

**FRANCISCO RAFAEL MARTINS SOTO**

**IMUNIDADE ATIVA E PASSIVA EM SUÍNOS VACINADOS CONTRA A  
LEPTOSPIROSE. EMPREGO DE VACINA EXPERIMENTAL DE  
SUBUNIDADE E DUAS BACTERINAS COMERCIAIS DE BACTÉRIAS  
COMPLETAS**

**SÃO PAULO**

**2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FRANCISCO RAFAEL MARTINS SOTO

**Imunidade ativa e passiva em suínos vacinados contra a leptospirose. Emprego de vacina experimental de subunidade e duas bacterinas comerciais de bactérias completas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

**Departamento:**

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

**Área de Concentração:**

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

**Orientador:**

Prof. Dr. Silvio Arruda Vasconcellos

**Co-orientadora:**

Prof. Dra. Sônia Regina Pinheiro

SÃO PAULO

2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1775  
FMVZ

Soto, Francisco Rafael Martins

Imunidade ativa e passiva em suínos vacinados contra a leptospirose. Emprego de vacina experimental de subunidade e duas bacterinas comerciais de bactérias completas / Francisco Rafael Martins Soto. – São Paulo: F. R. M. Soto, 2006.

114 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2006.

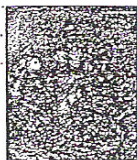
Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Sílvio Arruda Vasconcellos.

Co-orientadora: Profa. Dra. Sônia Regina Pinheiro.

1. Leptospirose animal. 2. Imunidade ativa. 3. Imunidade passiva. 4. Vacinas. 5. Suínos. I. Título.




UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

*Comissão Bioética*  
**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto intitulado "Desenvolvimento de vacina de subunidade para a profilaxia de leptospirose suína. Padronização em hamster e avaliação da imunidade passiva em suínos", Protocolo nº 88/2002, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Silvio Arruda Vasconcellos, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 20/03/2002.

(We certify that the Research "Development of a submit vaccine for prevention of suine leptospirosis. Standardization in hamsters and immunological evaluation in suine", protocol number 88/2002, under the responsibility of Prof. Dr. Silvio Arruda Vasconcellos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commision of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in 20/03/2002 meeting.)

São Paulo, 22 de março de 2002

  
Prof.ª Dr.ª Júlia Maria Matera  
Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SOTO, Francisco Rafael Martins

Título: Imunidade ativa e passiva em suínos vacinados contra a leptospirose.  
Emprego de vacina experimental de subunidade e duas bacterinas comerciais de bactérias completas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

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

### Banca Examinadora

Prof. Dr \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

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

Prof. Dr \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

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

Prof. Dr \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

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

Prof. Dr \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

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

Prof. Dr \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

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

*Dedico este trabalho ao meu filho **Guilherme** e a minha esposa **Graciane**, que desde o início desta jornada, representaram para mim uma forte motivação para vencer esta etapa da minha vida profissional.*

*Repara, além das rosas do teu horto,  
Onde a luz do teu sonho brilha e mora,  
Os romeiros que seguem, vida a fora,  
Padecendo aflição e desconforto.*

*Infortunados náufragos sem porto,  
Tristes, rogando a paz de nova aurora,  
Levam consigo a dor que clama e chora,  
Sob as chagas do peito quase morto...*

*Não te detenhas !... Vem, socorre e ajuda  
A multidão que passa, inquieta e muda,  
Implorando-te amor, consolo e abrigo!...*

*Reparte o pão que te enriquece a mesa,  
Estendendo o teu horto de beleza,  
E o Mestre Amado habitará contigo.*

**(Auta de Souza)**

*Se a provação te aflige, Deus te conceda paz. Se o cansaço te pesa, Deus te sustente em paz. Se te falta a esperança, Deus te acrescente a paz. Se alguém te ofende ou fere, Deus te renove em paz. Sobre as trevas da noite, o céu fulgura em paz. Ama, serve e confia. Deus te mantém em paz.*

**(Emmanuel)**



*“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei, não fosse por elas, eu não teria saído do lugar.....”*

*“As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito”*

**(Chico Xavier)**

*“Sua tarefa é descobrir o seu trabalho e, então com todo o coração, dedicar-se a ele”*

**(Buda)**

*“Uma vida não questionada não merece ser vivida”*

**(Platão)**

*“Você não pode ensinar nada um homem; você pode apenas ajuda-lo a encontrar a resposta dentro dele mesmo”*

**(Galileu Galilei)**

*“Se todos nós fizéssemos as coisas de que somos capazes, iríamos literalmente espantar a nós mesmos”*

**(Thomas Alva Edson)**

## **Agradecimentos**

À **Deus**, por ter dado a minha vida, saúde e a oportunidade de realizar este trabalho;

Aos meus queridos pais **Luiz e Madalena**, exemplos de seres humanos que deram força e muito apoio para vencer esse desafio;

Ao meu orientador **Prof. Dr. Silvio Arruda Vasconcellos**, acima de um grande mestre e cientista, um ser humano elevado, que acreditou em mim, tornando-se um amigo e companheiro nesta jornada;

A minha co-orientadora **Profa Dra. Sônia Regina Pinheiro**, que desde o meu primeiro ano no VPS, como pós-graduando, me acolheu no departamento, tornou-se uma verdadeira amiga e grande conselheira, a qual devo muita gratidão e carinho, ensinando para mim, como fazer ciência;

A minha irmã **Bárbara**, mais que uma irmã, uma amiga, mais uma vez, muito me ajudou na revisão gramatical do texto para concluir este trabalho;

Á **Zenaide Maria Moraes**, pessoa amável e profissional competente, a quem devo muito, que com muita dedicação e trabalho realizou a etapa laboratorial;

A minha colega de pós-graduação, **Armane Paldes Gonçales**, pela grande ajuda no laboratório e realização do teste de potência das vacinas comerciais;

A **Gisele**, que muito ajudou nas tantas soroaglutinações;

*Ao amigo de pós-graduação, **Sérgio Santos de Azevedo**, pelo companheirismo, envolvimento no projeto e pela análise estatística realizada;*

*Aos funcionários e amigos da Granja Ouro Preto, que ajudaram nas colheitas, trataram e cuidaram dos suínos do experimento: **Lindioberto, Charles, Marcos, José Pereira, Marcos, Sérgio e Elizeu**.*

*À **Dra. Erlete Rosalina Vuaden** e seus filhos, pessoas amáveis e companheiras;*

*A amiga **Dra Fernanda Bernardi**, minha companheira de trabalho no CEVISA, pela ajuda, dicas no texto e a tradução para o inglês;*

*Ao amigo e companheiro de trabalho no CEVISA, **Sebastião Rodrigues de Camargo**, que gentilmente trabalhou muito na diagramação do texto;*

*Ao **Dr. Roberto Pardini e Marcelo** pela ajuda das primeiras colheitas de sangue;*

*Ao **Prof. Dr. Fumio Honma Ito**, um “expert” na colheita de sangue em suínos a quem muito aprendi;*

*Ao **Prof. Dr. Leonardo José Richtzenhain**, pelas nossas conversas científicas tão agradáveis e úteis;*

*Ao **Prof. Dr. Nilson Roberto Benites**, pelas dicas e entusiasmo com a ciência;*

*Ao **Prof. Dr. Igor Correia de Almeida**, pela grande ajuda na produção das vacinas experimentais;*

À **equipe de campo**, nas colheitas de sangue e nas nossas confraternizações noturnas, muito agradáveis e inesquecíveis;

A **Sra Elza Maria Faquim**, bibliotecária da FMVZ/ USP, pessoa gentil que muito auxiliou na revisão final do texto;

Aos **suínos**, animais que desde a minha tenra idade tive grande paixão para trabalhar com eles e estudá-los;

A **FAPESP**, pelo apoio financeiro dado ao projeto;

Ao **Laboratório Biovet** pela produção das vacinas da primeira fase do experimento;

Aos **funcionários da USP/FMVZ/ VPS**, sempre muito agradáveis e prestativos;

A **todos**, que em algum momento deste trabalho, tiveram seu envolvimento, por menor que tenha sido.

## RESUMO

SOTO, F. R. M. **Imunidade ativa e passiva em suínos vacinados contra a leptospirose. Emprego de vacina experimental de subunidade e duas bacterinas comerciais de bactérias completas.** [Active and passive immunity in swine vaccinated against leptospirosis. Use of an experimental subunit vaccine and two commercial whole culture bacterins]. 2006. 114 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

Foi avaliado o desempenho de vacina de subunidade e bactéria completa anti-leptospirose em matrizes suínas analisando-se os níveis de anticorpos aglutinantes e neutralizantes. A intensidade e duração da imunidade passiva nos leitões, e ativa nas matrizes suínas foi investigada pela soroaglutinação microscópica (SAM) e teste de inibição de crescimento de leptospiras (ICL) em grupos de animais tratados com vacina experimental de subunidade e leptospira completa produzida com a mesma estirpe e com duas bacterinas comerciais. O experimento foi realizado em duas fases, na primeira, sendo utilizadas 33 matrizes. Os animais foram divididos em três grupos: grupo 1 (n=11): controle; grupo 2 (n=11): recebeu duas doses, em intervalo de 30 dias, de vacina anti-leptospirose constituída da subunidade de lipopolissacarídeo (LPS) de leptospira sorovar Canicola. Grupo 3 (n=11): recebeu duas doses, em intervalo de 30 dias, de uma bactéria de bactérias completas anti-leptospirose. Na segunda fase foram utilizadas 24 matrizes. Os animais foram divididos em três grupos: Grupo A (n=08): recebeu duas doses, em intervalo de 30 dias, de bactéria comercial anti-leptospirose A. Grupo B (n=08): recebeu duas doses, em intervalo de 30 dias, de bactéria comercial anti-leptospirose B e Grupo C (n=08): controle. Tanto na primeira fase como na segunda, foram realizados exames de SAM e de ICL nas matrizes e nos seus leitões, a fim de se avaliar títulos de aglutininas e de anticorpos neutralizantes obtidos respectivamente com a imunidade ativa e passiva. Os resultados das comparações dos títulos de anticorpos aglutinantes dos grupos tratados, 2 e 3, na primeira fase, apresentaram diferença aos 32 e 68 dias pós-vacinação. Não houve diferença para os anticorpos neutralizantes. No 30º dia de vida não foram detectados anticorpos aglutinantes nos leitões das matrizes vacinadas

com LPS, e para anticorpos neutralizantes, os títulos médios foram de 0,832 no grupo 2 e 0,930 no grupo 3. Os títulos de anticorpos aglutinantes dos grupos A e B, na segunda fase, apresentaram diferença entre os sorovares das bacterinas comerciais, aos 60, 90 e 120 dias pós-vacinação. Aos 60 dias, houve diferença para os sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae. Em relação aos níveis de anticorpos neutralizantes das matrizes para o sorovar Hardjo, houve persistência de títulos de anticorpos neutralizantes nas sete avaliações realizadas nas duas bacterinas comerciais empregadas, e, em títulos baixos. Nos leitões foi constatada a transferência da imunidade colostrar, somente com a bacterina comercial B confirmada pela presença de anticorpos aglutinantes, aos três e oito dias de vida. A vacina de LPS de bactéria completa apresentou perspectivas para emprego na prevenção da leptospirose suína. Houve diferença e baixa resposta imunológica nas bacterinas comerciais A e B anti-leptospirose, principalmente, para os sorovares Canicola, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae e Pomona, Copenhageni para a bacterina comercial B. A imunidade passiva, medida por anticorpos aglutinantes conferida pelas bacterinas comerciais A e B, foi de curta duração.

Palavras-chave: Leptospirose animal. Imunidade ativa. Imunidade passiva. Vacinas. Suínos.

## ABSTRACT

SOTO, F. R. M. **Active and passive immunity in swine vaccinated against leptospirosis. Use of an experimental subunit vaccine and two commercial whole culture bacterins.** [Imunidade ativa e passiva em suínos vacinados contra a leptospirose. Emprego de vacina experimental de subunidade e duas bacterinas comerciais de bactérias completas]. 2006. 114 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

It was evaluated the performance of a subunit and whole culture bacterin vaccines against leptospirosis in sows by the analysis of agglutinating and neutralizing antibodies level. The intensity and duration of passive immunity in the offspring and active immunity in sows were investigated with microscopic agglutination test (MAT) and leptospira growth inhibition (LGI) in groups of animals treated with experimental subunit vaccine and whole bacterin produced with the same serotype and with two commercial bacterin vaccines. The experiment was performed in two phases. First, 33 sows were divided into three groups of eleven animals each: group 1 was the control and group 2 received two doses with 30 days interval of anti-leptospirosis lipopolysaccharid (LPS) subunit vaccine serovar Canicola and group 3 received two doses with 30 days interval of whole leptospira bacterin. On a second phase 24 sows were divided into three groups of eight animals each: group A received two doses with 30 days interval of the commercial leptospira bacterin A. Group B received two doses with 30 days interval of a commercial leptospira bacterin B and group C was the control. Either in the first phase as in the second one, MAT and LGI were performed in the sows and its piglets in order to evaluate titers of agglutinins and neutralizing antibodies obtained with active and passive immunities respectively. The comparison of agglutinating titers of groups 2 and 3 at the first phase showed differences on days 32 and 68 post vaccination. There was no difference in relation to neutralizing antibodies. Agglutinating antibodies were not detected on thirty days old piglets, born from sows vaccinated with LPS, and for neutralizing antibodies, mean titers were 0.832 on group 2 and 0.930 on group 3. Agglutinating antibodies titers of groups A and B, on the second phase, presented differences between the

commercial vaccines serovars at 60, 90 and 120 post vaccination days. At 60 days, there were differences for serovars Copenhageni and Icterohaemorrhagiae. There was persistency of low titers of neutralizing antibodies to serovar Hardjo in the sows, for the seven measurements performed with the two commercial bacterins. It was observed colostral immunity transfer to piglets with three and eight days old only for commercial vaccine B, with detectable agglutinating antibodies. LPS bacteria vaccine presented perspectives to prevent swine leptospirosis. There was difference and low immunological response for commercial vaccines A and B, especially for serovars Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae and Pomona; and for serovar Copenhageni only for commercial vaccine B. The passive immunity conferred by commercial vaccines A and B and measured by agglutinating antibodies had low duration.

Key words: Animal leptospirosis. Active immunity. Passive immunity. Vaccines. Swine.



## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1- Proporção de matrizes suínas apresentando títulos de anticorpos aglutinantes ( $\geq 2,004$ ) para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola, segundo o tipo de vacina e o tempo expresso em dias, pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... 64
- Gráfico 2- Médias aritméticas dos títulos de anticorpos aglutinantes expressos em logaritmo de base 10 para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola em suínas imunizadas com vacinas experimentais produzidas com a mesma estirpe, segundo o grupo, e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... 65
- Gráfico 3- Títulos médios de anticorpos neutralizantes em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com vacinas produzidas com a estirpe LO-4 do sorovar Canicola, segundo o grupo experimental, e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... 69
- Gráfico 4- Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Bratislava segundo a bactéria e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... 72
- Gráfico 5- Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Canicola segundo a bactéria e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 ..... 72
- Gráfico 6- Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Grippotyphosa segundo a bactéria e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... 73

|   |    |
|---|----|
| Gráfico 7- Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Copenhageni segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006.....   | 73 |
| Gráfico 8- Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Icterohaemorrhagiae segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006.....                                       | 74 |
| Gráfico 9- Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Pomona segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....   | 74 |
| Gráfico 10- Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Hardjo segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....  | 75 |
| Gráfico 11- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Bratislava de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 ..... | 77 |
| Gráfico 12- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Canicola de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....   | 78 |

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 13- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Grippotyphosa de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....       | 80 |
| Gráfico 14- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Copenhageni de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....         | 81 |
| Gráfico 15- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Icterohaemorrhagiae de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 ..... | 82 |
| Gráfico 16- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Pomona de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....              | 83 |
| Gráfico 17- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Hardjo de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....              | 85 |
| Gráfico18- Títulos médios de anticorpos neutralizantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Hardjo, de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....                  | 88 |

Gráfico 19- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Hardjo, de leitões nascidos de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e a idade dos animais expressada em dias - São Paulo - 2006..... 90

Gráfico 20- Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Bratislava, de leitões nascidos de matrizes suínas vacinadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, grupos A e B e grupo C, controle, de acordo com a idade em dias - São Paulo - 2006.. 90

