos nas matrizes avaliadas. A maioria das infecções por *T. gondii* nos suínos são subclínicas, com a infecção transplacentária sendo menos comum que a pós-natal. Para Dubey et al. (1990), a ocorrência de fetos mortos e mumificados em duas matrizes infectadas experimentalmente com ração contendo $1,0 \times 10^3$ oocistos do *T. gondii* ocorreu devido à presença do *T. gondii* no trofoblasto que produziu áreas de necrose no corioalantóide e favoreceu a ocorrência de focos de descolamento placentário. Os efeitos reprodutivos promovidos pela infecção ocorreram principalmente devido à presença do agente nas fases iniciais do desenvolvimento fetal.

A frequência de 33,3% (4/12) de matrizes soropositivas apresentando abortos pode ser considerada alta e merece atenção. Embora os abortos sejam pouco frequentes, podem ocorrer em porcas infectadas durante a gestação (Dubey 1986). Para Kim et al. (2009), a infecção por *T.gondii* promoveu um surto de aborto em matrizes suínas em granjas da ilha de Jeju na China. A grande maioria dos abortos foi observada na fase inicial da gestação, ocorrendo entre três e cinco dias após a apresentação de sinais clínicos, como febre, anorexia, vômito e prostração.

Diante do exposto, recomenda-se a realização de monitorias sanitárias nas granjas avaliadas quanto à presença de *T. gondii* nos fetos abortados. Para que isso ocorra com sucesso, é importante a logística envolvida na coleta do material para envio aos laboratórios credenciados que realizem o diagnóstico por meio de técnicas de imunohistoquímica, molecular e isolamento, possibilitando a identificação do agente.

Conclui-se que a infecção por *Toxoplasma gondii* encontra-se disseminada nos rebanhos suínos nas granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil. Indica-se o controle da população de gatos, a realização de práticas de limpeza e higienização das instalações e realização de testes laboratoriais que comprovem a ausência da infecção por *T. gondii* nos animais a serem introduzidos no plantel, como medidas para reduzir o índice de infecção nas granjas estudadas.

REFERÊNCIAS

- Assadi-rad A.M., New J.C. & Patton S. 1995. Risk factors associated with transmission of *Toxoplasma gondii* to sows kept in different management systems in Tennessee. *Veterinary Parasitology* 57: 289-297.
- Assis J.S., Alves A.L. & Nascimento M.C. 2007. Atlas Escolar Alagoas: Espaço Geohistórico e Cultural. Grafset João Pessoa. 208p.

- Caporali E.H.G., Silva A.V., Mendonça A.O. & LANGONI H. 2005. Comparação de métodos para determinação da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos dos Estados de São Paulo e Pernambuco - Brasil. Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia 8(1):19-24.
- Dubey J.P. 1986. A review of toxoplasmosis in pigs. Veterinary Parasitology 19:181-223.
- Dubey, J.P. 2008. The history of *Toxoplasma gondii*-the first 100 years. J. Eukaryot. Microbiol. 55(6):467-475.
- Dubey J.P., Schlfer D.H., Urban J.F.Jr. & Lindsday D.S. 1990. Lesions in fetal pigs with transplacentally-induced toxoplasmosis. Vet. Pathol. 27(6):411-418.
- Dubey, J.P., Weigel, R.M., Seigel, A.M., Kitron, U.D., Mannelli, A. 1995. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. Journal of Parasitology, 81(5):736-741.
- Fialho C.G. & Araújo F.A.P. 2003. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da Grande Porto Alegre-RS, Brasil. Ciênc. Rural 33(5):893-897.
- Gamble H.R., Brady R.C. & Dubey J.P. 1999. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in the New England states. Veterinary Parasitology 82:129-136.
- Garcia J.L., Navarro I.T., Ogawa, L. & Oliveira R.C. 1999. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do Norte do Paraná-Brasil. Ciênc. Rural 29(1):91-97.
- Giraldi N., Freire R.L., Navarro I.T., Viotti N.M.A., Bueno S.G. & Vidotto O. 1996. Estudo da toxoplasmose congênita natural em granjas de suínos em Londrina, PR. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 48:83-90.
- Hill, D., Dubey, J. P. 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. Clinical Microbiology and Infection 8(10):634-640.
- Hosner D.W. & Lemeshow S. 1989. Applied Logistic Regression. John Wiley & Sons, New York. 241p.
- Huong L.T. & Dubey J.P. 2007. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs from Vietnam. J. Parasitol. 93(4):951-952.
- Kim J., Kang K., Kang W., Sohn H., Jean Y., Park B.K., Kim Y. & Kim D. 2009. Porcine abortion outbreak associated with *Toxoplasma gondii* in Jeju Island, Korea. J. Vet. Sci. 10(2):147-151.

- Lehmann, T., Graham, D.H., Dahl, E., Sreekumar, C., Launer, F., Corn, J.L., Gamble, H.R., 2003. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infect. Genet. Evol.* 3: 135–141.
- Mainar R.C., De La Cruz, C., Asensio A., Domínguez L., Vázquez-Boland J.A. 1996. Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* in small ruminants of the Madrid Region, Spain, and identification of factors influencing seropositivity by multivariate analysis. *Veterinary Research Communications.* 20(2):153-159.
- Matos M.P.C., Miguel M., Moura V.M.B.D., Sobestiansky J. & Brito L.A.B. 1999. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia. *A Hora Veterinária* 109:9-11.
- Millar P.R., Dagher H., Vicente R.T., Costa T., Sobreiro L.G. & Amendoeira M.R.R. 2008. *Toxoplasma gondii*: estudo soro-epidemiológico de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. *Pesq. Vet. Bras.* 28(1):15-18.
- Moura A.B., Costa A.J., Filho S.J., Paim B.B., Pinto F.R. & Di Mauro D.C. 2007. *Toxoplasma gondii* in sêmen of experimentally infected swine. *Pesq. Vet. Bras.* 27(10): 430-434.
- Moura A.B., Filho S.J., Di Mauro D.C., Paim B.B., Pinto F.R. & Costa A.J. 2004. Avaliação dos parâmetros seminais de cachacos (*Sus scrofa*) experimentalmente infectados com *Toxoplasma gondii*. *Ciênc. Agrárias* 25(2):107-116.
- Oliveira K.R., Domingues P.F., Langoni H., Silva R.C. & Gottschalk S. 2007. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de suínos criados sob condições rústicas na microrregião de Registro – SP, pelo método de aglutinação direta (MAD). *Vet. Zootec.* 14(2):169-175.
- Pezerico, G.B., Pezerico, S.B., Silva, R.C., Hoffmann, J.F, Camargo, L.B., Langoni, H. 2007. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira spp.* em suínos abatidos em três abatedouros dos Estados de Minas Gerais e São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico* 74(3): 267:270.
- Suarez-Aranda F., Galisteu A.J., Hiramoto R.M., Cardoso R.P., Meireles L.R., Miguel O. & Andrade H.F.Jr. 2000. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Veterinary Parasitology* v. 91(1-2):23-32.
- Thrusfield, M.V. 2004. *Epidemiologia Veterinária*. 2ª ed. ROCA São Paulo, 556p.
- Tovi L., Grahama D.H., Dahl E., Sreekumar C., Launer F., Corn J.L., Gamble H.R. & Dubey, J.P. 2003. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infection. Genetics and Evolution* 3:135–141.

- Vidotto O., Costa A.J., Balarin M.R.S. & Rocha M.A. 1987. Toxoplasmose experimental em porcas gestantes. I. Observações clínicas e hematológicas. Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec. 39(34):623-639.
- Vidotto O., Navarro I.T., Giraldo N., Mitsuka R. & Freire R.L. 1990. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina, PR. Semina 11(1):53-59.
- Villari S., Vesgo G., Petersen E., Cispo A. & Buffolano W. 2009. Risk factors for toxoplasmosis in pigs bred in Sicily, Southern Italy. Veterinary Parasitology 161(1-2):1-8.
- Weigel R.M., Dubey J.P., Seigel A.M., Kitron U.D., Mitchell M.A., Mannelli A., Matheus-Pinilla N.E., Shen S.K., Kwok O.C.H. & Todd K.S. 1995. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. J. Parasitol. 81(5):736-741.