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Títulos de anticorpos aglutinantes expressos em logaritmo de base 10, para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola em matrizes suínas imunizadas com vacina experimental de subunidade, LPS-MPLA produzida com a mesma estirpe, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... 64
- Tabela 2- Títulos de anticorpos aglutinantes expressos em logaritmo de base 10, para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola em matrizes suínas imunizadas com vacina experimental de bactérias completas, associada ao adjuvante de hidróxido de alumínio, produzida com a mesma estirpe, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 ..... 65
- Tabela 3- Títulos de anticorpos neutralizantes expressos em logaritmo de base 10 e respectivos intervalos de confiança (95%) para a estirpe LO-4 sorovar Canicola, de matrizes suínas imunizadas com vacina experimental de subunidade, LPS-MPLA, produzida com a mesma estirpe, segundo o número de identificação e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... 67
- Tabela 4- Títulos de anticorpos neutralizantes expressos em logaritmo de base 10 e respectivos intervalos de confiança (95%) para a estirpe LO-4 sorovar Canicola, de matrizes suínas imunizadas com bacterina experimental de bactéria completa, produzida com a mesma estirpe, segundo o número de identificação e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 ..... 68
- Tabela 5- Títulos de anticorpos neutralizantes e o respectivo intervalo de confiança (IC 95%) expressos em logaritmo de base 10 para a estirpe LO-4, sorovar Canicola, de leitões nascidos de matrizes suínas imunizadas com vacinas contra a leptospirose produzidas com a mesma estirpe segundo o grupo experimental, e colheita de sangue efetuada no 30<sup>o</sup> dia de vida - São Paulo - 2006 ..... 70

|  |    |
|--|----|
| Tabela 6- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Bratislava, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006          | 76 |
| Tabela 7- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Bratislava, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....    | 76 |
| Tabela 8- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Canicola, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....      | 77 |
| Tabela 9- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Canicola, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....      | 78 |
| Tabela10- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Grippotyphosa, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 ..... | 79 |

|  |    |
|--|----|
| Tabela 11- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Grippotyphosa, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....      | 79 |
| Tabela 12- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Copenhageni, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....        | 80 |
| Tabela 13- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Icterohaemorrhagiae, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... | 81 |
| Tabela 14- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Icterohaemorrhagiae, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006..... | 82 |
| Tabela 15- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Pomona, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006 .....             | 83 |

|  |    |
|--|----|
| Tabela 16- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Hardjo, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006.....  | 84 |
| Tabela 17- Títulos de anticorpos aglutinantes para a <i>Leptospira interrogans</i> sorovar Hardjo, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006.....  | 84 |
| Tabela 18- Matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial anti-leptospirose A . Títulos de anticorpos neutralizantes para o sorovar Hardjo de bacterina comercial A expressos em logaritmo de base 10, e o respectivo intervalo de confiança (IC 95%) segundo a identificação do animal e o momento da realização da colheita de sangue - São Paulo - 2006 ..... | 86 |
| Tabela 19- Matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial anti-leptospirose B . Títulos de anticorpos neutralizantes para o sorovar Hardjo de bacterina comercial B expressos em logaritmo de base 10, e o respectivo intervalo de confiança (IC 95%) segundo a identificação do animal e o momento da realização da colheita de sangue - São Paulo - 2006 ..... | 87 |
| Tabela 20- Leitões filhos de matrizes suínas vacinadas com bacterina comercial anti- leptospirose - B. Proporção de reatores e respectivas médias de títulos de anticorpos aglutinantes segundo o sorovar de leptospira e o tempo expresso em dias após a ingestão do colostro - São Paulo - 2006 .....  | 89 |



|  |    |
|--|----|
| Tabela 21- Hamsters vacinados com bacterina comercial polivalente anti - leptospirose A. Proporção de animais sobreviventes segundo a concentração da vacina e a estirpe de leptospira empregada no desafio - São Paulo - 2006 ..... | 91 |
| Tabela 22- Hamsters vacinados com bacterina comercial polivalente anti-leptospirose B. Proporção de animais sobreviventes segundo a concentração da vacina e a estirpe de leptospira empregada no desafio - São Paulo - 2006 .....   | 91 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|       |   |
|-------|---|
| Kg    | - kilograma   |
| hab   | - habitante   |
| PCR   | - Polyacrimide Chain Reaction                           |
| EUA   | - Estados Unidos da América                             |
| rpm   | - rotações por minuto                                   |
| IgG   | - imunoglobulina G                                      |
| IgM   | - imunoglobulina M                                      |
| IgA   | - imunoglobulina A                                      |
| ELISA | - Enzyme- Linked Immunosorbent Assay quimioluminescente |
| mg    | - miligrama   |
| SP    | - São Paulo   |
| mL    | - mililitro   |
| nmol  | - nanomol   |
| EMJH  | - Ellinghausen, McCullough, Jonhson e Harris            |

## SUMÁRIO

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO.....</b>  | <b>30</b> |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>   | <b>33</b> |
| 2.1      | LEPTOSPIROSE SUÍNA – ETIOLOGIA.....   | 33        |
| 2.2      | ISOLAMENTOS DE LEPTOSPIRAS EM SUÍNOS NO MUNDO<br>E NO BRASIL.....                     | 34        |
| 2.3      | INQUÉRITOS SOROLÓGICOS PARA LEPTOSPIROSE SUÍNA<br>NO MUNDO E NO BRASIL.....           | 37        |
| 2.4      | PATOGENIA DA LEPTOSPIROSE SUÍNA.....  | 41        |
| 2.5      | IMUNIDADE ATIVA E PASSIVA NA LEPTOSPIROSE<br>SUÍNA.....                               | 43        |
| 2.6      | EMPREGO DE VACINAS NO CONTROLE DA<br>LEPTOSPIROSE SUÍNA.....                          | 47        |
| 2.7      | PERSPECTIVAS DE NOVAS VACINAS CONTRA A<br>LEPTOSPIROSE SUÍNA.....                     | 48        |
| <b>3</b> | <b>OBJETIVO.....</b>  | <b>52</b> |
| <b>4</b> | <b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>   | <b>53</b> |
| 4.1      | LOCAL.....  | 53        |
| 4.2      | PRIMEIRA FASE – SUÍNOS ADULTOS.....   | 53        |
| 4.3      | SEGUNDA FASE - SUÍNOS ADULTOS.....  | 54        |
| 4.4      | VACINAÇÃO DOS SUÍNOS – PRIMEIRA E SEGUNDA FASE.....                                   | 54        |
| 4.5      | CRONOGRAMA PARA COLHEITAS DE SANGUE - PRIMEIRA<br>E SEGUNDA FASE- SUÍNOS ADULTOS..... | 55        |
| 4.6      | MANEJO DOS LEITÕES - PRIMEIRA E SEGUNDA FASE.....                                     | 55        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 4.7      | CRONOGRAMA PARA COLHEITAS DE SANGUE- LEITÕES FASE1 E 2 .....   | 56        |
| 4.8      | VACINAS UTILIZADAS NA PRIMEIRA FASE .....  | 56        |
| 4.8.1    | <b>Extração de subunidades da amostra isolada a campo e produção da vacina de subunidade- primeira fase .....</b>  | <b>56</b> |
| 4.8.2    | <b>Preparo das vacinas experimentais .....</b>   | <b>57</b> |
| 4.9      | BACTERINAS UTILIZADAS NA SEGUNDA FASE.....   | 57        |
| 4.10     | SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM) .....   | 57        |
| 4.11     | TESTE DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE LEPTOSPIRAS (ICL).....   | 58        |
| 4.12     | TESTE DE POTÊNCIA DE VACINA EXPERIMENTAL- LPS-MPLA- ANTI- LEPTOSPIROSE EM HAMSTERS- PRIMEIRA FASE.....   | 59        |
| 4.13     | TESTE DE POTÊNCIA DE BACTERINAS COMERCIAIS ANTI-LEPTOSPIROSE EM HAMSTERS – SEGUNDA FASE.....   | 61        |
| 4.14     | ANÁLISE ESTATÍSTICA.....   | 62        |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS.....</b>   | <b>63</b> |
| 5.1      | TÍTULOS DE ANTICORPOS AGLUTINANTES DE MATRIZES SUÍNAS IMUNIZADAS COM VACINAS EXPERIMENTAIS ANTI-LEPTOSPIROSE INATIVADAS, DE SUBUNIDADE E DE BACTÉRIA COMPLETA, ESTIRPE LO-4 DE SOROVAR Canicola – PRIMEIRA FASE..... | 63        |

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 5.2 | TÍTULOS DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES, TESTE DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE LEPTOSPIRAS (ICL) <i>IN VITRO</i> INDUZIDOS POR VACINAS EXPERIMENTAIS MONOVALENTES PRODUZIDAS COM A ESTIRPE LO-4 DE SOROVAR Canicola-PRIMEIRA FASE.....    | 66 |
| 5.3 | TÍTULOS DE ANTICORPOS AGLUTINANTES E NEUTRALIZANTES EM LEITÕES NASCIDOS DE MATRIZES SUÍNAS VACINADAS COM VACINAS ANTI-LEPTOSPIROSE MONOVALENTES EXPERIMENTAIS PRODUZIDAS COM A ESTIRPE LO-4 DO SOROVAR Canicola – PRIMEIRA FASE..... | 70 |
| 5.4 | RESULTADOS DO TESTE DE POTÊNCIA DE VACINA EXPERIMENTAL LPS-MPLA ANTI-LEPTOSPIROSE EM HAMSTERS- PRIMEIRA FASE.....  | 71 |
| 5.5 | TÍTULOS DE ANTICORPOS AGLUTINANTES DE MATRIZES SUÍNAS IMUNIZADAS COM BACTERINAS COMERCIAIS ANTI-LEPTOSPIROSE DE BACTÉRIAS COMPLETAS, GRUPOS A E B– SEGUNDA FASE.....   | 71 |
| 5.6 | MATRIZES SUÍNAS- INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE LEPTOSPIRAS (ICL) – SEGUNDA FASE.....  | 85 |
| 5.7 | SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM) E INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE LEPTOSPIRAS (ICL) DE LEITÕES – SEGUNDA FASE.....   | 88 |

|     |   |            |
|-----|---|------------|
| 5.8 | RESULTADOS DO TESTE DE POTÊNCIA DE BACTERINAS<br>COMERCIAIS ANTI-LEPTOSPIROSE EM HAMSTERS-<br>SEGUNDA FASE..... | 91         |
| 6   | <b>DISCUSSÃO.....</b>   | <b>92</b>  |
| 7   | <b>CONCLUSÕES.....</b>  | <b>99</b>  |
|     | <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>101</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A suinocultura tem se desenvolvido e buscado um mercado cada vez mais especializado. Isto ocorre devido à grande demanda da carne suína que, na atualidade, é a mais consumida no mundo. A partir de 1978, o consumo de carne suína passou a ser superior ao de carne bovina. Desde então, a carne suína assumiu a preferência mundial. Até o ano de 1998, o consumo mundial de carne suína atingiu 14,5kg/hab/ano. No Brasil, o consumo cresce a cada ano e sua produção aumenta cerca de 6% ao ano.

Em 1999, o plantel mundial de suínos chegou 956,5 milhões de cabeças e a estimativa para 2010 é de que o mundo irá produzir, anualmente, 105 milhões de toneladas da carne suína o que representará um crescimento de 21,5% no período de 1999 a 2010. Desta produção, 60% estará concentrada nos países em desenvolvimento. No ano 2000, o Brasil foi classificado como o sétimo maior produtor mundial de carne suína, com um plantel de 2,331 milhões de matrizes suínas e um abate de 24,9 milhões de cabeça/ano que resultaram em 1,967 milhões toneladas de carne produzida. A cadeia produtiva da suinocultura é responsável pela renda de 2,7 milhões de brasileiros. Destaca-se ainda a produção de grãos, insumo básico para a suinocultura, em que o Brasil é o terceiro no mundo. Os Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul assumem uma posição de destaque na suinocultura brasileira e detêm mais de 50% do rebanho suíno do país.

Devido ao crescimento populacional mundial e conseqüente aumento na demanda de alimentos, a suinocultura busca uma constante melhoria nas condições de produção, manejo ambiental e sanidade. Para que essa cadeia de produção seja eficiente e lucrativa, torna-se necessária a interação e sincronização de instalações, manejo e recursos humanos. A atuação nestes quesitos poderá propiciar o controle e a diminuição dos efeitos desfavoráveis à produção, do ambiente adverso e dos microorganismos patógenos. Além disso, para que a suinocultura cresça e permaneça economicamente viável, é essencial o estabelecimento de um trabalho constante de modernização,

adaptação e melhoria da qualidade de todos os fatores envolvidos com o produto final.

Nos últimos anos, uma das mudanças mais evidentes na suinocultura brasileira foi a tendência de diminuição do número de unidades de produção e aumento no número de matrizes suínas por sistema. Este adensamento implica em cuidados adicionais, pois há maior risco da disseminação de doenças.

Em função da abertura de alguns importantes mercados internacionais para o setor suinícola, as preocupações sanitárias se intensificaram, e os programas de biossegurança passaram a ser peça fundamental em sistemas de produção intensivos.

No ano de 2001, o registro da febre aftosa no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, determinou a suspensão das exportações de carne suína que redundaram em prejuízos da ordem de U\$150.000.000,00. Esta crise impulsionou os programas de controle e monitorias já realizados e o governo brasileiro implantou a Instrução Normativa N° 19 de fevereiro de 2002, que classificou os estabelecimentos produtores de suínos de acordo com o grau de vulnerabilidade as doenças.

Dentre as doenças infecciosas que afetam a sanidade do rebanho suíno e comprometem o desempenho reprodutivo dos plantéis, a leptospirose é uma das mais importantes.

A prevenção da leptospirose suína deve ser obtida com vacinas que contenham os sorovares de leptospiras presentes na região. As ações voltadas para a diminuição da quantidade de leptospiras lançadas no ambiente incluem o controle de roedores, e o tratamento, principalmente dos reprodutores e reprodutoras com estreptomicina que elimina o estado de portador renal. Os fatores ambientais que favorecem a sobrevivência do agente na ausência de parasitismo e aumentam o risco de infecção são muito



variáveis e estão relacionados, basicamente, com o manejo da água dentro das granjas.

Atualmente, as vacinas utilizadas para o controle da leptospirose em suínos são cultivos totais inativados dos sorovares: Pomona, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Canicola, Gryppotyphosa e Bratislava. A intensidade e duração da imunidade conferida por estas vacinas é variável e pouco conhecida. Algumas observações constataram proteção contra a doença, mas não contra o estado de portador renal. Os protocolos de vacinação ainda não estão consolidados, particularmente no relativo a imunidade colostrar transferida passivamente para os animais jovens.

O emprego de vacinas de subunidade de leptospiras em suínos é um aspecto ainda não investigado e talvez possa oferecer uma alternativa para o aprimoramento das ações preventivas disponíveis para o controle da doença.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Na revisão de literatura foram desenvolvidos sete tópicos referentes à leptospirose suína, conforme apresentados a seguir:

### 2.1 LEPTOSPIROSE SUÍNA- ETIOLOGIA

A etiologia da leptospirose foi demonstrada inicialmente em 1915 no Japão e na Alemanha. Posteriormente, Nogushi criou o gênero *Leptospira* (do grego Lepto= delgado, spira= novelo). Desde 1915 até 1989, a classificação foi apenas sorológica, onde o gênero *Leptospira* foi dividido em duas espécies, a *Leptospira interrogans*, que compreende todas as estirpes patogênicas; e *Leptospira biflexa*, reunindo as estirpes saprófitas isoladas do ambiente. Para a *Leptospira biflexa* foram descritos mais de 60 sorovares e para a *Leptospira interrogans* mais de 200 (FAINE, 1994; LEVETT, 2001). Recentemente, por genotipagem, as leptospirosas foram reclassificadas em 16 genomespécies, não correspondendo às duas espécies anteriores, já que os sorovares patogênicos e não patogênicos podem ocorrer dentro de uma mesma espécie. As genomespécies aceitas são: *Leptospira interrogans* sensu stricto, *Leptospira nogushi*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira meyeri*, *Leptospira wolbachii*, *Leptospira biflexa*, *Leptospira fainei*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira kirschneri*, *Leptospira weilli*, *Leptospira inadai*, *Leptospira parva* e *Leptospira alexanderi* (LEVETT, 2001).

Os sorovares de leptospirosas mais comumente encontrados, infectando e causando a doença em suínos são: Pomona, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Canicola, Gryppotyphosa, Bratislava e Muenchen. Dessas, os quatro primeiros já foram isolados de suínos no Brasil (SOBESTIANSKY et al., 1999).

Em ausência de parasitismo, as condições ótimas para a sobrevivência das leptospiras são umidade, temperatura de 28°C e pH neutro ou levemente alcalino (PERRY; HEARDY, 2000). Registros experimentais confirmam até 180 dias de viabilidade de leptospiras nestas condições (BLENDEN, 1976). O sorovar Pomona pode persistir até seis meses em solos saturados de umidade, sobrevivendo apenas trinta minutos em solo seco. Exposição a temperaturas acima de 50°C causa a morte das leptospiras que também são sensíveis a detergentes e desinfetantes comuns (SOBESTIANSKY et al., 1999).

## 2.2 ISOLAMENTOS DE LEPTOSPIRAS EM SUÍNOS NO MUNDO E NO BRASIL

Um dos primeiros isolamentos dos sorovares Pomona e Tarassovi em suínos no mundo foi realizado na Austrália por Johnson (1939). Babudieri (1941) na Itália; Savino e Renella (1948) na Argentina; Gochenour e Johnston (1952) nos EUA; Sippel e Atwood (1952) na Rússia; Azevedo, Faro e Palmeiro (1956) em Portugal; e Erber e Mailloux (1960) na França isolaram o sorovar Pomona de suínos. Hidalgo e Hidalgo (1970) isolaram o sorovares Pomona e Tarassovi de suínos aparentemente saudáveis na América do Sul. Nos Estados Unidos, Hanson, Reynolds e Evans (1971), isolaram o sorovar Grippotyphosa de nove das quinze fêmeas que pariram leitões fracos e natimortos. Há uma diversidade de sorovares de leptospiras isolados dos rins de suínos aparentemente saudáveis em países como a Venezuela e Peru: San Martini, Pomona, Icterohaemorrhagiae e Canicola (JELAMBI; PENA; IVANOV, 1976; MASEDO; CHERNUKHA, 1979).

Na Europa, Hathaway (1985) e Hathaway e Little (1981) isolaram os sorovares Pomona e Tarassovi dos rins de suínos. Hidalgo e Mejia (1981) isolaram este mesmo sorovar na América do Sul e Waldmann (1990) na Alemanha. Ellis et al. (1985) isolaram os sorovares Bratislava e Kennewicki

de rins de suínos aparentemente sadios abatidos em Matadouro do Estado de Valdivia, no Chile. Ellis e Thiermann (1986), em Iowa (EUA), analisaram amostras de soro, rins e trato reprodutivo de dez fêmeas suínas de abate isolando leptospiros do trato urogenital de duas fêmeas, e a amostra foi tipificada no sorovar Bratislava.

Backer et al. (1989), Rehmthula, Thomson e Stevenson (1992), no Canadá, examinaram rins de 197 suínos abatidos com nefrite e encontraram o sorovar Bratislava em 32% dos animais e Pomona em 2,5%. Estas leptospiros foram identificadas como do genótipo Kennewicki e foram isoladas de seis culturas de um total de 61 rins cultivados.