5.3 Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Chlamydophila abortus* em granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil¹

Prevalence and risk factors associated with infection by *Chlamydophila abortus* in commercial pig farms in the state of Alagoas, Brazil

RESUMO: Objetivou-se com este estudo calcular a prevalência e identificar os fatores de risco associados à infecção por *Chlamydophila abortus* em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil. Para compor a amostra do estudo foram utilizados 342 suínos, sendo 312 matrizes e 30 varrões oriundos de sete granjas de ciclo completo e distribuídas em cinco municípios do Estado de Alagoas. O diagnóstico sorológico da infecção por *C. abortus* foi realizado através da microtécnica de Fixação do Complemento (RFC). A análise dos fatores de risco foi realizada por meio da aplicação de questionários investigativos, constituídos por perguntas objetivas referentes ao criador, às características gerais da propriedade, ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário. Observou-se prevalência de 10,5% (36/342) de suínos soropositivos para a infecção por *Chlamydophila abortus*, com 85,8% das granjas analisadas com animais positivos. As variáveis que demonstraram associação significativa foram: utilização de bebedouros comuns para jovens e adultos ($p = 0,024$; OR = 10,83; IC = 1,36 – 86,03) e método de cobertura de monta natural associada à inseminação artificial ($p = 0,05$; OR = 7,62; IC = 1,00 – 58,31). Relata-se a primeira ocorrência de anticorpos anti-*C. abortus* em suínos no Brasil. Fatores como a introdução de reprodutores nos plantéis e a forma de fornecimento de água foram evidenciados como facilitadores da infecção das matrizes neste estudo. Dessa forma,

¹ Artigo formatado no modelo da **Preventive Veterinary Medicine**

medidas de controle da infecção devem ser enfocadas nesse aspecto para evitar a disseminação do agente nas granjas suínolas e em outros plantéis da região.

Palavras chave: Clamidofilose; Prevalência; Reação de Fixação de Complemento

ABSTRACT: Objectived with this study to determine the prevalence and identify risk factors associated with *Chlamydophila abortus* infection in commercial swine farms on the state of Alagoas, Brazil. To compose the study sample 342 pigs were used, with 312 sows and 30 boars from seven swine farms and distributed in five districts of the Alagoas. The serological diagnosis of infection by *C. abortus* was performed by fixation of complement microtechnique (RFC). The analysis of risk factors was performed by the application of research questionnaires, consisting of objective questions relating to the designer, the general characteristics of the property, the production, reproductive and health management. Observed a prevalence of 10.5% (36/342) of pigs seropositive for infection by *Chlamydophila abortus* with 85.8% of farms with positive animals analyzed. The variables that showed significant association were use of common drinker for young and adults pigs ($p = 0.024$, OR = 10.83, CI = 1.36 - 86.03) and associated the natural mount with artificial insemination ($p = 0.05$, OR = 7.62, CI = 1.00 - 58.31). This work report the first occurrence of anti-*C. abortus* in pigs in Brazil. Factors as the introduction of boars in herds and the form of water supply were seen as facilitators of infection on sows in this study. Thus measures of infection control should be focused on this aspect to prevent the spread of the agent in pig farms and other herds in the region.

1. Introdução

O impacto da infecção por microrganismos da família *Chlamydiaceae* sobre o desempenho reprodutivo em rebanhos suínos ainda gera muita controvérsia. Isto se deve ao fato da ausência de justificativas que expliquem a detecção de elevadas prevalências em plantéis suínos, associadas, muitas vezes, à ausência de sintomatologia clínica nos animais infectados, além dos poucos dados que caracterizem a infecção aguda causada por esse agente (Camenish et al., 2004).

A infecção por bactérias da família *Chlamydiaceae* em matrizes suínas tem sido associada a uma variedade de falhas reprodutivas, como aumento no número de fetos mumificados, abortos, mortalidade neonatal, endometrites e descargas vulvares (Thoma et al., 1997; Enggemann et al., 2000; Kauffold et al., 2006). Para alguns autores, a infecção e a evolução da doença nos rebanhos ocorre por meio do contato com fetos abortados, restos placentários e secreções do parto em animais de qualquer idade, assim como pode ocorrer através de via venérea e do sêmen (Teankun et al., 2006).

Estudos sobre a prevalência deste agente em rebanhos suínos têm sido realizados principalmente em plantéis suínos na Europa. Haris et al. (1976) observaram prevalência de 16,3% em rebanhos na Escócia. Enggemann et al. (2000) determinaram a prevalência de 33% soropositivos em 1493 matrizes na Alemanha e Camenish et al. (2004) observaram 61,7% de positivos em matrizes na Suíça.

Não existem relatos sobre a ocorrência da infecção por bactérias da família *Chlamydiaceae* em rebanhos suínos no Brasil. Sendo assim, objetivou-se com este estudo calcular a prevalência e identificar os fatores de risco associados à infecção por *Chlamydia abortus* em suínos criados em granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil.

2. Material e Métodos

2.1. Local de realização da pesquisa

Para esse estudo foram utilizados animais criados em granjas suinícolas tecnificadas, localizadas no Estado de Alagoas- Brasil. Este Estado encontra-se situado na porção Centro-Oriental do Nordeste brasileiro, pertencente a uma faixa intertropical onde se observam longos períodos de irradiação solar, com variação de 2200 a 2600 horas de sol distribuídas durante o ano. Sendo assim, apresentam temperaturas elevadas durante a maior parte do ano, com variações ocorrendo entre 22°C e 28°C. O Estado de Alagoas apresenta-se subdividido em três mesorregiões: Leste Alagoano, Agreste Alagoano e Sertão Alagoano (Assis et al., 2007). Apenas as duas primeiras foram abordadas na presente pesquisa e das sete granjas participantes, quatro situavam-se no Leste Alagoano e três no Agreste Alagoano.

2.2. Amostragem

O experimento foi realizado entre os meses de janeiro e novembro de 2008. Para compor a amostra para o estudo, considerou-se uma prevalência esperada de 30% obtida através da média de trabalhos publicados mundialmente, com nível de confiança de 95% e erro estatístico de 5% (Thrusfield, 2004), o que determinou uma amostra mínima de 323 animais.

Foram utilizados 342 suínos, sendo 312 matrizes e 30 reprodutores (varrões), criados sob condições de tecnificação, oriundos de sete granjas de ciclo completo distribuídas entre cinco municípios do estado de Alagoas. Estes suínos, distribuídos entre matrizes e reprodutores, eram híbridos, pertencentes a diferentes genéticas e fornecidos por diferentes empresas que atuavam no ramo de melhoramento genético da suinocultura brasileira. As fêmeas eram mantidas sob condições de confinamento total, alojadas em gaiolas, durante a fase de lactação e em baias coletivas e/ou gaiolas, durante a fase de gestação. Recebiam

alimentação balanceada, e eram submetidas a manejo de monta natural e/ou inseminação artificial. Da mesma forma, os varrões eram mantidos em baias individuais, sob as mesmas condições de tecnificação disponibilizadas às matrizes.

2.3. Análise sorológica

Foram obtidas amostras de soro sanguíneo de matrizes e reprodutores suínos por meio de punção da veia cava cranial e, após centrifugação, as amostras de soro sanguíneo foram mantidas em tubos de polipropileno e acondicionadas a -20°C para posterior análise laboratorial.

A pesquisa de anticorpos anti-*Chlamydophila abortus* foi realizada no Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo. Utilizou-se a microtécnica de Fixação do Complemento (RFC), segundo Donn et al. (1997). A reação foi realizada em microplacas utilizando-se soro teste nas diluições de 1:16 a 1:512, antígeno *C. abortus* cepa S26/3 na diluição 1:50 e o complemento na diluição correspondente a duas unidades fixadoras de complemento. Após incubação a 37°C por 30 minutos, adicionou-se o sistema hemolítico, incubou-se por mais 30 min e, após esse período, as microplacas foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 min. para posterior leitura visual. Como controle positivo foi utilizado soro bovino positivo cedido pelo Instituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova-Itália e como controle negativo, soro fetal bovino. A leitura foi realizada considerando-se a formação de um botão de hemácias como reação positiva e a presença de hemólise considerada como negativa. O título de anticorpos foi considerado como a recíproca da maior diluição de soro apresentando 50% de fixação do complemento. Amostras com título igual ou superior a 32 foram consideradas positivas e com título igual ou superior a 16 foram consideradas suspeitas.

2.4. Estudo dos fatores de risco

A análise dos fatores de risco foi realizada por meio da aplicação de questionários investigativos, constituídos por perguntas objetivas referentes ao criador, às características gerais da propriedade, ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário.

Para identificar os fatores de risco associados à infecção por *Chlamydophila abortus*, foi realizada uma análise univariada das variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário, com nível de significância adotado de 5%. Posteriormente, foi feita uma análise multivariada através do modelo de regressão logística, considerando como variável dependente o status sorológico do animal (positivo ou negativo) para *Chlamydophila abortus*. As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística $<0,20$. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (Hosmer e Lemeshow, 1989). O programa SPSS for Windows, versão 12,0 - Statistical Package for the Social Science, foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

3. Resultados

Observou-se uma prevalência de 10,5% (36/342) de suínos soropositivos para *Chlamydophila abortus*, com animais reagentes em 85,8% das granjas analisadas (6/7). Observou-se, ainda, pequena variação nas frequências de soropositivos de acordo com o sexo, com 10,25% (32/312) para matrizes e 13,3% (4/30) para varrões.

Maior frequência de soropositivos (19,4%) foi detectada nas granjas que utilizavam bebedouro de acesso comum aos leitões e matrizes, contra 8,4% para propriedades que utilizavam bebedouros individuais (Tabela 1). Nesse caso, observou-se associação significativa ($p = 0,008$) confirmada na análise multivariada, demonstrando que os animais

criados em propriedades onde os bebedouros são comuns para jovens e adultos têm 10,83 vezes mais chances de infectar-se com a *Chlamydophila abortus* (Tabela 2).

Observou-se maior frequência de positivos (14,5%) em animais criados sob manejo de cobertura de monta natural (MN) associado à inseminação artificial (IA), contra 12,4% de soropositivos para suínos manejados apenas com a MN e 1,2% para animais submetidos apenas à IA (Tabela 1). Este efeito também foi confirmado na análise multivariada, demonstrando que os animais manejados com a associação entre a MN e a IA têm 7,6 vezes mais chance de se infectarem com a *Chlamydophila abortus*, em relação aos suínos manejados apenas com a MN (Tabela 2).

Conforme a Tabela 1, os suínos criados em granjas com plantel entre 100 e 300 matrizes tiveram maior frequência de positivos (14,5%), contra 12,4% nos suínos criados em plantéis com menos de 100 matrizes, determinando uma associação significativa para este fator na análise univariada. Contudo, esta variável foi excluída na análise multivariada, pois como as variáveis (Nº de matrizes e Método de cobertura) foram iguais, no modelo de regressão foi incluída apenas a variável (Método de cobertura). Esse procedimento foi utilizado para evitar problemas de colinearidade.

A frequência de suínos positivos foi maior (11,8%) nos animais criados em granjas que realizam o manejo de quarentena na introdução de matrizes e reprodutores para reposição do plantel, contra 2,2% observado nas propriedades que não utilizavam este manejo profilático, contudo não se observou associação significativa. Da mesma forma, observou-se ausência de associação significativa entre o índice de infecção dos animais e a realização do manejo de vazio sanitário, assim como na utilização de sêmen refrigerado (Tabela 1).

Como observado na Tabela 3, maior frequência de soropositivos (22,7%) foi detectada em matrizes primíparas, contra 11,9% de soropositivas nas fêmeas com mais de três partos e

8,3% nas matrizes que apresentavam entre dois e três partos (Tabela 3). Maior frequência de soropositivas (16,7%) foi observada nas fêmeas com tamanho de leitegadas superiores a 12 leitões (total de nascidos/por parto), contra 9,2% das matrizes com número de nascidos totais entre oito e doze leitões por parto. Observou-se também menor frequência (5,3%) para matrizes que pariram leitegadas inferiores a oito leitões por parto. Da mesma forma, não se detectou associação sobre a ocorrência de abortos, repetição de estro, natimortos, mumificados, média de desmame e intervalo entre a desmama e o estro.

4. Discussão

A prevalência de 10,5% (36/342) de suínos soropositivos com 85,6% das granjas apresentando ao menos um animal infectado é semelhante à relatada por Haris (1976), em suínos criados na Escócia. É inferior quando comparada às descritas por Enggemann et al. (2000), em matrizes na Alemanha (33%), por Camenish et al. (2004), em matrizes na Suíça (61,7%) e por Kauffold et al. (2006), em varrões na Alemanha (36,9%). A disseminação da infecção por este agente nas granjas na região estudada corrobora com o descrito por Vanrompay et al. (2004), que determinaram prevalência de 96,5% de granjas com pelo menos um animal infectado em plantéis na Bélgica.

Ressalta-se que este estudo é pioneiro no Brasil, destacando a infecção por esta bactéria em granjas suinícolas. A presença de anticorpos anti-*C. abortus* em suínos nas granjas estudadas alerta para a circulação dessa bactéria nessas criações estudadas. No Brasil, ainda são escassos os estudos abordando a participação de agentes infecciosos na reprodução de suínos. Dessa forma, os resultados obtidos devem estimular a realização de outras pesquisas para elucidar sobre a participação desta bactéria em falhas reprodutivas nos suínos. Para tal, é necessário coletar amostras de placenta e fetos para pesquisa de *C. abortus* associada a casos isolados ou surtos de aborto nas granjas positivas para o agente.

As informações epidemiológicas obtidas nesse estudo devem auxiliar na elaboração de estratégias de prevenção e controle da infecção nos rebanhos brasileiros, pois existem relatos dos prejuízos ocasionados pela infecção por bactérias da família *Chlamydiaceae* em rebanhos na Europa, associados à ocorrência de repetição de cio (Camenish et al., 2004) e abortos (Thoma et al., 1997) em matrizes na Suíça, assim como a ocorrência de Mastite Metrite Agalaxia (MMA), redução no tamanho das leitegadas e no número de leitões desmamados por porca na Alemanha (Enggemann et al., 2000). Os relatos da participação de *C. abortus* como agente causador de distúrbios reprodutivos, como o aborto espontâneo em mulheres infectadas (Longbottom e Coulter, 2003), eleva o grau de importância que deve ser atribuída às pesquisas direcionadas à participação da infecção nos suínos como fonte de infecção para humanos.

As condições de confinamento total em que os suínos eram criados com as matrizes alojadas em gaiolas ou em baias individuais de maternidade, associados ao manejo de limpeza e higienização presentes neste setor, podem ter contribuído para a baixa prevalência observada nesse estudo. A infecção por *C. abortus* ocorre por meio do contato com fetos abortados, restos placentários e secreções do parto em animais de qualquer idade (Longbottom e Coulter, 2003; Longbottom, 2004). Dessa forma, este tipo de instalação individualizada não favorece a ingestão de restos placentários que, de acordo com Wendt et al. (1998), é a principal fonte de infecção para suínos susceptíveis.

A maior prevalência de soropositivos criados em granjas onde leitões e matrizes utilizavam o mesmo bebedouro pode estar relacionada às falhas no manejo sanitário e às instalações encontradas nessas granjas. A *C. abortus* tem facilidade de replicação no tecido placentário de matrizes infectadas (Wendt et al., 1998) e os restos placentários ou secreções do parto nas baias de parição destas granjas pode contaminar a água de bebida dos animais jovens e adultos que utilizam bebedouros em comum. Outro fator que merece comentário é

o contato (focinho-focinho) dos leitões com animais das gaiolas vizinhas, que é um comportamento comum observado nas granjas com este tipo de instalação de maternidade. Após o contato com restos do parto, os animais podem atuar como veiculadores do agente para os leitões de gaiolas vizinhas e facilitar a disseminação do agente no ambiente das gaiolas de parição. Para Enggemann et al. (2000), o elevado índice de prevalência em granjas na Alemanha (33,3%) que chegaram a atingir até 72,7% em algumas delas estava associada às falhas no manejo sanitário e instalações precárias em que os suínos eram criados.