Em Cuba e Portugal o sorovar Mosdok foi isolado dos rins de suínos (ESPINO et al., 1989; ROCHA, 1990). Nos EUA, Bolin e Casselis (1990) Zamora, Riedemann e Frias (1988) isolaram o sorovar Bratislava. No Chile, Valdivia, Teran e Windsor (1991) isolaram os sorovares: San Martini, Pomona, Icterohaemorrhagiae e Canicola. Na Alemanha, Schönberg et al. (1992) isolaram o sorovar Bratislava dos rins de suínos.

Kavanagh (1991), na Irlanda, examinou fêmeas suínas descartadas por infertilidade, em granjas com elevado índice de descargas vulvares. Utilizou o teste de imunofluorescência para detectar leptospiros do sorovar Bratislava nos ovidutos e obteve resultados positivos, confirmados pelo isolamento em cultivo.

No continente Asiático, Bahaman, Ibrahim e Adam (1997) isolaram os sorovares Pomona e Tarassovi de suínos.

Na Austrália há uma diversidade de leptospiros infectando suínos. Já foram isolados e identificados, neste país, os sorovares: Pomona, Tarassovi, Bratislava e Hurstbridge (PERRY; HEARDY, 2000).

No Brasil, Guida (1948) examinou 50 rins de suínos normais procedentes de várias localidades do interior do Estado de São Paulo e isolou três amostras de leptospiros, em um lote de seis suínos procedentes do Município de Rio Claro. Pelas características de cultura e de patogenicidade, as três amostras foram idênticas, mas diferiram sorologicamente dos sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae, esta última isolada de *Rattus norvegicus*.

Com a colaboração do Instituto Adolfo Lutz, da cidade de São Paulo, Guida (1958) isolou o sorovar Hyos, proveniente de rins de suínos do Estado de São Paulo. Guida (1958) isolou leptospiros dos rins de suínos aparentemente normais, procedentes do Município de Rio Claro, Estado de São Paulo, com reação sorológica para os sorovares: Grippotyphosa, Australis, Ballum, Canicola, Icterohaemorrhagiae e Tarassovi. Guida et al. (1959) investigaram um surto de leptospirose suína em uma granja no Município de São Paulo, com a confirmação do sorovar Canicola por isolamento em cobaias e prova de soroaglutinação microscópica (SAM) com a inoculação de líquido peritoneal, torácico e do estômago e também fragmentos do fígado e rins de um feto abortado.

Santa Rosa, Castro e Troise (1962) isolaram o sorovar Pomona da urina de uma fêmea suína que havia abortado. Santa Rosa, Castro e Caldas (1962) examinaram 283 amostras de rins de suínos, aparentemente normais e abatidos para consumo humano em matadouro do Estado de São Paulo, Brasil e isolaram cinco estirpes de leptospiros, sendo um sorovar Icterohaemorrhagiae e quatro do sorovar Hyos.

Castro, Santa Rosa e Caldas (1962), no Brasil isolaram o sorovar Canicola do rim de suíno aparentemente normal, proveniente do Estado de São Paulo, e em fetos suínos abortados em criações dos Estados de São Paulo e Paraná, foi isolado o sorovar Pomona (SANTA ROSA; CAMPEDELI, CASTRO, 1973). Oliveira, Pianta e Sitya (1980) isolaram o sorovar Pomona de fetos abortados em granjas de suínos no Rio Grande do Sul.

Oliveira, Fallavena e Pianta (1983) efetuaram cultivos e exames histológicos de 604 rins de suínos colhidos aleatoriamente em frigoríficos do Rio Grande do Sul e encontraram cinco culturas positivas para leptospiros, todas confirmadas como pertencentes ao sorovar Pomona. Neste mesmo estado, o sorovar Pomona também foi isolado de fetos abortados (OLIVEIRA, 1988).

Freitas et al. (2004) em Londrina, Estado do Paraná, isolaram leptospiros do sorovar Canicola em duas amostras de fígado, obtidos em abatedouro, de 36 fêmeas suínas naturalmente infectadas.

Shimabukuro (2003), examinou 88 amostras de rins de suínos abatidos em frigorífico localizado na região de Botucatu, Estado de São Paulo e isolou uma estirpe de leptospira que não ainda não foi tipificada. Contudo devido a sorologia dos animais, suspeitou que a estirpe isolada fosse dos sorovares Icterohaemorrhagiae ou Autumnalis.

Miraglia (2005) isolou cinco estirpes do fígado, órgãos reprodutivos e rins de 137 fêmeas suínas abatidas em frigorífico provenientes de granjas do Estado de São Paulo tipificadas por aglutinação com anti-soro policlonal como pertencentes ao sorogrupo Pomona.

### 2.3 INQUÉRITOS SOROLÓGICOS PARA LEPTOSPIROSE SUÍNA NO MUNDO E NO BRASIL

Van Der Hoeden (1956) em inquéritos sorológicos para a leptospirose suína, em Israel, evidenciou títulos para o sorovar Canicola em quatro criações daquele país.

Michina e Campbell (1969), na Escócia, investigaram 91 propriedades de criações de suínos onde examinaram, pela SAM, 695 animais, nos quais houve o predomínio de reações para o sorovar Canicola (73,3%). Em 14 propriedades houve 79 reatores para o sorovar Icterohaemorrhagiae. Michina e Campbell (1969) afirmaram que os sorovares de maior freqüência de registro na espécie suína no mundo são: Pomona, Tarassovi, Canicola e Icterohaemorrhagiae.

Parlov et al. (1971) em Bashkir, na Rússia, detectaram pela SAM em 347 suínos de granjas comerciais os sorovares Pomona, Tarassovi, Bataviae, Grippytyphosa e Saxkoebing. Os sorovares Pomona e Tarassovi estavam envolvidos em 83% dos animais reagentes.

Na Europa, a infecção por leptospiros em suínos pelo sorovar Australis foi um problema emergente em alguns países como: Alemanha, Itália, França e Holanda (HATHAWAY; LITTLE, 1981; HARTMANN; VAN HOUTEN; FRIK, 1984)

Nos EUA, Estado do Alabama, Jenkins et al. (1979) efetuaram sorologia para a leptospirose suína em 627 animais com 19,3% de sororeagentes e os sorovares mais freqüentes foram: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hardjo e Grippytyphosa. Foram identificados também, em menor número, os sorovares: Ballum, Autumnalis, Pyrogenes e Bataviae.

Na Escócia foram detectadas altas taxas de fêmeas suínas reagentes para o sorovar Icterohaemorrhagiae, no entanto, o sorovar Canicola foi registrado na Irlanda e também na Escócia (HATHAWAY; LITTLE, 1981).

Miller et al. (1990) nos EUA, no Estado de Iowa, em 578 casos de falhas reprodutivas de fêmeas suínas, evidenciaram sorologias positivas para *Leptospira interrogans* em 78% dos animais, os sorovares mais freqüentes foram Kennewicki e Grippytyphosa.

Em levantamento sorológico conduzido em matrizes suínas no sul do Vietnã em 1990, as estirpes de leptospiros prevalentes foram: Autumnalis, Akiyama, Bratislava, Jez, Icterohaemorrhagiae, Kantorowicz, Pomona, Borgpetersenii

Tarassovi, Kirschneri e Grippytyphosa. Variações na soroprevalência foram encontradas entre os sorovares Bratislava e Icterohaemorrhagiae (BOQUIST; HO THI; MAGNUSSON, 2005).

Van Til e Dohoo (1991), na Islândia, investigaram a associação entre títulos de anticorpos para leptospiros e índices reprodutivos em fêmeas suínas, encontrando a predominância dos sorovares: Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Autumnalis e Pomona, nas respectivas proporções de 57,1%, 35,1%, 3,4% e 1,5%.

No Peru, o sorovar Canicola foi incriminado por evidências sorológicas como o de maior frequência na criação suína local (PAZ-SOLDAN et al., 1991).

Perea et al. (1994), em inquérito sorológico para a leptospirose suína, na região sudoeste da Espanha, Província de Badajoz examinaram 521 fêmeas originárias de 28 granjas encontrando 10,56% de animais sororeagentes de um total de 39,28% de criações afetadas, com a presença dos sorovares: Pomona (6,53%), Castellonis (1,15%), Sejroe (1,15%), Grippytyphosa (0,96%), Australis (0,38%), Icterohaemorrhagiae (0,19%) e Hebdomadis (0,19%).

Na Austrália, Chappel (1998) examinou 10440 suínos abatidos em Victória e encontrou a prevalência de 3,7% sororeagentes para o sorovar Pomona. Neste país, em suínos selvagens, de 195 animais examinados, 20% soroconverteram para a leptospirose, destes, 63% foram reagentes para o sorovar Pomona e somente dois de 195 animais reagiram para o sorovar Hardjo. O restante dos animais soroconverteram para: Canicola, Copenhageni, Grippytyphosa, Szwajizak, Tarassovi e Zaroni (MASON et al., 1998).

No Japão, Kazami et al. (2002) investigaram a soropositividade em fêmeas suínas de dois criatórios das cidades de Gnuma e Chiba com nascimento de leitões fracos, prematuros e natimortos. Os resultados revelaram elevados títulos ( $\geq 400$ ), para os sorovares Copenhageni, Canicola e Icterohaemorrhagiae.



No Brasil, no Estado de São Paulo, Santa Rosa et al. (1969/70) constataram o predomínio de suínos sororeatores para o sorovar Pomona. Santa Rosa, Campedeli e Castro (1973) identificaram aglutininas para os sorovares Pomona, Guidae, Canicola, Icterohaemorrhagiae e Tarassovi em suínos dos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Anticorpos para o sorovar Pomona foram constatados por Oliveira (1977), no Rio Grande do Sul e Santa Catarina; Ramos e Lilenbaum (2002), no Rio de Janeiro; e Giorgi et al. (1981), no Estado de São Paulo. Larsson et al. (1984), em 500 suínos abatidos provenientes dos Estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, verificaram 8,40% de animais soro positivos para os sorovares Icterohaemorrhagiae e Pomona. Oliveira (1988), no Rio Grande do Sul, encontrou predomínio de animais sororeatores para os sorovares Icterohaemorrhagiae e Pomona. Faria et al. (1989) observaram 7,70% de animais soro positivos, com prevalência do sorovar Pomona entre 610 matrizes suínas, provenientes de 63 granjas tecnificadas de microrregiões do Estado de Minas Gerais.

No Rio Grande do Sul, Oliveira et al. (1993), Oliveira et al. (1995) verificaram maior freqüência de suínos reatores para os sorovares Bratislava e Icterohaemorrhagiae. Lima (1996), no Rio Grande do Sul, constatou 42,2% de reatores para a leptospirose suína com 1545 suínos provenientes de 83 granjas. Destas, 31 propriedades apresentaram transtornos reprodutivos, os sorovares predominantes foram Bratislava e Icterohaemorrhagiae.

Langoni et al. (1995) encontraram 27,30% de positividade para a leptospirose em suínos de diferentes procedências do Estado de São Paulo, com predominância do sorovar Icterohaemorrhagiae.

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

Fávero et al. (2002), em estudo retrospectivo de exames sorológicos efetuados em 8.568 suínos com suspeita clínica em amostras colhidas no período de 1983 a 1987, identificaram como predominantes os sorovares Grippotyphosa 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), em 18 criações de suínos tecnificadas localizadas no Estado do Rio de Janeiro, encontraram a predominância dos sorovares: Icterohaemorrhagiae (28,48%), Pomona (11,97%), Copenhageni (9,69%), Tarassovi (6,55%), Hardjo (4,56%), Bratislava (2,56%) e Wolffi (2,28%).

Shimabukuro (2003) considerou uma maior importância epidemiológica no Brasil para os sorovares: Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Djasiman e Hebdomadis, considerados não adaptados aos suínos, portanto, oriundos de infecção acidental (ELLIS, 1992).

No Estado de São Paulo, Azevedo et al. (2006) em uma granja de suínos com 164 fêmeas encontraram 16,5% soropositivas para pelo menos um sorovar de uma coleção de 24 testados, e os mais freqüentes foram: Hardjo (Hardjobovis), com 54,2% aos animais sororeagentes. Outros sorovares reagentes e suas respectivas freqüências foram: Shermani 16,6%, Bratislava 12,5%, Autumnalis 12,5% e Icterohaemorrhagiae 4,2%.

## 2.4 PATOGENIA DA LEPTOSPIROSE SUÍNA

A penetração das leptospiros nos suínos ocorre basicamente pela pele lesada e mucosas. O período de incubação é de dois a cinco dias, ocorrendo disseminação hematogênica com localização e proliferação em órgãos parenquimatosos, particularmente, fígado, rins, baço e, algumas vezes, as meninges (ROSE, 1966). A leptospiremia dura, em geral, de dois a três dias,

há uma fase febril discreta e, já no quarto dia, as leptospiras estão presentes nos rins onde localizam-se no lúmen dos túbulos proximais, causando nefrite intersticial (CORREA; CORREA, 1992). Também penetram e multiplicam-se nos fetos, podendo levar à morte e reabsorção fetal, abortamento ou prole fraca. Embora existam muitos sorovares de leptospiras, somente alguns são usualmente endêmicos em determinadas regiões. As leptospiras tendem a persistir em lugares nos túbulos renais, olhos e útero, onde a atividade de anticorpos é mínima (BASTOS, 2006; SARAZÁ; VAZCAÍNO, 2002).

Ellis et al. (1986) constataram a persistência de leptospiras em fêmeas suínas que abortaram, confirmando a presença da bactéria nos rins e tecidos genitais em até 147 dias após o abortamento. Quando a infecção acontece durante o terceiro trimestre de gestação, pode ocorrer produção de anticorpos específicos que, ocasionalmente, superam a manifestação da doença (BASTOS, 2006; BORDIN, 1992; CORREA; CORREA, 1992; DANNEBERG; RICHTER; WESCHE, 1975; EDWARDS, 1979; ELLIS, 1999; FAINE, 1982; RICHTER; WESCHE, 1975; ROSE, 1966).

Os leitões que morrem por leptospirose apresentam anemia, às vezes, icterícia; petéquias e sufusões subserosas e submucosas; esplenomegalia; aumento do volume hepático e áreas amareladas irregulares; rins congestionados de volume, com hemorragias corticais em casos bem recentes, e com focos necróticos acinzentados, quando o período de estado passou de sete a dez dias, porém sem aderência de cápsula renal que quando presente, só ocorre posteriormente. Em poucos casos mais graves, há também petéquias pleurais e hepatização vermelha, em alguns lóbulos pulmonares, e petéquias epi e endocárdicas. Os linfonodos costumam estar aumentados de volume e edematosos (BORDIN, 1992; CORREA; CORREA, 1992).

A leptospirose nos suínos pode se apresentar basicamente nas formas aguda e crônica. Na forma aguda, pode ocorrer febre e mastite focal não supurativa e leptospirúria em animais adultos. Em suínos jovens, principalmente leitões,

pode ocorrer febre, anorexia, icterícia, hemoglobinúria e alta mortalidade, principalmente de recém-nascidos. Geralmente o sorovar associado com este quadro é o Icterohaemorrhagiae (BORDIN, 1992; CORREA; CORREA, 1992).

Nos animais jovens, durante a fase de aleitamento, podem ocorrer casos de encefalite caracterizados por incoordenação motora e acessos convulsivos com movimentos de pedalamo (FAINE, 1982).

A ocorrência da leptospirose em uma criação de suínos no setor de gestação resulta em elevado aumento da infertilidade das fêmeas reprodutoras como retornos de cio acíclicos, anestro e ocorrência de abortamentos, prejudicando a taxa de parto do plantel (EDWARDS, 1979). O número de abortamentos em fêmeas recém-infectadas pode chegar a alguns casos em mais de 20%, geralmente nas jovens e recém-adquiridas. As fêmeas mais velhas geralmente ficam imunes. Entretanto, na primeira ocorrência da doença no plantel, todas as faixas etárias de fêmeas podem abortar. As fêmeas abortam somente uma vez, desenvolvendo suas gestações posteriores normalmente (DANNENBERG; RICHTER; WESCHE, 1975). No setor de maternidade, são comuns os partos distóclicos, leitegadas pequenas, baixo número de nascidos totais, mumificação fetal, natimortalidade e nascimento de leitões fracos que não sobreviverão, aumentando significativamente o índice de mortalidade destes animais e reduzindo o número de leitões desmamados por porca/ ano (EDWARDS, 1979). Estes dados foram confirmados por Ferreira Neto et al. (1997) que também relataram o nascimento de número elevado de leitões debilitados em fêmeas suínas sororeagentes para o sorovar Icterohaemorrhagiae.

## 2.5 IMUNIDADE ATIVA E PASSIVA NA LEPTOSPIROSE SUÍNA

A resposta imune nos animais é um dos mais importantes mecanismos adaptativos, pois permite a sobrevivência em ambientes potencialmente

lesivos, principalmente por bactérias. Nos sistemas intensivos de criação de suínos, com alta densidade de animais por metro quadrado, há uma grande concentração de microorganismos patogênicos no ambiente que aumenta o risco dos animais contraírem infecções (MORES, 1999). A defesa contra a infecção se processa em duas frentes: a imunidade humoral, mediada por anticorpos, e a imunidade celular, mediada por células (ABBAS; LICHTMANN, 2002; TIZARD, 1977).

Quando o antígeno é protéico, no caso de vacinas anti-leptospirose produzidas a partir de proteínas de membrana da bactéria, o mecanismo inicial para a ativação da resposta imune humoral (RIH) não é apenas a interação Linfócito B-antígeno, mas há também a participação dos linfócitos T auxiliares. Os antígenos não-protéicos, como os lipopolissacarídeos (LPS) das leptospirosas podem ser eliminados pela RIH sem o auxílio dos Linfócitos T auxiliares que são denominados antígenos timo-independentes, de natureza lipídica, polissacáridica ou glicídica (ABBAS; LICHTMANN, 2002).

Os Linfócitos B maduros expressam IgG e IgM na superfície. O encontro do antígeno com esses receptores desencadeia uma reação dentro do linfócito, ativando proteínas citoplasmáticas que ativam a resposta imune como consequência da multiplicação e diferenciação em plasmócitos para produzir mais anticorpos. Toxinas bacterianas, drogas, agentes virais e outros parasitas iniciam a lesão celular pela ligação a receptores específicos da superfície da célula hospedeira. Os anticorpos neutralizantes podem impedir esta interação, neutralizando o processo tóxico ou infeccioso (ABBAS; LICHTMANN, 2002; TIZARD, 1977), atuando diretamente no bloqueio das proteínas da superfície da bactéria. A opsonização e a fagocitose são mais rápidas e intensas na presença de anticorpos neutralizantes. Antitoxinas produzidas por estas células de defesa podem neutralizar toxinas bacterianas e prevenir efeitos deletérios ao hospedeiro provocados pelas bactérias. Os anticorpos neutralizantes são bastante ativos contra patógenos extracelulares, como a maioria das bactérias (ROITT; BROSTOFF; MALE, 1985).

Os anticorpos aglutinantes se manifestam brevemente, logo após um período de invasão da doença, aparecendo em um período que varia segundo a espécie animal, a virulência e a concentração das estirpes infectantes, bem como de fatores intrínsecos de resistência, receptividade individual, idade e raça do hospedeiro.

A imunidade passiva é uma proteção transitória. Os anticorpos aglutinantes e neutralizantes pré-formados pela mãe são transferidos à prole através do colostro. Como vantagem, esta imunidade confere proteção imediata, porém apresenta um curto período de proteção (BARRAL, 2005). A proteção transferida pelo colostro assume grande importância nos suínos, pois na espécie suína, a placenta epitélio-corial é barreira que impede a transferência de imunoglobulinas aos fetos. Apesar desta barreira, Fennestad, Petersen e Brummerstedt (1968) inocularam culturas de leptospiros atenuadas na cavidade amniótica em fetos de suínos no 60º dia de gestação. Após histerectomia, aos 101 dias de gestação, não foi evidenciada infecção, porém foram observados níveis elevados de gamaglobulinas e anticorpos aglutinantes, concluindo-se que duas semanas antes do nascimento, os fetos de suínos já estão habilitados para responder imunologicamente contra leptospiros.

Como o leitão recém-nascido não teve uma “experiência imunológica” no útero de sua mãe, a proteção conferida pelo colostro é fundamental nas primeiras semanas de vida, pois promove uma imunidade sistêmica, observada no intestino delgado. Entretanto, os anticorpos colostrais prejudicam a síntese de novos anticorpos ou a imunidade ativa (SALMON, 1984).

Ao nascimento, a permeabilidade intestinal nos leitões é de curta duração e a maioria da imunidade passiva adquirida nas primeiras horas de vida (DUNNE; LEMANN, 1994).

Frenyo et al. (1980) detectaram uma queda de mais de 95% na concentração inicial de IgG no momento do parto presente no leite de fêmeas suínas

comparado após cinco dias de lactação. A meia vida da IgG presente no soro dos leitões foi de 9,73 dias.

A eficiência da absorção de Ig pelo intestino delgado dos leitões decresce rapidamente, tendo uma meia vida de três horas após o nascimento (DUNNE; LEMANN, 1994). Estudos imuno-químicos pós-absorção colostrar pelos leitões demonstraram três classes de imunoglobulinas importantes para esta espécie: IgG, IgA e IgM que estiveram presentes no soro sanguíneo destes animais. A IgG representa 80% do total das imunoglobulinas absorvidas pelos suínos e é a mais importante nesta espécie (PORTER; ALLEN, 1972). Investigações da resposta imune dos suínos aos diversos antígenos têm demonstrado a importância da IgG e da IgM como anticorpos envolvidos na defesa humoral (PORTER; NOAKES; ALLEN, 1970). A IgA tem sido definida como a mais importante nos suínos em muitas secreções exócrinas, como no colostro, urina e secreções intestinais. Na urina foi demonstrado que a IgA tem o mesmo peso molecular e características que a presente no leite. A imunofluorescência em rins de suínos detectou a IgA no epitélio tubular renal, sugerindo uma secreção tubular e um possível mecanismo de defesa local, similar ao que ocorre no intestino delgado (PORTER; NOAKES; ALLEN, 1970).

Nas primeiras semanas de vida a lâmina própria no intestino delgado dos leitões é o sítio de maior produção de imunoglobulinas. Com o amadurecimento deste sistema imune em um mês, o animal está habilitado para produzir os seus próprios anticorpos frente a diversos antígenos (BOURNE, 1976). O nível de anticorpos colostrais transferidos aos leitões é diretamente associado ao detectado no soro sanguíneo das suas mães (DUNNE; LEMANN, 1994).

A imunidade ativa determina proteção e memória imunológica. Se bem sucedida, a exposição subsequente determinará resposta imune aumentada capaz de eliminar o patógeno ou prevenir a doença. Ela pode ser adquirida através de duas formas: por infecção natural ou artificialmente com a vacinação (BARRAL, 2005).

Bolotskii et al. (1975) inocularam 20 mL de leptospiros do sorovar Pomona em 28 suínos com idade de 70 dias. Amostras de sangue foram colhidas aos três, seis, dez, vinte, trinta, sessenta e noventa dias pós-inoculação. Os resultados revelaram elevada formação de anticorpos aglutinantes no baço e gânglios, entre seis e dez dias após a infecção. Anticorpos específicos foram encontrados no baço dos animais até três meses da inoculação.

## 2.6 EMPREGO DE VACINAS NO CONTROLE DA LEPTOSPIROSE SUÍNA

As vacinas anti-leptospirose suína disponíveis no mercado brasileiro são constituídas de bactérias completas inativadas polivalentes. Os sorovares comumente presentes são: Canicola, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Pomona, Grippotyphosa e Bratislava. O esquema de vacinação preconizado baseia-se na aplicação de duas doses nas marrãs ou primíparas, sendo a primeira aos 28 e a segunda, 14 dias da cobertura, respectivamente. Para matrizes suínas acima de um parto, a vacinação deve ocorrer durante a lactação, aproximadamente 14 dias antes da cobertura ou na primeira semana de lactação. Para os machos, a vacinação deve ser semestral após a aplicação das duas doses iniciais da vacina (CARVALHO, 2005).

Dobson e Davos (1975) avaliaram a persistência de títulos de aglutininas pós-vacinação por quatro meses após a aplicação de vacinas comerciais. Hodges (1977) trabalhou com 24 suínos, sendo que 14 foram imunizados com aplicações repetidas de bacterinas de leptospiros do sorovar Pomona, durante um período de três semanas, e dez foram grupo controle. Após cinco dias da última dose da vacina, todos os animais vacinados e o grupo controle foram expostos a infecção natural de leptospiros durante 12 semanas. Não foi observado quadro de leptospiuria e lesões nos rins dos animais vacinados, porém no grupo controle todos apresentaram leptospiuria.



Whyte et al. (1982) observaram uma significativa queda na taxa de abortamento e de mortalidade fetal em suínos vacinados com duas vacinas comerciais contra a leptospirose suína.

Apesar das limitações das vacinas contra a leptospirose, Frantz, Hanson e Brown (1989) relataram redução na taxa de natimortos em rebanhos de suínos tratados com bacterinas contendo cinco ou seis sorovares. Bey e Johnson (1993) encontraram títulos de anticorpos protetores satisfatórios em suínos tratados com bacterinas pentavalentes. Nguyen et al. (1998) detectaram diferenças significativas na produção de aglutininas em leitões vacinados contra a leptospirose suína associando esta variação da resposta imunológica às diferenças raciais dos animais.

É sabido que as vacinas contra a leptospirose em suínos previnem a doença. Entretanto, a especificidade dos sorovares limita a eficiência de vacinas mortas com células completas (KOIZUMI; WATANABE, 2005).

No Brasil, no Município de Santa Cruz do Sul, Estado do Rio Grande do Sul, Lobo et al. (2004) admitiram que a alteração observada na predominância nos sorovares de leptospirosas predominantes em testes sorológicos efetuados em suínos foi causada pela vacinação.

## 2.7 PERSPECTIVAS DE NOVAS VACINAS CONTRA A LEPTOSPIROSE SUÍNA

Existe o consenso de que a proteção conferida por bacterinas anti-leptospira é sorovar específica (PRESCOTT et al., 1991), no entanto, já foi observada a proteção cruzada entre representantes de um mesmo sorogrupo (COSTA et al., 1998; TABATA et al., 2002).

Gonzalez et al. (2005) em Cuba, detectaram resultados de proteção satisfatórios com a utilização de bacterinas formuladas com *Leptospira interrogans* sorovar Ballum, isolada de casos clínicos.

As proteínas, especialmente as de membrana externa e de superfície das leptospirosas patogênicas são antígenos efetivos para a produção de vacinas anti-leptospirose. A identificação destas proteínas que podem ser conservadas por longos períodos e promover proteção cruzada contra vários sorovares, tem se tornado um dos maiores pontos de interesse para o desenvolvimento de vacinas anti-leptospirose no mundo (HAAKE et al., 1991, 1993; SHANG, SUMMERS, HAAKE et al., 1998).

A proteína 1 de leptospira é um componente de grande virulência da bactéria e estimulador do sistema imunológico (BRANGER, 2001; LEE et al., 2000; ZUERNER et al., 1991). Esta proteína é uma secreção extracelular das leptospirosas e indutora de produção de anticorpos monoclonais envolvidos diretamente na proteção contra a leptospirose (FAINE et al., 1999., SEGERS et al., 1990).

Branger (2001) constatou que o extrato da proteína 1 da *Leptospira interrogans* sorovar Autumnalis determinou proteção cruzada em hamsters frente a outros sorovares heterólogos; destacando que a utilização da proteína 1 poderá representar uma nova geração de vacinas contra a leptospirose.

A utilização de proteínas de membrana da leptospira como a LipL32 é um caminho promissor para a confecção de vacinas, pois esta é uma das proteínas mais abundantes na bactéria com grande imunogenicidade, induzindo exuberante produção de aglutininas em vários sorovares de leptospirosas patogênicas (KOIZUMI; WATANABE, 2005).

Dentro de uma concepção de vacinas anti-leptospirose a partir de LPS, há uma diversidade de antígenos de leptospirosas patogênicas (FAINE et al.,

1999). Entretanto, soros de indivíduos vacinados com vacinas constituídas de LPS podem reagir com antígenos de leptospiros não patogênicas como a *Leptospira biflexa* sorovar Patoc (ADAMIANO; BARBUDIERI, 1968).

Midwintwer, Faine e Adler (1990) detectaram resposta imunológica em hamsters com a utilização de vacinas anti-leptospirose constituídas por LPS de leptospiros dos sorovares Pomona e Hardjo associadas a imunoconjugado com a ocorrência de produção máxima de títulos aglutinantes entre seis e dez semanas após a aplicação da vacina.

As vacinas de subunidade de leptospiros são uma opção para a realização de investigações, pois normalmente são constituídas por antígenos que estimulam a imunidade como os LPS e seus glicolipídios, lipoproteínas, proteínas de membrana, fosfolipídeos (FL), e o peptidoglicano (PG) (CINCO et al., 1996).

Sonrier et al. (2000), em hamsters tratados com LPS de leptospiros, observaram proteção completa contra sorovares homólogos e proteção parcial para sorovares heterólogos.

Koizumi e Watanabe (2004) identificaram duas lipoproteínas imunogênicas homólogas, a Lig A e a Lig B, obtidas da *Leptospira interrogans* sorovar Manilae estirpe UP- MMC- NIID. Estas lipoproteínas estimularam a produção de anticorpos anti Lig A e Lig B, conferindo proteção em hamsters para sorovares heterólogos.

Delbem (2004) comprovou em hamsters que a vacina de subunidade de LPS do sorovar Canicola associada ao monofosforil lipídio A extraído da bactéria nas concentrações de 0,1 e 1,0 nmol protegeu os animais desafiados com a estirpe homóloga. Os animais sobreviventes ao desafio não apresentaram leptospiros nos rins no período de observação empregado.

O conhecimento da seqüência do genoma das bactérias está abrindo um novo caminho para o desenho de novas vacinas, que poderão ser relevantes para o tratamento e prevenção de infecções bacterianas entre as quais está incluída a leptospirose (PLOTKIN, 2005; YOU et al., 1998).

You et al. (1998) desenvolveram vacinas anti-leptospirose constituídas pelo DNA plasmídial de *Leptospira interrogans* sorovar Lai e encontraram elevada produção de anticorpos específicos. A imunoproteção contra a leptospirose por este tipo de vacina foi investigada em mini suínos.

Gamberini et al. (2005) trabalharam com a seqüência de genes de *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni que codificam as proteínas de membrana de superfície da bactéria. A produção destas proteínas, tendo a *E. coli* como microorganismo responsável pela clonagem, foi considerada como fundamental para o desenvolvimento de uma vacina contra a leptospirose, com custo viável.

Na China, Yan (2005) tem apresentado avanços no entendimento dos mecanismos de genes específicos responsáveis pela patogenicidade da *Leptospira interrogans*. O conhecimento destes genes também possibilitará o desenvolvimento de novas vacinas.

Branger et al. (2005) utilizaram o DNA da *Leptospira interrogans* sorovar Canicola com indução pelo adenovirus para a codificação da proteína 1 das leptospirosas o que facilitou o desenho e a produção de novas vacinas contra a leptospirose. A utilização do DNA também poderá representar uma redução no custo de produção da vacina. A seqüência de genomas de leptospira tem sido usada para a identificação de vacinas (KOIZUMI; WATANABE, 2005).

### **3 OBJETIVO**

Este trabalho teve o objetivo de comparar a intensidade e duração da imunidade ativa e passiva em suínos imunizados contra a leptospirose com vacinas de subunidade e de bactérias completas.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi dividido em duas etapas: na primeira foram utilizadas vacinas anti-leptospirose experimentais monovalentes, e na segunda, duas bacterinas anti-leptospirose comerciais polivalentes.

### 4.1 LOCAL

As atividades com os suínos adultos e os leitões foram realizadas em uma granja comercial, ciclo completo, inseminação artificial em 100% das reprodutoras localizada no Município de Ibiúna, SP, com um plantel de 160 matrizes suínas e aproximadamente 1600 suínos, em que o proprietário gentilmente concordou com a execução do experimento. Os suínos foram mantidos no esquema de manejo usual da granja em baias coletivas de alvenaria, recebendo água à vontade e ração balanceada em média de 2,5 kg/dia. O tratamento preventivo das doenças reprodutivas adotado pela granja consiste na vacinação regular das marrãs, matrizes e reprodutores contra a parvovirose suína.

Os exames laboratoriais foram executados no Laboratório de Zoonoses Bacterianas do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP).

### 4.2 PRIMEIRA FASE – SUÍNOS ADULTOS

Foram utilizados 33 suínos (*Sus scrofa*), matrizes mestiças Landrace (LD) x Large White (LW), com 210 a 783 dias de idade, primeira a quarta cria, caracterizadas como não reagentes ao teste de SAM aplicada à leptospirose,

efetuado com uma coleção de antígenos vivos constituída por 24 sorovares de leptospiros. Estes animais nunca haviam sido vacinados contra a leptospirose. As matrizes foram divididas em três grupos: Grupo 1 (n=11): controle, não vacinado; Grupo 2 (n=11): recebeu duas doses, em intervalo de 30 dias, de vacina anti-leptospirose constituída da subunidade de LPS (DELBEM, 2004), extraída da estirpe LO-4 do sorovar Canicola, associada ao adjuvante de monofosforilipídio A (MPLA); Grupo 3 (n=11): recebeu duas doses, em intervalo de 30 dias, de uma bacterina anti-leptospirose, bactérias completas, produzida com a estirpe LO-4, inativada com timerosal e associada ao adjuvante de hidróxido de alumínio.

#### 4.3 SEGUNDA FASE - SUÍNOS ADULTOS

Foram utilizados 24 suínos (*Sus scrofa*), matrizes mestiças LD x LW, com 190 a 230 dias de idade, todas primíparas, caracterizadas como não reagentes ao teste de SAM aplicada à leptospirose, efetuado com uma coleção de antígenos vivos constituída por 24 sorovares de leptospiros. Estes animais nunca haviam sido vacinados contra a leptospirose. As matrizes foram divididas em três grupos: Grupo A (n=08): recebeu duas doses, em intervalo de 30 dias, de bacterina comercial anti-leptospirose A. Grupo B (n=08): recebeu duas doses, em intervalo de 30 dias, de bacterina comercial anti-leptospirose B e Grupo C (n=08): controle não vacinado.

#### 4.4 VACINAÇÃO DOS SUÍNOS - PRIMEIRA E SEGUNDA FASE

Na primeira fase, os animais receberam duas doses das respectivas vacinas intervaladas de trinta dias. As vacinas foram aplicadas pela via subcutânea na base da orelha, no volume de 1,0 mL por animal, na primo-vacinação e 2,0 mL no reforço. Na segunda fase as vacinas foram aplicadas pela via intramuscular na região do músculo do pescoço, em volumes de 5,0 mL e 3,0

mL por animal, respectivamente para as vacinas A e B, tanto na primo-vacinação como no reforço..

#### 4.5 CRONOGRAMA PARA COLHEITAS DE SANGUE- PRIMEIRA E SEGUNDA FASE- SUÍNOS ADULTOS

As colheitas de sangue empregadas para as avaliações sorológicas nas duas fases foram efetuadas pela veia cava cranial, concomitantemente às duas aplicações de vacina e sucessivamente a intervalos de aproximadamente 30 dias nos quatro meses subseqüentes, a primo-vacinação nos suínos da primeira fase. Na segunda fase, foram efetuadas colheitas de sangue simultâneas as duas aplicações de bacterina e sucessivamente a intervalos também de aproximadamente 30 dias, nos seis meses subseqüentes a primo-vacinação. As colheitas foram efetuadas em condições de assepsia, com agulhas descartáveis, (tamanho 40X12).