A prevalência de 13,3% (4/30) para varrões soropositivos pode revelar algumas informações epidemiológicas importantes. Todos os machos positivos eram utilizados em plantéis com utilização exclusiva de monta natural e este fato pode ter influenciado sobre a baixa frequência de matrizes soropositivas (1,2%) detectada nas granjas que utilizavam a IA. Pouco se sabe sobre a prevalência e a epidemiologia das bactérias da família *Chlamydiaceae* em varrões. Estudos demonstraram a detecção da *Chlamydia spp.* no trato genital e sêmen de reprodutores desta espécie (Sarma et al., 1983). Contudo, apesar da observação em varrões utilizados em IA na Alemanha, os autores alertaram para a possibilidade da contaminação do ejaculado ocorrer durante a coleta e manipulação do sêmen, pois estes agentes foram considerados como habitantes da flora natural do intestino dos suínos (Nietfeld et al., 1997). Ainda não se conhece sobre a participação dos varrões na infecção de matrizes suínas, contudo nesse estudo a IA se mostrou como fator de proteção para a infecção das fêmeas. Ainda para Teankum et al. (2006), a detecção de *C. suis* e *C. psittaci* em 15 das 71 amostras de sêmen de reprodutores suínos criados em granjas na Suíça e Alemanha, indica a possibilidade da transmissão venérea deste agente para as matrizes durante a MN ou através da IA. Porém, alertam para a necessidade de mais pesquisas para detalhar a epidemiologia deste agente em reprodutores suínos.

Apesar de não ter sido selecionada para a análise multivariada devido ao efeito de colinearidade com a variável método de cobertura, a maior frequência de soropositivos em granjas com plantéis entre 100 e 300 matrizes sugere que nos maiores rebanhos infectados um maior número da bactéria esteja sendo eliminada no ambiente, que, associados às falhas no manejo de higiene e sanidade nestas granjas (Enggemann et al., 2000), podem favorecer uma maior disseminação do agente. Para Pollman et al. (2005), a existência de um grande número de animais infectados, porém assintomáticos, favorece o surgimento de reservatórios da *Chlamydia spp.* Estes suínos encontram-se eliminando o agente no ambiente por meio das placentas, fetos mortos e mumificados, o que favorece a presença constante das bactérias nas instalações e aumenta o risco de infecção dos animais do plantel.

A maior frequência de soropositivos em granjas que realizavam o manejo de quarentena pode indicar que estejam ocorrendo falhas na realização deste manejo profilático nas granjas. Existe a possibilidade dos animais recebidos para a reposição do plantel nas granjas já virem infectados. Porém, tanto pela ausência da prática de diagnóstico da *C. abortus* no ato do recebimento dos animais nas granjas como a não realização dos mesmos pelas empresas de genética que comercializam os reprodutores e leitoas de reposição, torna-se difícil a determinação da origem da infecção.

Apesar da ausência de associação entre a infecção das matrizes e a ocorrência de abortos demonstrada nesta pesquisa, para Wendt et al. (1998), a *C. abortus* tem facilidade de multiplicação no tecido placentário e foi associada à ocorrência de leitões nascidos fracos, pneumonia e aborto em leitegadas provenientes de porcas infectadas. Em pesquisa realizada por Thoma et al. (1997), foram observados abortos associados à *Chlamydia psittaci sorovar - I* em 3,6% dos 136 casos de aborto observados em cinco granjas suínolas na Suíça. Contudo, uma das dificuldades de se relacionar a presença da clamídia como agente causador de abortos em matrizes suínas é justificada pelo fato desta bactéria ter tropismo por epitélios

coriônicos, demonstrado em abortos nas ovelhas e, experimentalmente, em porcas. Desta forma, a rápida deterioração observada em tecidos placentários e fetais após a ocorrência de abortos em granjas, dificulta a utilização desse material biológico para a realização de testes imunohistoquímicos e histopatológicos para diagnosticar o agente envolvido (Vasques-Cisneros et al., 1994).

A presença de fêmeas soropositivas que apresentaram repetição de cio (9,8%) pode indicar a presença deste agente nos ovários e útero, favorecendo a ocorrência deste evento. Kauffold et al. (2006) detectaram, em 19 de 42 fêmeas descartadas por repetição de estro em granjas da Alemanha, a presença de diferentes sorovares de *Chlamydia* (*C. psittaci*, *C. trachomatis* e *C. abortus*) em porções da ampola, ístimo, junção útero-tubárica e útero, através da técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Camenish et al. (2004) também detectaram *C. abortus* em 33,3% das amostras de swab vaginal de 193 matrizes que apresentaram retorno ao estro. Enggemann et al. (2000) observaram uma correlação positiva entre o grau de infecção do rebanho com a apresentação de MMA, repetição de cio e leitões doentes, assim como diminuição do número de leitões nascidos por parto e desmamados por fêmea. Esses achados necessitam ser melhor investigados nos rebanhos positivos para *C. abortus* na região estudada.

Diante da confirmação da infecção por *C. abortus* em rebanhos suínos no Estado de Alagoas, torna-se necessária a intensificação de pesquisas que auxiliem na determinação da distribuição do agente nas demais regiões do país e a participação dessa bactéria em falhas reprodutivas na espécie suína no Brasil.

5. Conclusão

Este é o primeiro relato da ocorrência de anticorpos anti-*C. abortus* em suínos no Brasil. Fatores como a introdução de reprodutores nos plantéis e a forma de fornecimento de

água foram identificados como facilitadores da infecção das matrizes neste estudo. Dessa forma, medidas de controle da infecção devem ser enfocadas nesse aspecto para evitar a disseminação do agente nas granjas suínolas e em outros plantéis da região.

Referências

Assis J.S., Alves A.L. & Nascimento M.C. 2007. Atlas Escolar Alagoas: Espaço Geohistórico e Cultural. Grafset João Pessoa. 208p.

Beaty, W.L., Morrison, R.P., Byrne, G.I., 1994. Persistent chlamydiae: from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. *Microbiological Reviews* 58(4), 686-689.

Camenish, U., LU, Z.H., Vaughan, L., Corboz, L., Zimmermann, D.R., Wittenbrink, M.M., Pospischil, A., Sydler, T., 2004. Diagnostic investigation into the role of Chlamydiae in cases of increased rates of return to oestrus in pigs. *Vet. Rec.* 155, 593-596.

Donn, A., Carneletto, P., Chiaracane, G., Ladu, M., Machell, J., Mandola, M.I.; Ruiu, A., Stancanelli, A., Turilli, C., 1997. Standardizzazione della tecnica di fissazione del complemento per la dimostrazione di anticorpi anti-Chlamydia nel siero di sangue. *II Progresso Veterinario* 4, 125-128.

Enggemann, G., Wendt, M., Hoelzle, L.E., Jager, C., Weiss, R., Failing, K., 2000. Prevalence of Chlamydia infection in breeding sows in their importance on reproductive failure. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 107, 3-10.

Haris, J.W., 1976. Chlamydial antibodies in pigs in Scotland. *Vet. Rec.* 98, 505-506.

Hosner D.W. & Lemeshow S. 1989. *Applied Logistic Regression*. John Wiley & Sons, New York. 241p.