#### 4.6 MANEJO DOS LEITÕES - PRIMEIRA E SEGUNDA FASE

Os leitões foram mantidos no esquema de manejo usual da granja. Ao nascimento, todos foram identificados com marcação numérica pelo sistema australiano nas duas orelhas, com número igual ao da mãe e sem transferência de leitegada. Até os 21 dias de vida, foram mantidos em celas parideiras individuais e micro ambiente com aquecimento e aleitamento materno. Após os 21 dias, foram desmamados e encaminhados ao setor de creche em baias coletivas, onde permaneceram até os 60 dias de vida com aquecimento, ração balanceada, e água à vontade.



#### 4.7 CRONOGRAMA PARA COLHEITAS DE SANGUE- LEITÕES FASE 1 E 2

As colheitas de sangue dos leitões, nascidos das matrizes suínas dos experimentos da fase 1 e 2, foram efetuadas pela veia cava cranial em condições de assepsia, com agulhas descartáveis (tamanho 25x7). Para os leitões, nascidos das matrizes suínas dos grupos experimentais da fase 1, foi realizada uma colheita de sangue, em média aos 30 dias do nascimento. Para os leitões, nascidos das matrizes suínas dos grupos experimentais da fase 2, foram efetuadas quatro colheitas de sangue em quatro idades distintas: aos três, oito, 12 e 19 dias em média do nascimento.

#### 4.8 VACINAS UTILIZADAS NA PRIMEIRA FASE

Foi empregada uma estirpe de *Leptospira interrogans* sorovar Canicola isolada de suínos de abate pelo Prof. Dr. Júlio César de Freitas, da Universidade Estadual de Londrina e tipificada com anticorpos monoclonais pelo Royal Tropical Institute Amsterdam – Holanda como pertencente ao sorovar Canicola.

##### **4.8.1 Extração de subunidades da amostra isolada a campo e produção da vacina de subunidade - primeira fase**

Um cultivo do sorovar Canicola, com sete a dez dias de crescimento, foi inativado com timerosal, centrifugado, liofilizado na forma de “pellet” e submetido à extração do LPS através de solventes (clorofórmio e metanol), seguido de agitação constante por quatro horas e centrifugação a 1.500xg. O LPS foi colhido em seis frações: F1a, F1b, F1c, F1d, F3a e F3b. A reatividade imunológica das frações foi avaliada pelo teste de ELISA com antisoro policlonal e a fração F1d foi escolhida como potencial candidata como

imunógeno. A vacina experimental produzida com esta fração, na concentração de 2,4 nmol de fosfato inorgânico de LPS associado a adjuvantes de hidróxido de alumínio ou monosforil lipídio A foi aprovada no teste de potência em hamsters, (DELBEM, 2004).

#### **4.8.2 Preparo das vacinas experimentais**

A vacina de subunidade extraída da estirpe L0-4 do sorovar Canicola foi ajustada para conter LPS na concentração de 2,4 nmol de fosfato/microlitro e MPLA a 0,28 nmol por microlitro. A bacterina de bactéria completa foi produzida a partir da mesma estirpe da subunidade, inativada e ajustada na mesma concentração da vacina de LPS. O hidróxido de alumínio associado à bacterina de bactéria completa ficou na concentração final de 0,24%.

#### **4.9 BACTERINAS UTILIZADAS NA SEGUNDA FASE**

Foram utilizadas duas bacterinas polivalentes comerciais de bactérias completas denominadas A e B, grupos A e B, respectivamente, e os sorovares presentes nas mesmas foram: Pomona, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Canicola, Grippytyphosa e Bratislava.

#### **4.10 SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM)**

O teste de SAM foi realizado pela microtécnica de Cole et al., (1973) e Galton et al., (1965). Foram utilizadas culturas vivas de 22 sorovares de leptospiras patogênicas e dois de leptospiras saprófitas: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Sentot, Grippytyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panama,

Pomona, Pyrogenes, Wolffi, Hardjo, Shermani, Tarassovi, Javanica, Andamana e Patoc. Os soros foram diluídos a 1:50 e triados frente aos antígenos vivos. Na triagem, a diluição final da mistura soro-antígeno foi de 1:100, ponto de corte da reação. Os soros positivos, na triagem, foram titulados em uma série de diluições geométricas de razão dois. O título foi a recíproca da maior diluição que apresentou 50% de leptospiros aglutinadas.

Vinte e uma estirpes da coleção de antígenos empregada, originária do *Center Diseases Control, EUA*, foram fornecidas em 1985, pelo Professor Doutor Paulo H. Yasuda, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. As estirpes dos sorovares Hardjo, Wolffi e Bratislava foram fornecidas em 1989 pelo Dr. Arno Schönberg do Federal Institute for Risk Assessment (BfR) de Berlim, Alemanha. Estes antígenos foram cultivados em meio de Ellinghausen, Mc Cullough, Johnson e Harris, modificado (ALVES et al., 1996; TURNER, 1970) e mantidos no laboratório em repiques semanais. Só foram empregados como antígenos repiques entre o 5º e o 8º dia de cultivo.

#### 4.11 TESTE DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE LEPTOSPIRAS (ICL)

A mensuração dos níveis de anticorpos neutralizantes foi efetuada pelo teste de inibição do crescimento de leptospiros *in vitro* (TRIPHATY et al., 1973). O procedimento foi ajustado para as condições do laboratório que emprega cultivos em meio líquido de EMJH com quatro a oito dias de idade (TABATA, 2002). Os soros foram inativados a 56°C por 30 minutos e examinados nas diluições 1:2; 1:4 e 1:8 e 1:16.

Foram utilizadas cinco repetições por diluição de soro. Em cada tubo, foram adicionados 2,5 mL de EMJH, 0,2mL do soro em exame e 0,1mL de cultura de leptospiros vivas. Decorridos dez dias de incubação a 30°C, os tubos foram examinados semanalmente durante duas semanas para a verificação do crescimento de leptospiros macroscopicamente por anel de turvação sub-

superficial, confirmados por contagem pela microscopia de campo escuro. Quando após duas semanas, os tubos foram negativos para turbidez e apresentaram contagens inferiores a dez leptospiros por campo microscópico, no aumento de 120x, considerados positivos para anticorpos neutralizantes. Tubos com mais de dez leptospiros/campo foram considerados negativos para anticorpos neutralizantes. Para as matrizes suínas da primeira fase, o antígeno foi a própria estirpe de sorovar Canicola empregada para a produção da vacina de LPS e de bactérias completas.

Na segunda fase foram empregados como antígenos os sorovares Canicola, Bratislava e Hardjo, da coleção de referência elegendo-se o sorovar que apresentou melhor resultado na ICL. Para os leitões, tanto na primeira como na segunda fase, os exames foram efetuados pela mistura dos soros sanguíneos dos animais, denominado como “pool”, sendo uma amostra por leitegada, de acordo com o grupo e faixa etária dos animais. Cada “pool” foi constituído pela mistura de volumes iguais dos soros dos membros da leitegada. Na primeira fase, o sorovar utilizado da ICL foi o mesmo das vacinas experimentais e, na segunda fase, foi utilizado o sorovar Hardjo da coleção de referência. O título dos anticorpos neutralizantes foi calculado pelo método de Reed e Muench (1938).

As reações detectadas nos grupos controle, na primeira como na segunda fase, foram consideradas como inespecíficas, e a média aritmética dos logaritmos dos títulos observados neste grupo foi abatida dos resultados observados nos grupos de animais vacinados.

#### 4.12 TESTE DE POTÊNCIA DE VACINA EXPERIMENTAL- LPS- MPLA ANTI- LEPTOSPIROSE EM HAMSTERS- PRIMEIRA FASE

Os grupos 1 (vacinado) e 2 (não vacinado) foram constituídos por 30 hamsters cada, subdivididos em conjuntos de 10 animais.

Os animais do grupo 1 receberam duas doses de vacina contendo 500µl de LPS na concentração de 2,4 nmol e 1 nmol de MPLA de leptospira sorovar Canicola, estirpe LO-4. O grupo controle foi imunizado com 500 µl de meio EMJH modificado estéril. A vacinação foi realizada pela via subcutânea com intervalo de 15 dias entre aplicações.

Aos 15 dias da última vacinação, foi efetuado o desafio nos dois grupos com a estirpe homóloga LO-4. Cada subgrupo foi desafiado com uma suspensão de bactéria diluída a  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  ou  $10^{-4}$ , via intraperitoneal no volume de 200 µl/hamster.

Os animais foram observados diariamente por 15 dias, contabilizando-se os mortos por leptospirose. Ao final desse período, os sobreviventes foram anestesiados com vapor de éter etílico, sangrados assepticamente por punção cardíaca para obtenção de soro destinado à SAM e eutanasiados pelo aprofundamento da anestesia. Em seguida, foi efetuada necropsia para colheita dos rins os quais foram submetidos ao cultivo para isolamento de leptospiros, para investigar o estado de portador renal.

O inóculo de desafio foi a suspensão do tecido hepático de hamsters experimentalmente infectados com LO-4 e eutanasiados na fase agônica da doença. O macerado foi preparado em meio líquido EMJH na proporção 1:10. (peso/volume) e a seguir foram efetuadas diluições seriadas de razão dez até a de  $10^{-5}$ . Para a titulação foram empregados 25 hamsters subdivididos em grupos de cinco. Cada grupo foi inoculado com uma das diluições no volume de 200µl/hamster via intraperitoneal. Os animais foram observados diariamente durante 15 dias e o cálculo da dose letal (DL 50) empregou o método de Reed e Muench (1938). A DL 50 efetivamente empregada foi superior  $10^{-6}$ .

#### 4.13 TESTE DE POTÊNCIA DE BACTERINAS COMERCIAIS ANTI-LEPTOSPIROSE EM HAMSTERS – SEGUNDA FASE

Foram utilizados 90 hamsters distribuídos em três grupos, A, B e C, sendo dez, animais pertencentes ao grupo C (controle, não vacinados), 40 grupo A e 40 grupo B. Os grupos A e B foram subdivididos em dois subgrupos de 20 animais. Em cada grupo 20 hamsters receberam as bacterinas A ou B, puras e os demais receberam as bacterinas A ou B na diluição 1:800 da dose recomendada para suínos (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1977). A imunização foi efetuada com intervalo de 15 dias e o volume de vacina aplicado foi 0,25 mL/animal pela via subcutânea. Nos animais do grupo C, a bacterina foi substituída pelo placebo, constituído por solução salina estéril 0,85%.

Decorridos 15 dias da segunda dose de vacina, todos os animais foram desafiados com cultura viva dos sorovares Pomona ou Canicola no volume individual de 0,2 mL pela via intraperitoneal.

Após o desafio os animais foram mantidos sob observação diária por 21 dias atentando-se para as mortes por leptospirose, caracterizada pelos sinais clínicos e confirmação da presença de leptospiras no exame direto em campo escuro de macerado de fígado ou rim. Ao final deste período, os sobreviventes foram anestesiados por inalação de gás carbônico, sangrados assepticamente por punção intracardíaca para a obtenção de soro destinado a SAM, eutanasiados com o aprofundamento da anestesia e necropsiados para colheita dos rins e realização de cultivos destinados ao controle de infecção renal.

Para a titulação do inóculo de desafio foram utilizados 50 hamsters, distribuídos em dois grupos com vinte e cinco animais: grupo 1 desafiado com sorovar Pomona e grupo 2 desafiado com o sorovar Canicola. Os grupos foram divididos em cinco subgrupos, inoculados pela via intraperitoneal com 0,2 mL/hamster de uma das diluições do inóculo de desafio ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$

, $10^{-5}$  ou  $10^{-6}$ ). Os animais foram observados diariamente por 21 dias, contabilizando-se o número total de mortes por leptospirose por subgrupo. A DL 50 foi superior a  $10^{-6}$  para o sorovar Canicola e  $10^{-5}$  para o sorovar Pomona. O procedimento de preparo do inóculo infectante dos sorovares Pomona e Canicola foi o mesmo empregado na primeira fase.

#### 4.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos com os hamsters nas duas fases foram analisados pelo critério internacional preconizado para o teste de potência de vacinas anti-*Leptospira interrogans* (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1977).

Os resultados obtidos com os exames efetuados em amostras de sangue dos suínos foram analisados por comparação das proporções de animais reagentes e das médias de títulos de anticorpos aglutinantes e neutralizantes.

Os títulos de anticorpos aglutinantes nas fases 1 e 2 foram expressos em logaritmo de base 10, sendo atribuídos para animais não reagentes o valor 1, e acrescido o valor de 1 para cálculo dos logaritmos de base 10 para títulos de 100, 200, 400, 800, 1600 e 3200, resultando, respectivamente em: log 2,004, 2,303, 2,603, 2,904, 3,204 e 3,505.

A comparação das médias aritméticas dos logaritmos dos títulos de aglutininas e de anticorpos inibidores do crescimento de leptospiras entre os grupos experimentais foi efetuada pelos testes não paramétricos de Kruskal Wallis ou U de Mann Whitney, quando indicado, empregando-se o programa SPSS, versão 12.0. O nível de significância adotado foi de 5%.

Os intervalos de confiança (95%) dos títulos de anticorpos neutralizantes anti-leptospiras foram calculados conforme Pizzi (1950).

## 5 RESULTADOS

A seguir, do item 5.1 a 5.3, são apresentados os resultados da SAM e ICL das matrizes suínas vacinadas e de seus respectivos leitões na primeira fase do experimento.

### 5.1 TÍTULOS DE ANTICORPOS AGLUTINANTES DE MATRIZES SUÍNAS IMUNIZADAS COM VACINAS EXPERIMENTAIS ANTI-LEPTOSPIROSE INATIVADAS, DE SUBUNIDADE E DE BACTÉRIA COMPLETA, ESTIRPE LO-4 DE SOROVAR Canicola – PRIMEIRA FASE

No grupo 1, controle, todos os animais permaneceram como não reagentes nas cinco avaliações efetuadas.

No gráfico 1, são apresentados os resultados em porcentagem, das matrizes suínas que receberam vacina com (LPS), ou de bactéria completa, produzidas com estirpe LO-4, do sorovar Canicola, segundo o tempo expresso em dias pos vacinação. Aos 32 dias da aplicação da primeira dose das vacinas, houve diferença ( $p= 0,035$ ) nos níveis de anticorpos aglutinantes, favorável para o grupo 2, vacina de subunidade - LPS.

Nas tabelas 1 e 2 são apresentados os resultados dos exames de SAM, dos grupos 2 e 3 de matrizes suínas vacinadas da primeira fase do experimento, e o momento da realização da colheita de sangue. No grupo 1, controle, todos os animais permaneceram como não reagentes nas cinco avaliações.



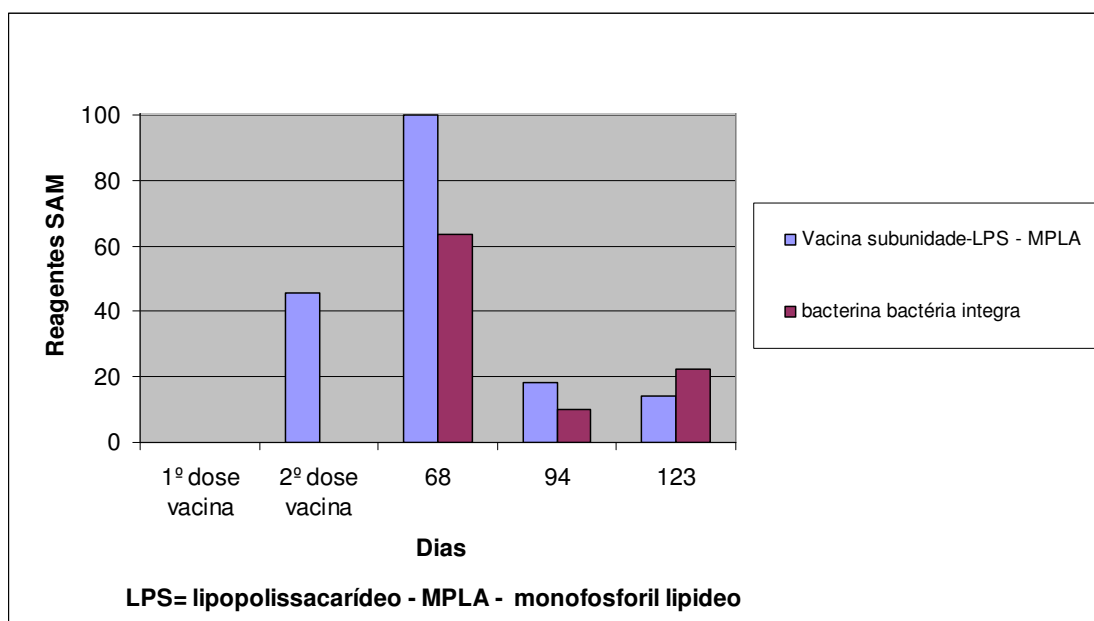


Gráfico 1 - Proporção de matrizes suínas apresentando títulos de anticorpos aglutinantes ( $\geq 2,004$ ) para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola, segundo o tipo de vacina e o tempo expresso em dias, pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

Tabela 1 - Títulos de anticorpos aglutinantes expressos em logaritmo de base 10, para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola em matrizes suínas imunizadas com vacina experimental de subunidade, LPS-MPLA produzida com a mesma estirpe, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 32º   | 68º   | 94º   | 123º  |
| AL 091                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 2,004 |
| AL 143                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 |
| AL 104                            | 0,000      | 2,004 | 2,303 | 0,000 | 0,000 |
| AL 060                            | 0,000      | 2,004 | 2,303 | 0,000 | ...   |
| AL 026                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,303 | ...   |
| AL 168                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 0,000 | ...   |
| AL 106                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,603 | 0,000 |
| AL 150                            | 0,000      | 2,004 | 2,303 | 0,000 | 0,000 |
| AL 053                            | 0,000      | 2,004 | 2,004 | 0,000 | 0,000 |
| TF 323                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | ...   |
| AA 102                            | 0,000      | 2,004 | 2,303 | 0,000 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,910 | 2,303 | 0,446 | 0,286 |
| DP                                | 0,000      | 1,047 | 0,134 | 0,995 | 0,757 |

LPS= lipopolissacarídeo; MPLA = monofosforil lipídeo A; MA = média aritmética; DP= desvio padrão; ... = não realizado.

Tabela 2 - Títulos de anticorpos aglutinantes expressos em logaritmo de base 10, para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola em matrizes suínas imunizadas com vacina experimental de bactérias completas, associada ao adjuvante de hidróxido de alumínio, produzida com a mesma estirpe, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |                 |                 |                 |                  |
|-----------------------------------|------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
|                                   | Zero       | 32 <sup>o</sup> | 68 <sup>o</sup> | 94 <sup>o</sup> | 123 <sup>o</sup> |
| AL 073                            | 0,000      | 0,000           | 2,303           | 2,303           | 2,303            |
| AL 145                            | 0,000      | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,000            |
| AL 203                            | 0,000      | 0,000           | 2,303           | 0,000           | 0,000            |
| AL 003                            | 0,000      | 0,000           | 2,303           | ...             | ...              |
| AL 163                            | 0,000      | 0,000           | 2,303           | 0,000           | 0,000            |
| AL 157                            | 0,000      | 0,000           | 2,303           | 0,000           | 0,000            |
| AL 071                            | 0,000      | 0,000           | 2,303           | 0,000           | 0,000            |
| AL 149                            | 0,000      | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 2,004            |
| AL 126                            | 0,000      | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,000            |
| AA 059                            | 0,000      | 0,000           | 0,000           | 0,000           | 0,000            |
| AA 064                            | 0,000      | 0,000           | 2,004           | 0,000           | ...              |
| MA                                | 0,000      | 0,000           | 1,438           | 0,230           | 0,479            |
| DP                                | 0,000      | 0,000           | 1,144           | 0,728           | 0,953            |

MA= média aritmética; DP= desvio padrão; ... = não realizado.

O gráfico 2 apresenta a curva dos títulos de anticorpos aglutinantes para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola de matrizes suínas vacinadas contra a leptospirose com as duas vacinas experimentais produzidas com a mesma estirpe.

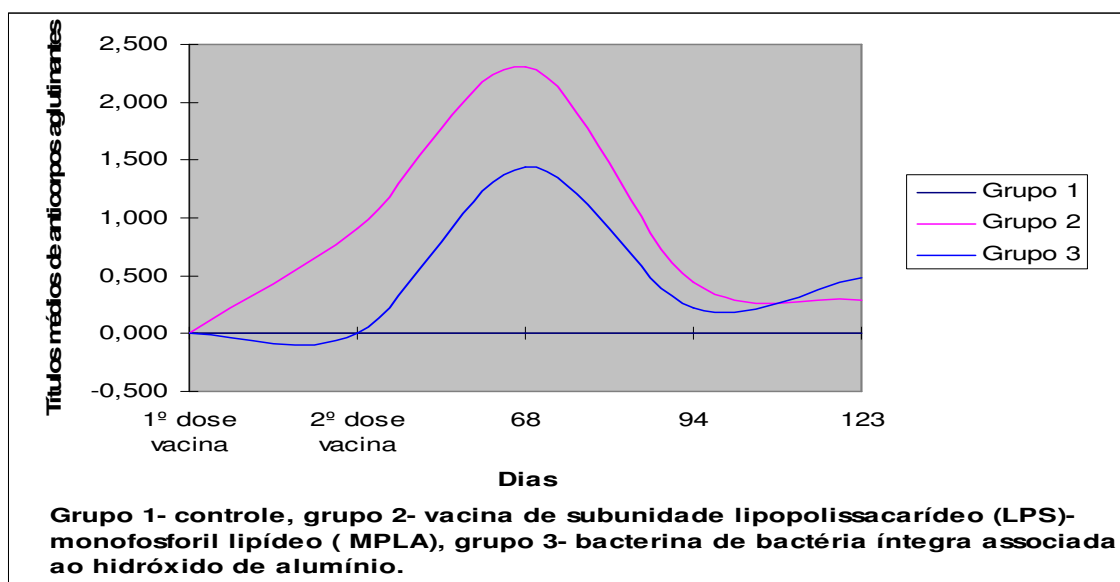


Gráfico 2 - Médias aritméticas dos títulos de anticorpos aglutinantes expressos em logaritmo de base 10 para a estirpe LO-4 do sorovar Canicola em matrizes suínas imunizadas com vacinas experimentais produzidas com a mesma estirpe, segundo o grupo, e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

Aos 32 e 68 dias pós primo-vacinação as médias aritméticas dos títulos de aglutininas para a estirpe LO-4, sorovar Canicola do grupo de matrizes suínas imunizadas com vacina de subunidade LPS-MPLA foram superiores às observadas no grupo bacterina com bactéria completa associada ao adjuvante de hidróxido de alumínio:  $p= 0,013$  e  $p= 0,031$ , respectivamente, para os dois momentos referidos. Nas outras colheitas as diferenças não foram significativas.

## 5.2 TÍTULOS DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES, TESTE DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE LEPTOSPIRAS (ICL) *IN VITRO* INDUZIDOS POR VACINAS EXPERIMENTAIS MONOVALENTES PRODUZIDAS COM A ESTIRPE LO-4 DE SOROVAR Canicola-PRIMEIRA FASE

As reações sorológicas detectadas no grupo 1, (controle) foram consideradas como inespecíficas e a média aritmética obtida neste grupo foi abatida dos resultados observados nos grupos vacinados.

Nas tabelas 3 e 4 são apresentados os resultados dos exames de ICL, dos grupos 2 e 3 da primeira fase do experimento e o momento da realização da colheita de sangue. No grupo 1 (controle), os soros sanguíneos dos animais foram não reagentes nas cinco avaliações.

Tabela 3 - Títulos de anticorpos neutralizantes expressos em logaritmo de base 10 e respectivos intervalos de confiança (95%) para a estirpe LO-4 sorovar Canicola, de matrizes suínas imunizadas com vacina experimental de subunidade, LPS-MPLA, produzida com a mesma estirpe, segundo o número de identificação e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i>  |             |             |             |             |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                                   | Zero        | 32º         | 68º         | 94º         | 123º        |
| AL 091                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,000±0,083 | 0,136±0,230 | 0,000±0,000 |
| AL 143                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,099±0,011 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AL 104                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,192±0,153 | 0,000±0,000 | 1,126±0,136 |
| AL 060                            | 0,000±0,000 | 0,043±0,043 | 0,015±0,047 | 0,186±0,071 | 0,373±0,223 |
| AL 026                            | 0,000±0,000 | 0,826±0,826 | 0,483±0,000 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AL 168                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,393±0,078 | 0,000±0,000 | 0,486±0,256 |
| AL 106                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,000±0,122 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AL 150                            | 0,000±0,000 | 0,675±0,000 | 0,175±0,071 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AA 053                            | 0,000±0,000 | 0,374±0,031 | 0,127±0,106 | 0,046±0,000 | 0,000±0,000 |
| TF 323                            | 0,000±0,000 | 0,007±0,080 | 0,400±0,025 | 0,016±0,023 | ...         |
| AA 102                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,250±0,000 | 0,000±0,000 | 0,012±0,000 |
| MA / IC 95%                       | 0,000±0,000 | 0,175±0,021 | 0,194±0,063 | 0,035±0,036 | 0,200±0,061 |

LPS=lipopolissacarídeo; MPLA= monofosforil lipídeo A; MA= média aritmética; ... = não realizado.

Tabela 4 - Títulos de anticorpos neutralizantes expressos em logaritmo de base 10 e respectivos intervalos de confiança (95%) para a estirpe LO-4 sorovar Canicola, de matrizes suínas imunizadas com bacterina experimental de bactéria completa, produzida com a mesma estirpe, segundo o número de identificação e o tempo exposto em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i>  |             |             |             |             |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                                   | Zero        | 32º         | 68º         | 94º         | 123º        |
| AL 073                            | 0,000±0,000 | 0,705±0,040 | 0,514±0,000 | 0,016±0,023 | 0,000±0,000 |
| AL 145                            | 0,000±0,000 | 0,617±0,000 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AL 203                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | ...         | 0,016±0,023 | 0,000±0,000 |
| AL 003                            | 0,000±0,000 | 0,161±0,070 | 0,112±0,168 | ...         | ...         |
| AL 163                            | 0,000±0,000 | 0,530±0,000 | 0,246±0,121 | 0,106±0,174 | 0,000±0,000 |
| AL 157                            | 0,000±0,000 | 0,675±0,010 | 0,062±0,156 | 0,016±0,023 | 0,000±0,000 |
| AL 071                            | 0,000±0,000 | 0,765±0,000 | 0,000±0,145 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AL 149                            | 0,000±0,000 | 0,166±0,048 | 0,142±0,061 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AL 126                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,032 | 0,112±0,052 | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AA 059                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,000±0,176 | 0,136±0,094 | 0,000±0,000 |
| AA 064                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,000±0,052 | 0,136±0,094 | 0,674±0,000 |
| MA / IC 95%                       | 0,000±0,000 | 0,329±0,017 | 0,118±0,093 | 0,042±0,043 | 0,061±0,000 |

MA= média aritmética; ... = não realizado.

O gráfico 3 apresenta a curva de títulos de anticorpos neutralizantes de matrizes suínas vacinadas contra a leptospirose com vacinas produzidas com a estirpe LO-4 do sorovar Canicola. No grupo 1, controle, grupo 2, vacina de LPS e MPLA. No grupo 3, bacterina de bactéria completa associada ao hidróxido de alumínio.

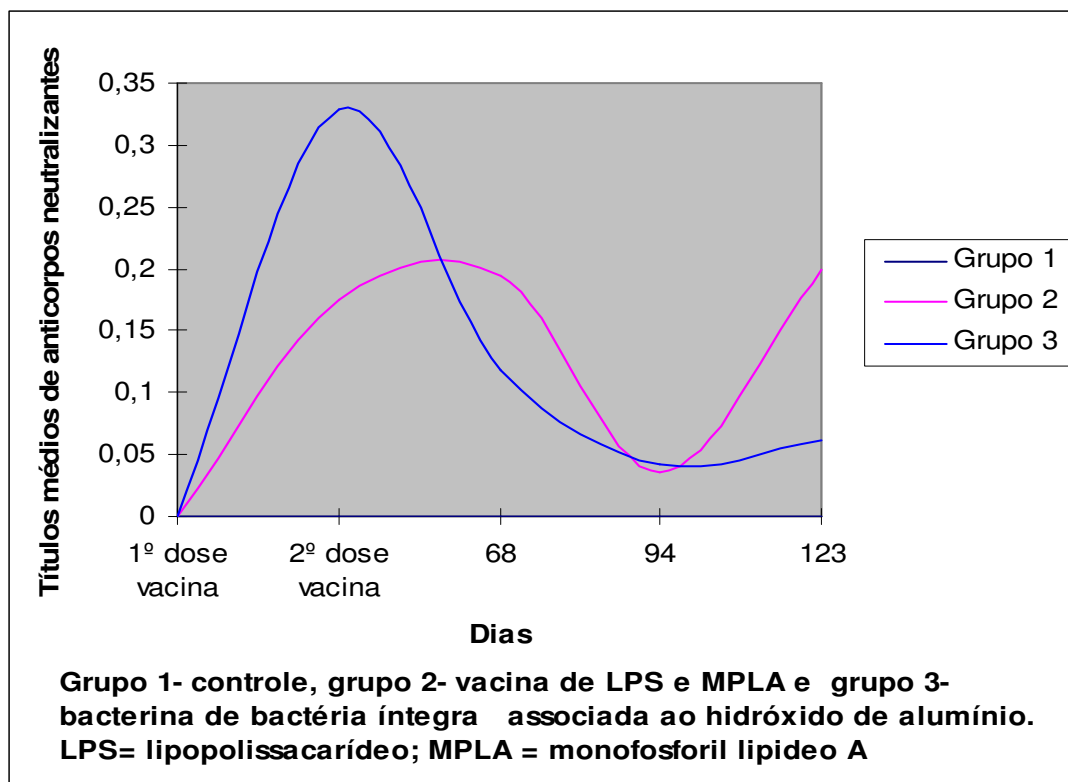


Gráfico 3 - Títulos médios de anticorpos neutralizantes em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com vacinas produzidas com a estirpe LO-4 do sorovar Canicola, segundo o grupo experimental, e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

Aos 32 dias pós primo-vacinação, a vacina de subunidade LPS-MPLA apresentou título com valor absoluto inferior ao induzido com a bactéria de bactéria completa, já nas colheitas efetuadas aos 68 e 123 dias, os resultados foram inversos, contudo as diferenças observadas em valores absolutos não foram significantes ( $p > 0,05$ ) em todas as colheitas efetuadas.

### 5.3 TÍTULOS DE ANTICORPOS AGLUTINANTES E NEUTRALIZANTES EM LEITÕES NASCIDOS DE MATRIZES SUÍNAS VACINADAS COM VACINAS ANTI-LEPTOSPIROSE MONOVALENTES EXPERIMENTAIS PRODUZIDAS COM A ESTIRPE LO-4 DO SOROVAR Canicola – PRIMEIRA FASE

Os exames de SAM e ICL efetuados em 14 leitões nascidos das matrizes suínas do grupo 1, (controle), apresentaram resultados negativos.

Na tabela 5, são apresentados os resultados de ICL dos grupos 2 e 3. Foram submetidos ao teste de inibição de crescimento de leptospiras duas leitegadas por grupo aos trinta dias de vida, examinando-se o “pool” dos soros dos leitões por leitegada, constituindo-se cada “pool” da mistura de volumes iguais dos soros de nove animais. Os intervalos de confiança obtidos apresentam superposição de valores, demonstrando a ausência de diferença entre os níveis de anticorpos induzidos pelas duas vacinas experimentais testadas.

Tabela 5 - Títulos de anticorpos neutralizantes e o respectivo intervalo de confiança (IC 95%) expressos em logaritmo de base 10 para a estirpe LO-4, sorovar Canicola, de leitões nascidos de matrizes suínas imunizadas com vacinas contra a leptospirose produzidas com a mesma estirpe segundo o grupo experimental, e colheita de sangue efetuado no 30º dia de vida - São Paulo - 2006

| Grupo      | Nº. de animais | <b>Anticorpos neutralizantes e IC (95%)</b> |
|------------|----------------|---|
| 2          | 09             | 1,013±0,386                                 |
| 2          | 09             | 0,652±0,433                                 |
| 3          | 09             | 1,204±0,192                                 |
| 3          | 09             | 0,657±0,192                                 |
| MA grupo 2 | -              | 0,832±0,409                                 |
| MA grupo 3 | -              | 0,930±0,192                                 |

Grupo 2= vacina de subunidade lipopolissacarídeo (LPS)- monofosforil lipídeo ( MPLA); grupo 3= bacterina de bactéria completa associada ao hidróxido de alumínio; MA= média aritmética; Nº. = número.

#### 5.4 RESULTADOS DO TESTE DE POTÊNCIA DE VACINA EXPERIMENTAL- LPS- MPLA ANTI- LEPTOSPIROSE EM HAMSTERS- PRIMEIRA FASE

Todos os animais do grupo não vacinado morreram por leptospirose. No grupo de animais vacinados com a vacina pura e desafiados com leptospiras virulentas da própria estirpe empregada na produção da vacina na concentração  $10^{-2}$  houve oito sobreviventes.

#### 5.5 TÍTULOS DE ANTICORPOS AGLUTINANTES DE MATRIZES SUÍNAS IMUNIZADAS COM BACTERINAS COMERCIAIS ANTI - LEPTOSPIROSE DE BACTÉRIAS COMPLETAS, GRUPOS A E B- SEGUNDA FASE

Do item 5.5 a 5.7, são apresentados os resultados da SAM e ICL das matrizes suínas vacinadas e de seus leitões na segunda fase do experimento.

Nos gráficos de 4 a 10, são apresentadas as proporções de matrizes suínas da segunda fase, reagentes (título $\geq$ 2,004) na prova de SAM aplicada à leptospirose, segundo os sorovares incluídos nas bacterinas ensaiadas e o tempo em dias pós primo-vacinação.