- Kauffold, J., Melzer, F., Berndt, A., Hoffmann, G., Hotzel, H., Sachse, K., 2006. Chlamydia in oviducts and uteri of repeat breeder pigs. *Theriogenology* 66, 1816-1823.
- Longbotton, D., 2004. Chlamydial infections of domestics ruminants and swines: new nomenclature and new knowledge. *Veterinary Journal* 168, 9-11.
- Longbotton, D., Coulter, L.J., 2003. Animal chlamydioses and zoonotics implications. *Journal of Comparative Phatology* 128, 217-244.
- Nietfeld, J.C., Leslie Stean, p., Zeman, D.H., Nelson, D., 1997. Prevalence of intestinal chlamydial infection in pigs in the Midwest, as determined by immunoperoxidase staining. *Am. J. Vet. Res.* 58, 260-264.
- Pollmann, M., Nordhoff, M., Pospischil, A., Tedin, K., Wieler, L.H., 2005. Effects of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on the rate of natural Chlamydia infection in swine. *Infect. Immun.* 73, 4346-4353.
- Sarma, D.K., Tamuli, M.K., Rahman, T., Boro, B.R., Deka, B.C., Rajkonwar, C.K., 1983. Isolation of chlamydia from a pig with lesions in the urethra and prostate gland. *Vet. Rec.* 112, 525.
- Teankum, K.; Pospishil, A.; Janett, F.; Bürgi, E., Brugnera, E., Hoelzle, K. Polkinghorne, A., Weilenmann, R., Zimmermann, D.R., Borel, N., 2006. Detection of chlamydiae in boar semen and genital tracts. *Vet. Microbiol.* 116, 149-157.
- Thoma, R.; Guscetti, F.; Schiller, I.; Schmeer, N., Corboz, L. Pospischil, A., 1997. Chlamydiae in porcine abortion. *Vet. Pathol.* 34, 467-469.
- Thrusfield, M.V. 2004. *Epidemiologia Veterinária*. 2ª ed. ROCA São Paulo, 556p.

- Varompay, D., Gueens, T., Desplanques, A., Hoang, T.Q., 2004. Immunoblotting, ELIZA and culture evidence for *Chlamydiaceae* in sows on 258 Belgian farms. *Vet. Microbiol.* 99, 59-66.
- Vasques-Cisneros, C., Wilsmore, A.J., Bollo, XX, 1994. E. Experimental infections of pregnant sows with ovine *Chlamydia psittaci* strains. *Vet. Microbiol.* 42, 383-387.
- Vesnick, Z., Svecova, D., Pospisil, L., Diblikova, I.M., 1996. Detection of chlamydial in animal and human semen using direct immunofluorescence. *Vet. Med.* 41, 201-206.
- Wendt, M., Eggemann, G., Wittenbrink, M., Jager, M., Weib, C., Failing, K., 1998. Prevalence of Chlamydial infection in breeding sows. In. Proceedings of the 15th IPVS Congress, Birmingham, England. 437-450.

Tabela 1

Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por *Chlamydophila abortus* em matrizes e reprodutores criados em granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Variável	N	RFC n (%)	Análise Univariada	
			OR (IC.95%)	P
Nº de matrizes (cabeças)				
< 100 animais	113	14 (12,4)	1,0	0,005*
Entre 100 e 300	145	21 (14,5)	1,20 (0,55 - 2,69)	
Acima de 300	84	1 (1,2)	0,09 (0,00 - 0,59)	
Realiza quarentena				
Não	46	1 (2,2)	1,0	0,066
Sim	296	35 (11,8)	6,03 (0,81 - 45,16)	
Realiza vazão sanitário (dias)				
4 dias	191	20 (10,5)	1,0	0,970
>5dias	151	16 (10,6)	1,01 (0,47 - 2,15)	
Bebedouros comuns para jovens e adultos				
Não	275	23 (8,4)	1,0	0,008*
Sim	67	13 (19,4)	2,64 (1,15 - 5,82)	
Método de cobertura				
Monta natural	113	14 (12,4)	1,0	0,004*
Inseminação artificial	84	1 (1,2)	0,09 (0,00 - 0,59)	
Monta + inseminação	145	21 (14,5)	1,20 (0,55 - 2,69)	
Utiliza sêmen refrigerado				
Não	113	14 (12,4)	1,0	0,430
Sim	229	22 (9,6)	0,75 (0,35 - 1,66)	

Base = 342 suínos; *estatisticamente significante

Tabela 2

Análise multivariada para os fatores de risco associados ou não à infecção por *Chlamydophila abortus* em suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas, 2008

Variável independente	OR	IC 95%	P
Bebedouro comuns para jovens e adultos			
(sim vs não)	10,83	1,36 – 86,03	0,024
Método de cobertura			
MN + IA	7,62	1,00 – 58,31	0,050
IA	0,54	0,03 – 8,87	0,668

OR - “Odds ratio” (razão de chances); IC - Intervalo de confiança de 95%;

* Análise multivariada por meio de regressão logística não-condicional.

Tabela 3

Associação entre dados reprodutivos e infecção por *Chlamydomphila abortus* em matrizes criadas em granjas suinícolas tecnificadas no Estado de Alagoas, Brasil

Dados reprodutivos	Negativo		Positivo		Total		Valor de p
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	
Número de partos							
1	17	77,3	5	22,7	22	100,0	0,087
Entre 2 e 3	189	91,7	17	8,3	206	100,0	
>3	74	88,1	10	11,9	84	100,0	
Repetição de cio							
Sem repetição	170	89,5	20	10,5	190	100,0	0,844
1 – 2	110	90,2	12	9,8	122	100,0	
Aborto							
Sem aborto	269	89,7	31	10,3	300	100,0	0,646
1	11	91,7	1	8,3	12	100,0	
Média de nascimento total							
<8	18	94,7	1	5,3	19	100,0	0,200
Entre 8 e 12	217	90,8	22	9,2	239	100,0	
>12	45	83,3	9	16,7	54	100,0	
Média de nascido vivo							
<8	21	95,5	2	4,5	22	100,0	0,739
Entre 8 e 11	197	90,4	21	9,6	218	100,0	
>11	62	87,3	9	12,7	71	100,0	
Natimorto							
Não	89	90,8	9	9,2	98	100,0	0,673
Sim	191	89,3	23	10,7	214	100,0	
Mumificado							
Não	182	89,7	21	10,3	203	100,0	0,944
Sim	98	89,9	11	10,1	109	100,0	
Média de desmame							
<8	52	86,7	8	13,3	60	100,0	0,645
Entre 8 e 10	187	90,8	19	9,2	206	100,0	
>10	41	89,1	5	10,9	46	100,0	
Média IDE							
<5	4	100,0	-	-	4	100,0	0,523
Entre 5 e 8	167	88,4	22	11,6	189	100,0	
>8	109	91,6	10	8,4	119	100,0	

Convenções: F.A. – Frequência Absoluta; F.R. – Frequência Relativa; *Associação significativa

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ Os resultados obtidos nos inquéritos soropidemiológicos indicam que os suínos de granjas tecnificadas no Estado de Alagoas estão expostos à infecção por *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Chlamydophila abortus*. Estes agentes encontram-se disseminados nas granjas estudadas, contudo ainda não se conhece os efeitos na reprodução dos animais nessas regiões. Medidas de controle e prevenção devem ser instituídas objetivando a melhoria do desempenho produtivo dos plantéis;

- ✓ Os fatores de risco identificados como facilitadores da infecção por *Leptospira* spp., *T. gondii* e *C. abortus* neste estudo são pontuais, incentivando a realização de outros estudos para um melhor esclarecimento dos aspectos epidemiológicos observados nesse estudo;

- ✓ Novos estudos devem ser realizados objetivando identificar a associação entre as falhas reprodutivas e a infecção por estes agentes visando a melhoria do desempenho reprodutivo dos rebanhos suínolas no Estado de Alagoas.