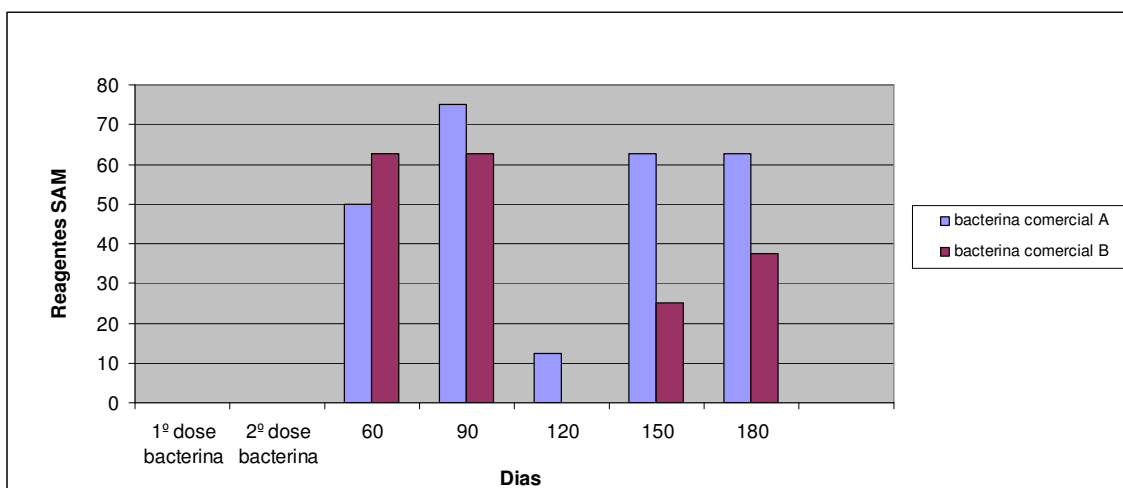


Gráfico 4 - Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Bratislava segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

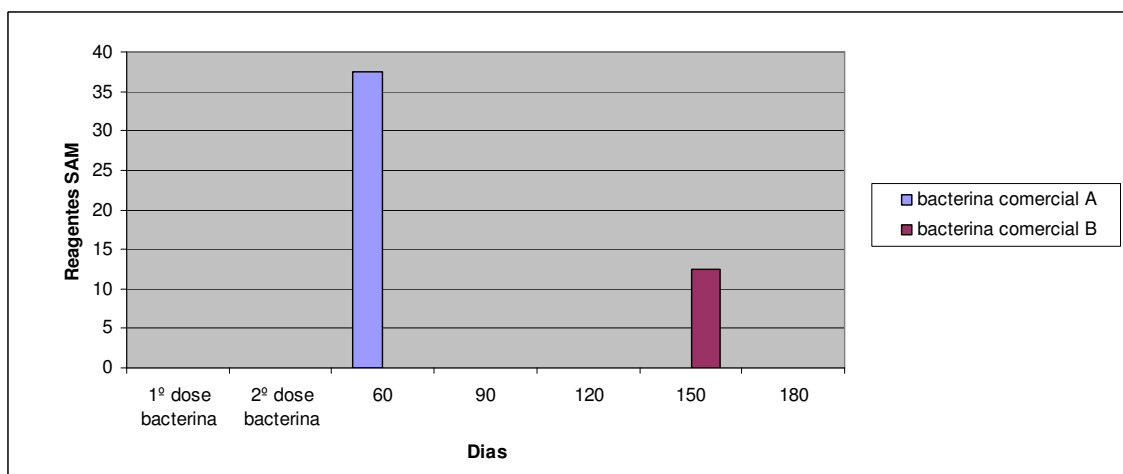


Gráfico 5-Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Canicola segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

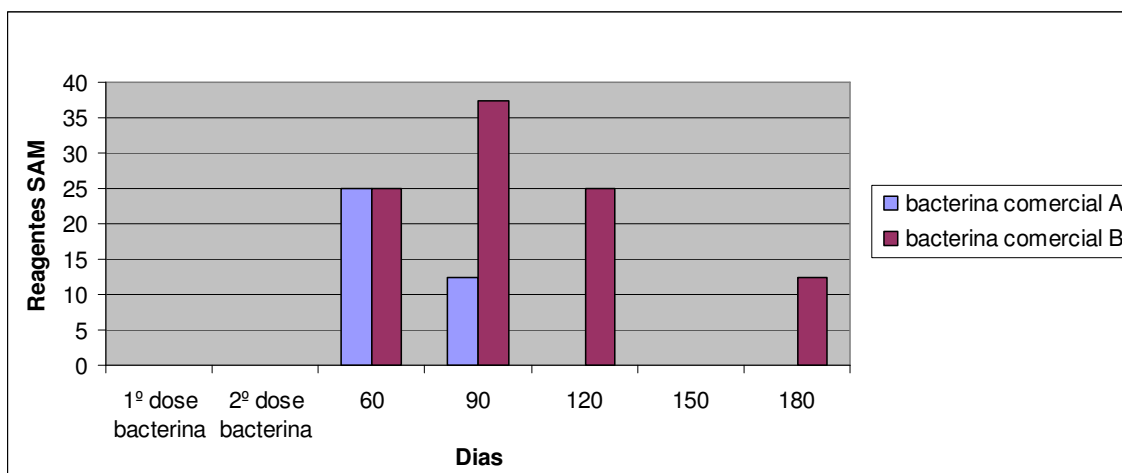


Gráfico 6 - Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterina comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Grippotyphosa segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

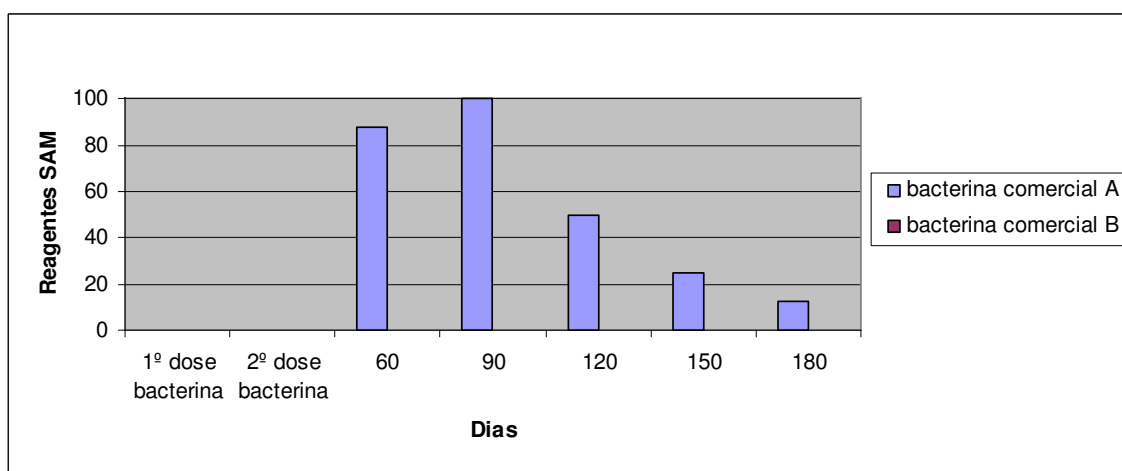


Gráfico 7- Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Copenhageni segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo- 2006

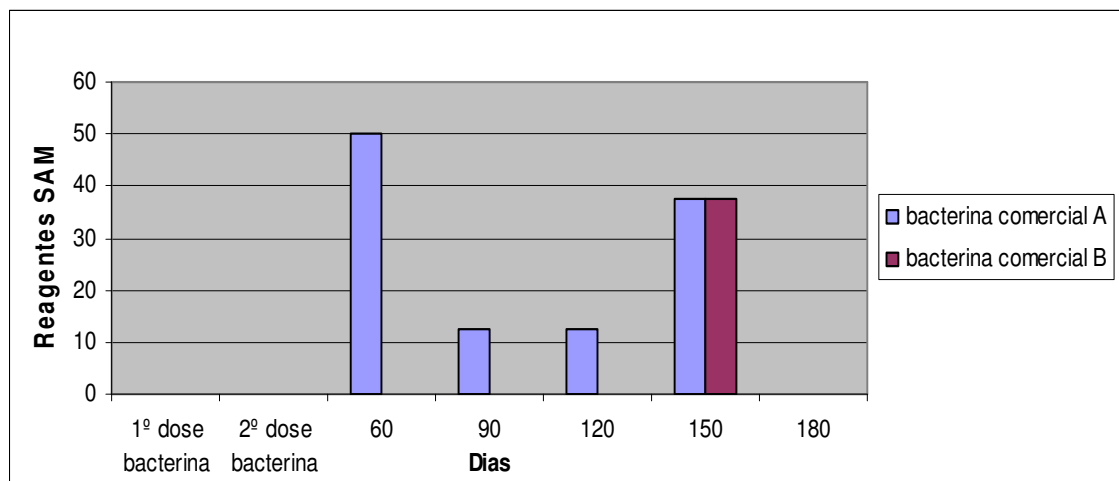


Gráfico 8 - Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Icterohaemorrhagiae segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

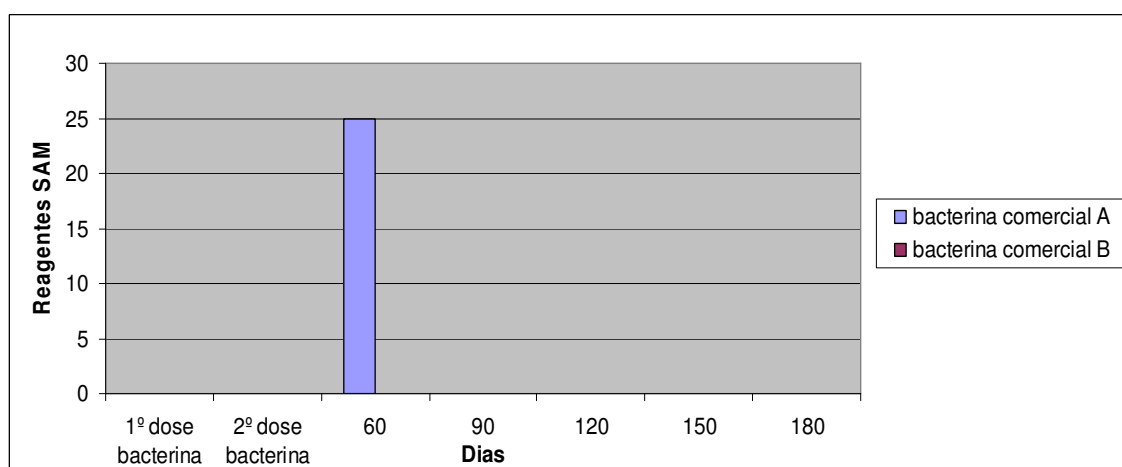


Gráfico 9 - Matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Pomona segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

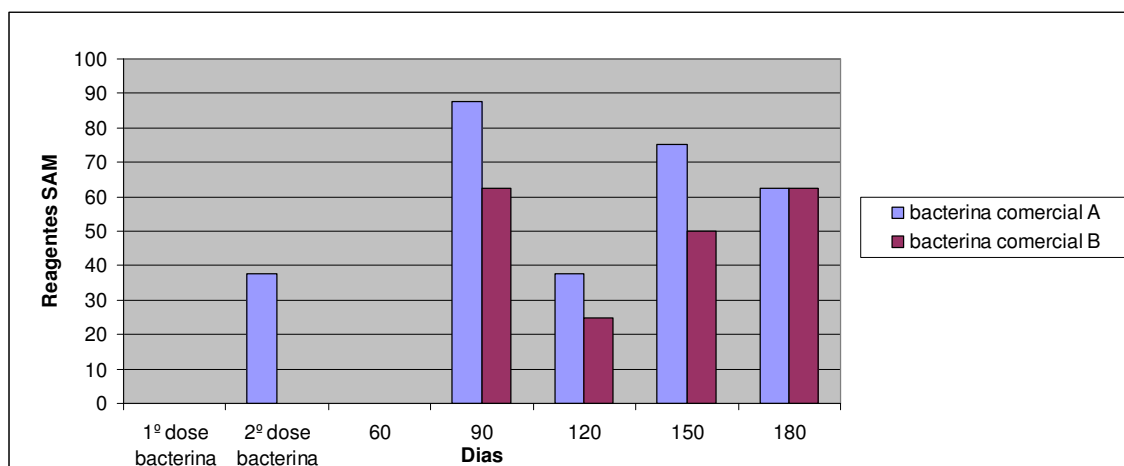


Gráfico 10 - Matrices suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais. Proporção de animais reagentes para o sorovar Hardjo segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

O grupo C, controle, permaneceu como não reagente com os 24 sorovares de leptospiros utilizados no teste de SAM, durante todo o período de avaliação. Para a bacterina comercial B não houve animais reagentes ao teste de SAM aplicada à leptospirose com os sorovares Pomona e Copenhageni. Os percentuais de animais reatores variaram com o sorovar e com o momento pós primo-vacinação em que foi realizada a colheita de sangue. Aos 60 dias da aplicação da primeira dose das bacterinas, houve diferença significativa entre as proporções de animais reagentes para os sorovares Icterohaemorrhagiae e Hardjo,  $p= 0,038$  e  $p< 0,01$ , respectivamente. Aos 90 dias pós primo-vacinação, a proporção de animais reagentes,  $SAM \geq 2,004$  diferiu entre as bacterinas para o sorovar Hardjo,  $p< 0,001$ .

Nas tabelas 6 a 17, são apresentados os títulos de anticorpos aglutinantes expressos em logaritmo de base 10 das matrices suínas imunizadas com duas bacterinas comerciais polivalentes anti-leptospirose segundo o sorovar reator, o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação. Nos gráficos 6 a 17, são apresentados os títulos médios de anticorpos aglutinantes de matrices suínas imunizadas com bacterinas comerciais polivalentes anti-leptospirose, A e B, segundo o sorovar reator.

Tabela 6 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Bratislava, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 064                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 2,004 | 0,000 | 0,000 |
| AL 028                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 060                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 2,004 |
| AL 054                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,603 | 0,000 | 2,004 | 2,004 |
| AL 099                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 2,303 | 0,000 | 2,004 | 2,303 |
| AL 188                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 176                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 2,303 | 0,000 | 2,303 | 2,004 |
| AL 187                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 2,303 | 0,000 | 2,303 | 2,004 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 1,264 | 1,727 | 0,250 | 1,327 | 1,289 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 1,355 | 1,078 | 0,709 | 1,106 | 1,073 |

MA=média aritmética; DP= desvio padrão.

Tabela 7 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Bratislava, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 016                            | 0,000      | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,004 |
| AL 079                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 045                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 076                            | 0,000      | 0,000 | 2,004 | 2,303 | 0,000 | 2,004 | 2,303 |
| AL 121                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 179                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,303 | 0,000 | 2,004 | 2,303 |
| AL 178                            | 0,000      | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 061                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 1,327 | 1,327 | 0,000 | 0,501 | 0,826 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 1,106 | 1,106 | 0,000 | 0,927 | 1,444 |

MA= média aritmética; DP= desvio padrão.

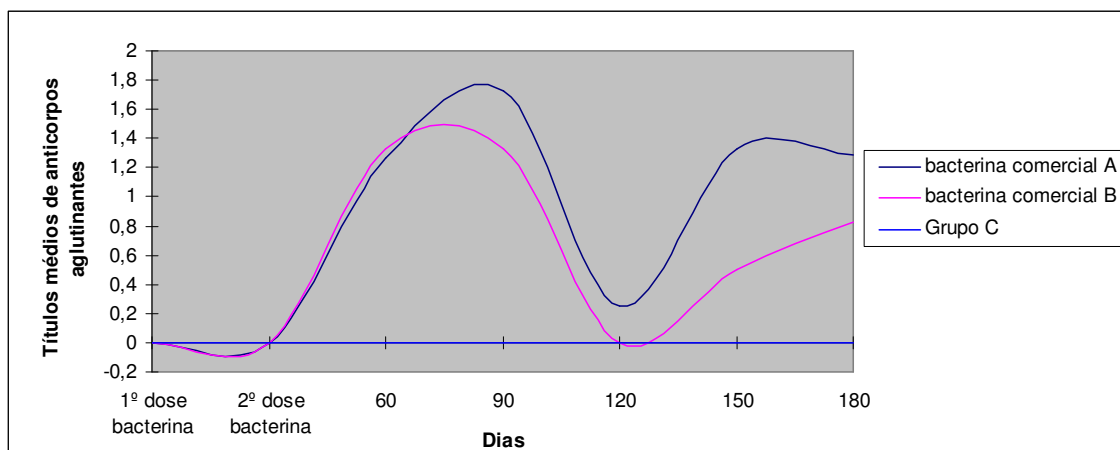


Gráfico 11 - Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Bratislava de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

Tabela 8 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Canicola, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 064                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 028                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 060                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 054                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 099                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 188                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 176                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 187                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 0,863 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 1,192 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

MG= média aritmética; DP= desvio padrão.

Tabela 9 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Canicola, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 016                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 079                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 045                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 076                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 121                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 179                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 0,000 |
| AL 178                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 061                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,288 | 0,000 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,814 | 0,000 |

MG=média aritmética; DP= desvio padrão.

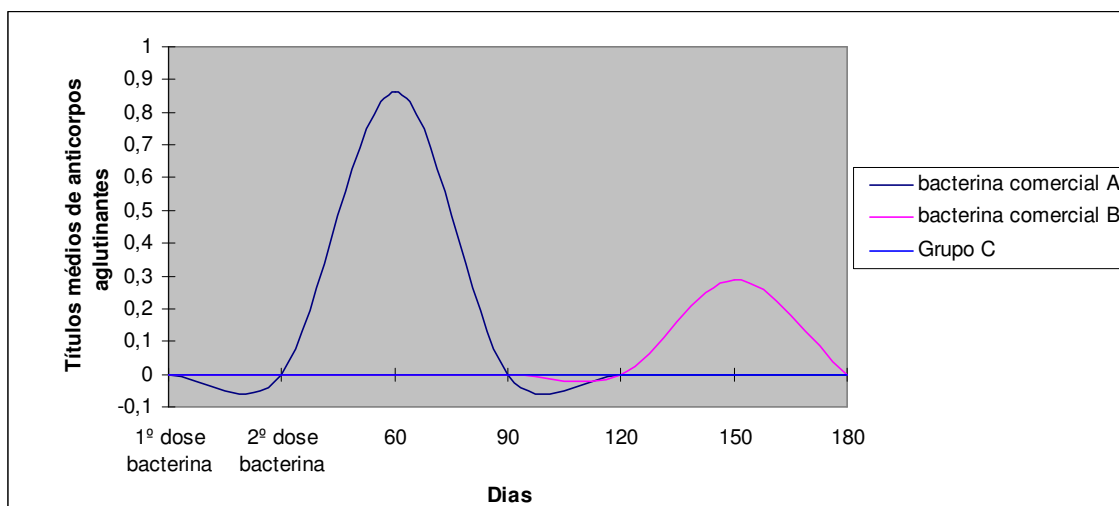


Gráfico 12 - Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Canicola de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

Tabela 10 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Grippotyphosa, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 064                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 028                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 060                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 054                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 099                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 188                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 176                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 187                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 0,613 | 0,250 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 1,138 | 0,708 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

MA= média aritmética; DP= desvio padrão.

Tabela 11 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Grippotyphosa, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 016                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 079                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 045                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,303 | 2,303 | 0,000 | 0,000 |
| AL 076                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 121                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 179                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 178                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 061                            | 0,000      | 0,000 | 2,904 | 2,303 | 2,004 | 0,000 | 2,303 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 0,651 | 0,826 | 0,538 | 0,000 | 0,288 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 1,216 | 1,144 | 1,000 | 0,000 | 0,814 |

MA= média aritmética; DP= desvio padrão.