ANEXO

Questionário Investigativo Fatores de Risco Associados ao Desempenho Reprodutivo em Granjas Suinícolas do Estado de Alagoas

Nome da propriedade:

Proprietário:

Telefone:

Município:

Data:

7) Tempo de atuação nesta atividade?

a) < 1 ano

b) Entre 1 e 2 anos

c) Entre 2 e 3 anos

d) Entre 3 e 5 anos

e) Acima de 5 anos

Dados do Proprietário:

1) Idade:

2) Estado civil:

a) Solteiro

b) Casado

c) Separado

d) Viúvo

e) Concubinato

8) Algum funcionário ou parentes já desenvolveram doenças relacionadas aos animais?

a) Sim

b) Não

3) Escolaridade

a) Analfabeto

b) Ensino fundamental incompleto

c) Ensino fundamental completo

d) Ensino médio incompleto

e) Ensino médio completo

f) Ensino superior incompleto

g) Superior

h) Profissionalizante

Dados gerais da Propriedade

1) Número de matrizes do rebanho: ____

2) Número total de animais: ____

3) Genética/Raça dos animais: _____

4) A propriedade possui energia elétrica?

a) Sim

b) Não

4) Já Realizou cursos ou treinamentos em suinocultura?

a) Sim

b) Não

5) Qual o sistema de criação utilizado?

a) Intensivo

b) Extensivo

c) Semi-intensivo

5) Participa de alguma associação?

a) Sim

b) Não

6) Qual a origem da água fornecida aos animais?

a) Parada

b) Corrente

c) Parada + corrente

6) Esta é sua atividade principal?

a) Sim

b) Não

7) Qual a alimentação dos animais?

a) Ração

b) Subprodutos (_____)

c) Subprodutos + ração

d) Resíduos de Restaurantes

- 8) Existe criação de outras espécies na propriedade?
- Não
 - sim
- 9) Dispõe de serviço veterinário?
- Não
 - Esporadicamente/quando precisa
 - Mensalmente
 - Semestralmente
 - Anualmente
- 10) Empregados da propriedade?
- Familiares
 - Contratados
- Manejo Sanitário**
- 1) Realiza vermifugação?
- Não
 - Sim
- 2) Realiza vacinação?
- Não
 - Sim
- 3) Qual o tipo de bebedouros?
- Chupeta
 - Cocho individual
 - Cocho coletivo
 - Direto do reservatório
- 4) Os bebedouros são comuns para jovens e adultos?
- Sim
 - Não
- 5) Qual o tipo de comedouro?
- Individual
 - Coletivo
 - Individual+coletivo
- 6) Os comedouros são comuns para jovens e adultos?
- Sim
 - Não
- 7) Qual a taxa de reposição do plantel?
- 5%
 - 10%
 - 20%
 - 30%
 - Mais de 30%
- 8) Qual a origem dos animais de reposição?
- Própria granja
 - Propriedades vizinhas
 - Outros municípios
 - Outros Estados
 - Feiras ou exposições
- 9) Quando importa animais realiza quarentena?
- Não
 - 1 semana
 - 15 dias
 - 30 dias
 - acima de 30 dias
- 10) Na aquisição de animais realiza exames?
- Sim
 - Não
- 11) Realiza limpeza das instalações?
- Não
 - Diariamente
 - Semanalmente
 - Mensalmente
 - Anualmente
- 12) Desinfeta as instalações?
- Não
 - Caiação
 - Vassoura de fogo
 - Produtos químicos
- 13) Realiza vazão sanitário?
- Não
 - 1 dia
 - 2 dias
 - 3 dias
 - 4 dias
 - Mais de 5 dias
- 14) Utiliza esterqueira?
- Sim
 - Não

15)Qual o destino das fezes?

- a) Comercialização
- b) Utilização na própria propriedade

16)Existe contaminação com fezes nos alimentos fornecidos aos animais?

- a) Sim
- b) Não

17)Qual a taxa de mortalidade no plantel?

- a) Não sabe
- b) Abaixo de 10%
- c) Entre 10,1 e 20%
- d) Entre 20,1 e 50%
- e) Acima de 50%

18)Existem animais com sintomas reprodutivos?

- a) Sim
- b) Não

19)Ocorrem abortos?

- a) não
- b)sim

20)Qual o destino dos animais que apresentaram estes distúrbios?

- a) Abate
- b) Comércio
- c) Ainda estão na propriedade

21)Os animais suspeitos de doenças permanecem juntos ao restante do plantel?

- a) Sim
- b) Não

22)Os tratadores que lidam com estes animais, cuidam do restante do plantel?

- a) Sim
- b) Não

MANEJO REPRODUTIVO

1) Qual o tipo de manejo reprodutivo do rebanho?

- a) Monta natural
- b) Inseminação artificial
- c) Os dois métodos

2) Utiliza sêmen refrigerado?

- a) Sim
- b) Não

3) Utiliza animais de outra propriedade?

- a) Sim
- b) Não

4) Disponibiliza seus reprodutores para outras propriedades?

- a) Sim
- b) Não

5) Comercializa sêmen para outras granjas?

- a) Sim
- b) Não

6) Houve casos de aborto na propriedade?

- a) Não
- b) Entre 1 a 10 casos
- c) Entre 11 a 20 casos
- d) Acima de 20 casos

7) Qual o período de ocorrência dos abortos?

- a) 1/3
- b) 2/3
- c) 3/3

8)Qual o destino dos produtos do aborto?

- a) Consumido por outros animais
- b) Queimado
- c) Enterrado
- d) Descartados no ambiente
- e) Outros

9)Qual o destino dos restos placentários?

- a) Consumido por outros animais
- b) Queimado
- c) Enterrado
- d) Jogado no ambiente
- e) Outros

10) Introduziu matrizes no rebanho nos últimos 5 anos?

- a) Sim
- b) Não

11) Introduziu reprodutores no rebanho nos últimos 5 anos?

- a) Sim
- b) Não

12) Os leitões consomem colostro?

- a) Sim
- b) Não

DADOS SOBRE A PRESENÇA DE FELINOS CANINOS E ROEDORES NA PROPRIEDADE

1) Quantos gatos domésticos existem na propriedade?

2) Existe a circulação de cães e gatos na propriedade?

- a) Sim
- b) Não

3) Há circulação de animais silvestres?

- a) Sim
- b) Não

4) Qual a alimentação dos gatos?

- a) Ração
- b) Vísceras de animais abatidos

5) Os gatos têm acesso à água consumida pelo plantel?

- a) Sim
- b) Não

6) Existe fábrica ou depósito de ração na propriedade?

- a) Sim
- b) Não

7) Os gatos transitam nestas instalações?

- a) Sim
- b) Não

8) Os gatos se alimentam de restos placentários?

- a) Sim
- b) Não

9) Há cães na propriedade?

- a) Sim
- b) Não

10) Quantos cães?

11) Os cães transitam na fábrica ou depósito de ração?

- a) Sim
- b) Não

12) Existe a circulação de roedores nas instalações?

- a) Sim
- b) Não

13) Realiza-se controle estratégico da presença de roedores nas instalações?

- a) Sim
- b) Não



INSTRUCTIONS TO AUTHORS

- Objective and editorial policy
- Presentation of manuscripts

ISSN 0100-736X *print*
version

ISSN 1678-5150 *online*
version

Objective and editorial policy

Pesquisa Veterinária Brasileira is aimed to publish the results of original research in order to contribute to the support of animal health, which most depends on the knowledge about veterinary prophylaxis and control.

Published monthly, **PVB** publishes original works and review articles in the field of veterinary pathology in its general sense, mainly relating to diseases of economic significance and of interest to public health.

Although the journal does not accept short communications in the form of scientific notes, there is no minimum limit of pages for a submitted work. However, it should present enough information about the experiments or the methodology used in the study.

Three copies of the work written in Portuguese or in English should be sent to the editor at the address below, together with a diskette (preferably prepared in MS-Word 7.0). All works should present the results of research which were not published and are not being considered for publication by other journal.

Although the concepts and opinions expressed in the works are responsibility of the authors, the editor, with the assistance of the Advisory board, reserves the right to suggest or request all necessary or recommendable changes.

Presentation of manuscripts

1. Works should be arranged, if possible, in the following order: Title, Abstracts (both in English and Portuguese), Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusions (or combinations of these last three items), Acknowledgements, and References.

a) Article's **title** should be concise, and point the work's content out;

b) **Abstracts** both in English and in Portuguese should be presented using active voice in the past. Abstracts should point out what was done and studied, as well as the most important results and conclusions. Indexing terms should be added at the final of each abstract. Authors should refer to the most recent issue of the journal to observe examples of abstracts.

c) The **introduction** should be brief, quote specific bibliographical citation (this should not assume the main importance of the item), and conclude with the work's objective.

d) **Material and Methods** should present all necessary data for other researchers to reproduce the work.

e) **Results** should concisely present all assembled data. Tables should only be prepared with relevant data, presenting averages of several repetitions, if appropriate. In some cases, it is suitable to express complex data through graphics, instead of presenting them in extensive tables.

f) In the **discussion**, the results should be discussed in relation to the literature. It is not recommended to mention works in progress or future plans, in order to avoid any author's and journal's obligation to publish them.

g) **Conclusions** should only be based on the results presented in the work.

h) **Acknowledgements** should be succinct, and should not appear in the text nor in footnotes.

i) The **reference** list, which should only include the bibliography cited in the

work and the one that has served as secondary data sources, should be arranged in alphabetical order according to the surname of the first author. All author names and the title of each publication should be recorded. The title of the journal or work should also be cited in full or abbreviated, according to the rules of the Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (Brazilian Association for Technical Standards), *Style Manual for Biological Journals* (American Institute for Biological Sciences) and / or *Bibliographic Guide for Editors and Authors* (American Chemical Society, Washington, D.C.).

2. The preparation of the text should comply with the following rules:

a) all works should be typed double-spaced in only one side of the paper with margins of at least 2,5 centimetres; tables should be presented at the final of the work in separate sheets, using paper A4, if necessary; all pages should be consecutively numbered and ordered in text, captions, tables and figures;

b) the text should be the most concise possible, preferably using an impersonal language and the past tense; footnotes should be numbered consecutively in superscript Arabic numerals; footnotes should appear at the bottom of their respective pages; all tables and figures should be mentioned in the text, preferably by their identification number and following this numerical order; the abstracts should appear in a single paragraph, and should not quote bibliographical references;

c) author's professional address should appear as a footnote in the first page of the work;

d) all acronyms and abbreviations should appear within parentheses following their full names the first time they are mentioned in the text;

e) bibliographical citations should follow the form "author and year"; for works with two authors, both author names should be cited; for works with three or more authors, only the first name should be cited and followed by "et al." and the year; for works with same authors and year, a lower-case letter should be

added to the year in order to differentiate them; all cited works should appear in full in the reference list, including those which have served as secondary data sources; however, secondary sources should not be cited in the text; this should be stated at the final of the reference list in the following form: "(Cited by Author 19..)"; the secondary sources should be cited only once in the reference list; personal communications and other unpublished data should be preferably cited within parentheses in the text, citing their titles and authors; the comma should not be used between author and year; the semicolon should not be used after the year; examples: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b, Perreau et al. 1968, Hanson 1971);

f) reference list should be prepared with a minimum of punctuation, and without using capital letters; scientific names should be underlined, following the journal's style (please see the most recent issue), including the citation order of the bibliographical elements.

3. **Figures** (graphics, drawings, maps or photographs) should be presented in a bigger size (about 150%) to allow reductions. Use lettering or signals of sufficient size to be legible after reduction, when appropriate. No part should be typed. Magnification should be preferably indicated in the figure area; a title at the top of the figure should be avoided. Drawings should be made in black ink on white paper; do not use squared paper. Using a soft pencil, each figure should be identified at the margin or on the back with the author's name, the figure number and an arrow pointing to the top. Photographs should be presented in black and white glossy prints, and should not be mounted. Coloured slides should also be presented. Only in the case colour is essential for the complete understanding of the figures, their printing will be in colour. Do not use paper clips or staples; send figures in an envelope instead.

4. Figure's descriptive captions should contain sufficient information to make them understandable. Captions should be presented in separate sheets, beginning with the title of the work.

5. **Tables** should be understandable without reference to the text. Each table

should have a complete title. Vertical rules should not be used in tables; instead, two long lines should be used, one above and the other below the column headings; between these two lines, other shorter lines can be used to group columns. Footnotes should be indicated in alphabetical letters, restarting from *a* each new table. Footnotes should appear just below the respective table, separated by a short line at the left.

Preventive Veterinary Medicine

An International Journal on Research and Development in Veterinary Epidemiology, Animal Disease Prevention and Control, and Animal Health Economics



ISSN: 0167-5877

Imprint: ELSEVIER

Actions

Statistics

Impact Factor: 1.506

Issues per year: 20

Guide for Authors

An International Journal on Research and Development in Veterinary Epidemiology, Animal Disease Prevention and Control, and Animal Health Economics

Types of contribution

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Short communications
4. Letters to the Editor
5. Book reviews

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form. *Review articles* should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest.

A *Short Communication* is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than 6 printed pages (about 12 manuscript pages, including figures, tables and references).

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editor-in-Chief. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Book reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old. Book Reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted.

Submission of manuscripts

Submission to *Preventive Veterinary Medicine* now proceeds online via Elsevier Editorial System - <http://ees.elsevier.com/prevet>. Authors will be guided step-by-step through uploading files directly from their computers. Authors should select a set of classifications for their papers from a given list, as well as a category designation (Original Research Paper, Short Communication, and so on). Electronic PDF proofs will be automatically generated from uploaded files, and used for subsequent reviewing.

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Authors submitting hard copy papers will be asked to resubmit using Elsevier Editorial System.

Submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by the journal, the author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher. This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Conflict of interest

At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding.

Role of the funding source

All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Ethics

Circumstances relating to animal experimentation must meet the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals as issued by the Council for the International Organizations of Medical Sciences. They are obtainable from: Executive Secretary C.I.O.M.S., c/o WHO, Via Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland, or at the following URL: http://www.cioms.ch/frame_1985_texts_of_guidelines.htm.

Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of *Preventive Veterinary Medicine*.

Preparation of manuscripts

1. Manuscripts should be written in English. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission.

Language Editing: Authors Home provides details of some companies who can provide English language and copyediting services to authors who need assistance *before* they submit their article or *before* it is accepted for publication. Authors should contact these services directly. For more information about language editing services, please email authorsupport@elsevier.com.

Please note that Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our terms & conditions <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

2. Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

3. Manuscripts in general should be organized in the following order:

Title (should be clear, descriptive and not too long)

Name(s) of author(s)

Complete postal address(es) of affiliations

Full telephone, Fax No. and e-mail address of the corresponding author

Present address(es) of author(s) if applicable

Complete correspondence address including e-mail address to which the proofs should be sent

Abstract

Keywords (indexing terms), normally 3-6 items. Please refer to last index (Vol. 50/3-4).

Introduction

Material studied, area descriptions, methods, techniques

Results

Discussion

Conclusion

Acknowledgments and any additional information concerning research grants, etc.

References

Tables

Figure captions
 Tables (separate file(s))
 Figures (separate file(s)).

4. Titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use lower-case letter type.
5. SI units should be used.
6. Elsevier reserves the privilege of returning to the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide.

Before submitting a manuscript to the journal, authors should read the Appendix at the end of this Guide, which provides details on the minimum items of information which an article should contain to allow proper evaluation of its Methods by the journal's referees/Editors. Manuscripts lacking this information will be returned to authors prior to refereeing.

Abstracts

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.
2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.
3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.
4. Each table should occupy a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.
5. Each table should have a brief and self-explanatory title.
6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.
7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.
8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Illustrations

1. All illustrations (line drawings and photographs) should be submitted as separate files, preferably in TIFF or EPS format.
2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration.
3. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.
4. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible. Any lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.

5. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.
6. Each illustration should have a caption. The captions to all illustrations should be typed on a separate sheet of the manuscript.
7. Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the illustrations should be kept to a minimum.
8. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity.
9. If you submit usable colour figures, Elsevier would ensure that these figures appeared free-of-charge in colour in the electronic version of your accepted paper, regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. Colour illustrations can only be included in print if the additional cost of reproduction is contributed by the author: you would receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.
Please note that because of technical complications which may arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version, should you not opt for colour in print), you should submit in addition usable black and white figures corresponding to all colour illustrations.
10. Advice on the preparation of illustrations can be found at the following URL:
☞ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

Preparation of supplementary data

Elsevier now accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect: ☞ <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file.

References

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.
2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed – if necessary – by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that..." "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp.12–16)".
3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.
4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according publication dates – publications of the same author with one co-author – publications of the author

with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1974a, 1974b, etc.

5. Use the following system for arranging your references:

a. *For periodicals*

Dohoo, I.R., Ruegg, P.L., 1993. Herd level measures of health and productivity in Prince Edward Island dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 16, 241–254.

b. *For edited symposia, special issues, etc. published in a periodical*

Weatherley, A.J., Hong, C., Harris, T.J., Smith, D.G., Hammet, N.C., 1993. Persistent efficacy of doramectin against experimental nematode infections in calves. In: Vercruyse, J. (Ed.), *Doramectin – a novel avermectin*. *Vet. Parasitol.* 49, 45–50.

c. *For books*

Blaha, T. (Ed.), 1989. *Applied Veterinary Epidemiology*. Elsevier, Amsterdam.

d. *For multi-author books*

Wilson, M.B., Nakane, P.K., 1978. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp, W., Holubar, K., Wick, G. (Eds.), *Immunofluorescence and Related Staining Techniques*. North Holland, Amsterdam, pp. 215–224.

6. Abbreviate the titles of periodicals mentioned in the list of references in accordance with BIOSIS Serial Sources, published annually by BIOSIS. The correct abbreviation for this journal is: *Prev. Vet. Med.*

7. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and annotation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

8. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

9. References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

10. Web references may be given. As a minimum, the full URL is necessary. Any further information, such as Author names, dates, reference to a source publication and so on, should also be given.

11. Articles available online but without volume and page numbers may be referred to by means of their Digital Object identifier (DOI) code.

Formulae

1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.

2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.

3. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

4. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often more conveniently denoted by exp.

5. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca^{2+} , not as Ca^{++} .

6. Isotope numbers should precede the symbols, e.g. ^{18}O .

7. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full.

Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P_2O_5).

Footnotes

1. Footnotes should only be used if absolutely essential. In most cases it should be possible to incorporate the information in normal text.
2. If used, they should be numbered in the text, indicated by superscript numbers, and kept as short as possible.

Nomenclature

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.
2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
4. For chemical nomenclature, the conventions of the *International Union of Pure and Applied Chemistry* and the official recommendations of the *IUPAC–IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature* should be followed.

Copyright

If excerpts from other copyrighted works are included, the Author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by Authors in these cases: contact Elsevier's Rights Department, Oxford, UK: phone (+1) 215 239 3804 or +44(0)1865 843830, fax +44(0)1865 853333, e-mail healthpermissions@elsevier.com. Requests may also be completed online via the Elsevier homepage <http://www.elsevier.com/permissions>.

Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.

Authors Rights

As an author you (or your employer or institution) may do the following:

- make copies (print or electronic) of the article for your own personal use, including for your own classroom teaching use
- make copies and distribute such copies (including through e-mail) of the article to research colleagues, for the personal use by such colleagues (but not commercially or systematically, e.g., via an e-mail list or list server)
- post a pre-print version of the article on Internet websites including electronic pre-print servers, and to retain indefinitely such version on such servers or sites
- post a revised personal version of the final text of the article (to reflect changes made in the peer review and editing process) on your personal or institutional website or server, with a link to the journal homepage (on elsevier.com)
- present the article at a meeting or conference and to distribute copies of the article to the delegates attending such a meeting
- for your employer, if the article is a 'work for hire', made within the scope of your employment, your employer may use all or part of the information in the article for

other intra-company use (e.g., training)

- retain patent and trademark rights and rights to any processes or procedure described in the article
- include the article in full or in part in a thesis or dissertation (provided that this is not to be published commercially)
- use the article or any part thereof in a printed compilation of your works, such as collected writings or lecture notes (subsequent to publication of your article in the journal)
- prepare other derivative works, to extend the article into book-length form, or to otherwise re-use portions or excerpts in other works, with full acknowledgement of its original publication in the journal

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from

<http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site:

<http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

Author Services

Questions arising after acceptance of the manuscript, especially those relating to proofs,

should be directed to Elsevier Ireland, Elsevier House, Brookvale Plaza, East Park, Shannon, Co. Clare, Ireland, Tel.: (+353) 61 709600, Fax: (+353) 61 709111/113, Email: authorsupport@elsevier.com.

Authors can also keep a track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track your accepted article" option on the journal's homepage (<http://www.elsevier.com/locate/prevetmed>). For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the Publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author.

Preventive Veterinary Medicine has no page charges

Appendix

These minimum items of information are needed by our referees and Editors to evaluate your paper's methods. Additional information will be appropriate, depending on the topic and objectives of your paper.

1. For ALL descriptive and comparative studies:

- a. Source of subjects
- b. Eligibility criteria
- c. Sample-size justification
- d. Methods by which the data were acquired
- e. Diagnostic sensitivity and specificity of any tests used. (Analytic sensitivity and reproducibility might be appropriate alternatives for some studies.)
- f. Descriptions of the observed data (including measures of subject-level variation). (These descriptions should include time, place, "demographics," and relevant management and health information.)
- g. Declaration of the experimental unit
- h. Descriptions of the formal random mechanism (e.g., lottery or table of random numbers) and the list frame (enumerating every eligible subject) used at any step claimed to be "random"
- i. Descriptions of the pilot, repeatability, and validation testing of any questionnaire used to acquire data for the study. Also needed are: the language of the survey instrument, the time it took to complete, how it was administered, the types of questions (i.e., closed, semi-closed, open), and the training of any persons administering the survey. Making a copy available to the review process is desirable (in English as well as the language of administration, if possible).

2. For comparative studies (including both observational and intervention studies):

- a. Numerical descriptions of all tested risk factors or pre-intervention characteristics of the subjects, stratified on the primary hypothesis of the study
- b. Descriptions of how blindness was accomplished for all subjective evaluations

3. For intervention studies:

- a. Approval by your institution's animal-welfare committee
- b. Methods by which the owners of the animals gave informed consent for their animals to be in the trial
- c. Methods used for allocation concealment when the animals were determined to be eligible, and for allocation concealment at random assignment to the various experimental or control groups
- d. Description and justification of the "control" group's "treatment" (e.g., standard therapy, placebo to mimic the delivery system in the absence of a standard therapy, or "do nothing" to mimic both the treatment and its delivery)
- e. Methods used for active monitoring for adverse effects

4. For **simulation studies and risk assessments:**

- a. Distinction between deterministic and stochastic processes
- b. Descriptions of (and justifications for) all choices of distributions and their parameter values
- c. Description of numbers, training, experience, and representativeness of any "experts" used to provide opinions
- d. Declaration of the stakeholders for any risk assessment
- e. Distinction between assumptions, input data, calculations from intermediate steps in the modeling process, and model predictions
- f. Descriptions of the assumed chance variation and assumed knowledge uncertainty in the inputs, and methods used to deal with those sources of total uncertainty
- g. Sensitivity analyses of key assumptions and of the input variables that had the greatest uncertainty
- h. Descriptions of the variability in the "outputs" from stochastic models

5. For **statistical-hypothesis tests:**

- a. Declarations of the unit of statistical analysis and of the dependent ("outcome") variable
- b. Alpha and tails, and any methods used to adjust for multiple comparisons (to protect experiment-wise alpha)
- c. Methods used to adjust for clustering within the data
- d. Methods used to determine that the statistical assumptions were met (e.g., that the data were Gaussian or that the odds ratio or hazards ratio was constant across the range of the risk factor)
- e. Methods used to look for collinearities or other interrelationships among the risk factors being tested
- f. Methods used to select or to retain risk factors within multivariable models (including the test criterion)
- g. Clear declaration of any variables "forced into" the model (not allowed to drop out; implies a need to account for that factor) or offered to the model on a priori grounds despite any screening results (implies that the factor was part of a major hypothesis)
- h. Description of the goodness-of-fit of any model.