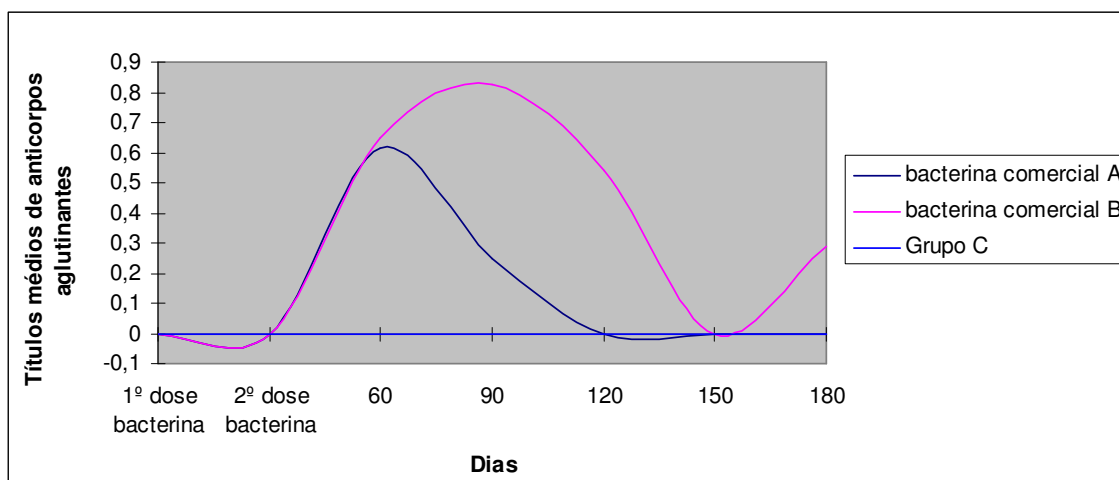


Gráfico 13 - Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Grippotyphosa de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

Tabela 12 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 064                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,303 | 2,004 | 0,000 | 0,000 |
| AL 028                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 060                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 054                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 099                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 2,603 | 2,303 | 2,303 | 2,303 |
| AL 188                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 176                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 2,303 | 2,303 | 2,004 | 0,000 |
| AL 187                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 2,004 | 2,004 | 0,000 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 2,128 | 2,266 | 1,076 | 0,538 | 0,288 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 0,872 | 0,191 | 1,157 | 1,000 | 0,814 |

MA= média aritmética; DP= desvio padrão.

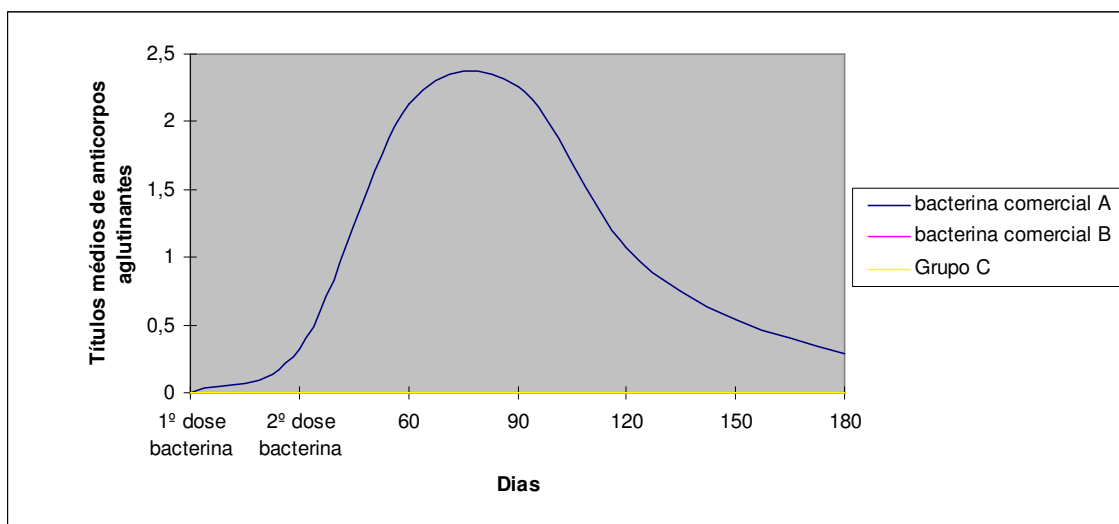


Gráfico 14 - Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Copenhageni de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

Tabela 13 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 064                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 028                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 060                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 |
| AL 054                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 099                            | 0,000      | 0,000 | 2,004 | 2,004 | 2,004 | 2,004 | 0,000 |
| AL 188                            | 0,000      | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 176                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 187                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 1,077 | 0,250 | 0,250 | 0,789 | 0,000 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 1,156 | 0,708 | 0,708 | 1,092 | 0,000 |

MA=média aritmética, DP= desvio padrão.

Tabela 14 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 016                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 079                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 045                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 076                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 121                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 179                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 0,000 |
| AL 178                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 |
| AL 061                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,789 | 0,000 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 1,092 | 0,000 |

MA= média aritmética ;DP= desvio padrão.

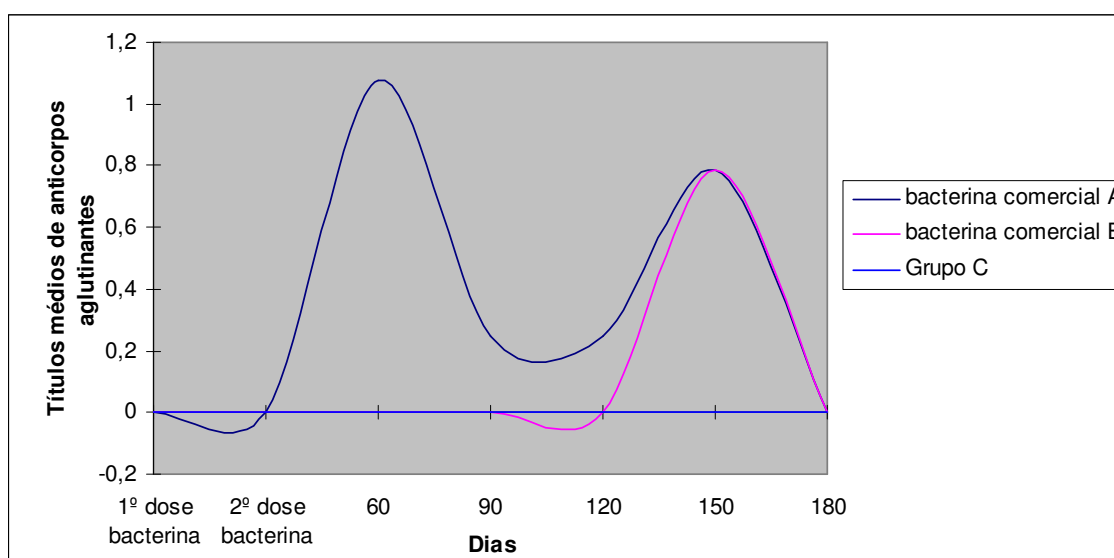


Gráfico 15 - Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Icterohaemorrhagiae de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006.

Tabela 15 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Pomona, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 064                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 028                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 060                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 054                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 099                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 188                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 176                            | 0,000      | 0,000 | 2,603 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 187                            | 0,000      | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 0,613 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 1,138 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

MA= média aritmética; DP= desvio padrão.

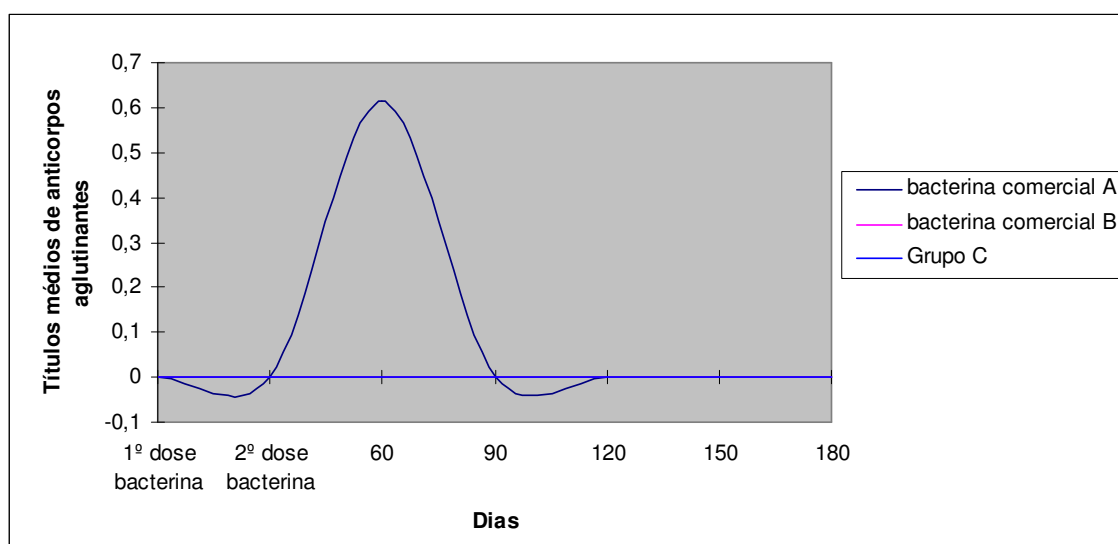


Gráfico 16 - Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Pomona de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

Tabela 16 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial A, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 064                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,603 | 2,602 | 0,000 | 0,000 |
| AL 028                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 060                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 3,204 | 2,602 | 2,303 |
| AL 054                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,603 | 0,000 | 2,602 | 2,303 |
| AL 099                            | 0,000      | 2,303 | 0,000 | 2,904 | 3,204 | 2,903 | 2,904 |
| AL 188                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 2,301 | 0,000 |
| AL 176                            | 0,000      | 2,603 | 0,000 | 2,904 | 0,000 | 2,903 | 2,303 |
| AL 187                            | 0,000      | 2,303 | 0,000 | 2,603 | 0,000 | 2,903 | 2,303 |
| MA                                | 0,000      | 0,901 | 0,000 | 2,240 | 1,126 | 2,027 | 1,514 |
| DP                                | 0,000      | 1,247 | 0,000 | 0,942 | 1,565 | 1,268 | 1,270 |

MA=média aritmética; DP= desvio padrão.

Tabela 17 - Títulos de anticorpos aglutinantes para a *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo, expressos em logaritmo de base 10, de matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial B, segundo o número de identificação do animal e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i> |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | Zero       | 30°   | 60°   | 90°   | 120°  | 150°  | 180°  |
| AL 016                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 2,004 |
| AL 079                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 045                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| AL 076                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,603 | 2,903 | 2,603 | 2,303 |
| AL 121                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,004 | 0,000 | 0,000 | 2,303 |
| AL 179                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 3,204 | 2,603 | 2,603 |
| AL 178                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 0,000 |
| AL 061                            | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,303 | 2,004 |
| MA                                | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 1,402 | 0,763 | 1,226 | 1,402 |
| DP                                | 0,000      | 0,000 | 0,000 | 1,176 | 1,416 | 1,316 | 1,176 |

MA= média aritmética; DP= desvio padrão.

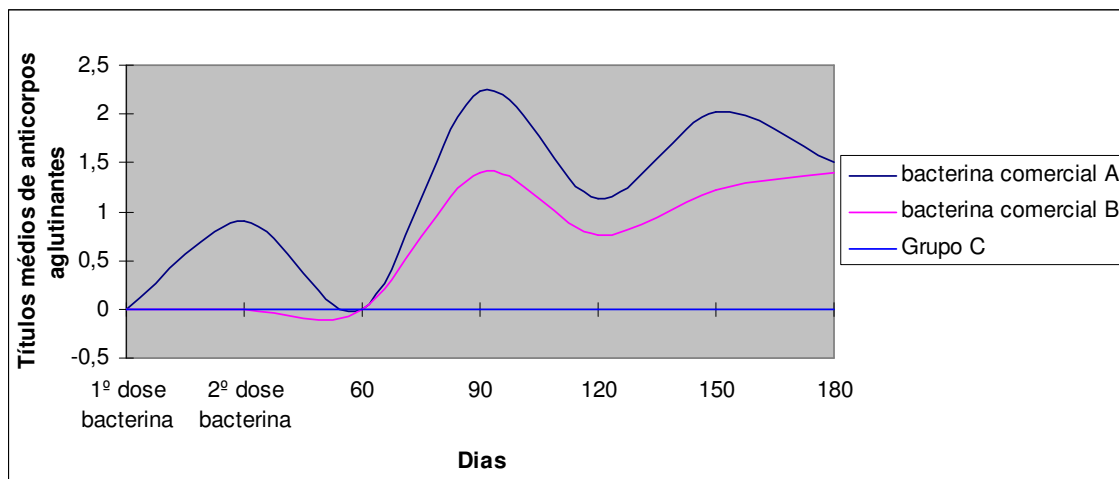


Gráfico 17 - Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Hardjo de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós-primovacinação - São Paulo - 2006

As comparações dos títulos de anticorpos aglutinantes dos grupos A e B apresentaram significância ( $p < 0,05$ ) para os sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae entre as bacterinas comerciais aos 60, 90 e 120 dias pós-vacinação. Não houve diferença estatística nos grupos tratados no dia zero, 30, 150 e 180 pós-vacinação. Aos 60 dias pós-vacinação, houve diferença estatística para o sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae com valores de  $p = 0,001$  e  $p = 0,027$ , respectivamente. Aos 90 e 120 dias pós-vacinação, para o sorovar Copenhageni com valores de  $p = 0,001$  e  $p = 0,027$ , respectivamente.

## 5.6 MATRIZES SUÍNAS - INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE LEPTOSPIRAS (ICL) - SEGUNDA FASE

Nas tabelas de 18 a 19 e gráfico 18, são apresentados os resultados dos exames de ICL, dos grupos de matrizes suínas vacinadas A e B da segunda fase do experimento e o momento da realização da colheita de sangue. Os animais do grupo C, controle, não foram reagentes. As comparações de títulos de anticorpos neutralizantes dos grupos A e B apresentaram diferença significativa aos 150 dias, com valor de  $p = 0,021$ .

Tabela 18 - Matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial anti-leptospirose A. Títulos de anticorpos neutralizantes para o sorovar Hardjo de bacterina comercial A expressos em logaritmo de base 10, e o respectivo intervalo de confiança (IC 95%) segundo a identificação do animal e o momento da realização da colheita de sangue - São Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i>  |                 |                 |                 |                  |                  |                  |
|-----------------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
|                                   | Zero        | 30 <sup>º</sup> | 60 <sup>º</sup> | 90 <sup>º</sup> | 120 <sup>º</sup> | 150 <sup>º</sup> | 180 <sup>º</sup> |
| AL 064                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000     | 0,052±0,096     | 0,000±0,000     | 0,842±0,000      | 0,476±0,045      | 0,360±0,000      |
| AL 028                            | 0,000±0,000 | 0,121±0,016     | 0,216±0,123     | 0,000±0,000     | 0,000±0,000      | 0,000±0,000      | 0,616±0,180      |
| AL 060                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,101     | 0,000±0,146     | 0,117±0,000     | 0,395±0,168      | 0,691±0,031      | 0,008±0,156      |
| AL 054                            | 0,000±0,000 | 0,202±0,000     | 0,429±0,073     | 0,126±0,000     | 0,852±0,089      | 0,865±0,121      | 0,698±0,196      |
| AL 099                            | 0,000±0,000 | 0,570±0,033     | 0,000±0,000     | 0,531±0,000     | 0,882±0,039      | 0,105±0,000      | 0,000±0,000      |
| AL 188                            | 0,000±0,000 | ...             | 0,000±0,000     | 0,627±0,000     | 0,000±0,000      | 0,175±0,037      | 0,000±0,062      |
| AL 176                            | 0,000±0,000 | ...             | 0,290±0,000     | 0,702±0,000     | 0,641±0,031      | 0,000±0,037      | 0,452±0,000      |
| AL 187                            | 0,000±0,000 | 0,292±0,000     | 0,000±0,000     | 0,000±0,000     | 0,905±0,000      | 0,175±0,000      | 0,209±0,084      |
| Média aritmética                  | 0,000±0,000 | 0,197±0,025     | 0,123±0,055     | 0,263±0,000     | 0,564±0,040      | 0,310±0,033      | 0,292±0,066      |

... = não realizado.

Tabela 19 - Matrizes suínas imunizadas com bacterina comercial anti- leptospirose B. Títulos de anticorpos neutralizantes para o sorovar Hardjo de bacterina comercial B expressos em logaritmo de base 10 e respectivo o intervalo de confiança (IC 95%) segundo a identificação do animal e o momento da realização da colheita de sangue - São - Paulo - 2006

| Número de identificação da matriz | <i>Dia</i>  |             |             |             |               |             |             |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|
|                                   | Zero        | 30º         | 60º         | 90º         | 120 º         | 150º        | 180º        |
| AL 016                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,034 | ...         | 0,000±0,038 | 0,822±0,127   | 0,000±0,000 | 0,151±0,118 |
| AL 079                            | 0,000±0,000 | 0,210±0,018 | 0,466±0,000 | 0,025±0,000 | 0,708±0,201   | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AL 045                            | 0,000±0,000 | ...         | 0,199±0,084 | 0,387±0,000 | 0,150±0,000   | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 |
| AL 076                            | 0,000±0,000 | 0,040±0,308 | 0,336±0,235 | 0,514±0,000 | 0,679±0,000   | 0,000±0,000 | 0,209±0,084 |
| AL 121                            | 0,000±0,000 | ...         | 0,000±0,000 | 0,275±0,430 | 0,000±0,000   | 0,000±0,000 | 0,000±0,066 |
| AL 179                            | 0,000±0,000 | 0,000±0,000 | 0,158±0,023 | 0,406±0,000 | 0,190±0,051   | 0,150±0,245 | 0,000±0,000 |
| AL 178                            | 0,000±0,000 | ...         | 0,000±0,076 | 0,446±0,000 | 0,491±0,227   | 0,000±0,000 | 0,360±0,258 |
| AL 061                            | 0,000±0,000 | ...         | 0,000±0,000 | 0,717±0,000 | 0,000±0,000   | 0,000±0,000 | 0,118±0,135 |
| MA                                | 0,000±0,000 | 0,062±0,090 | 0,165±0,026 | 0,346±0,058 | 0,380± 0, 096 | 0,018±0,029 | 0,104±0,082 |

MA= média aritmética; ... = não realizado.



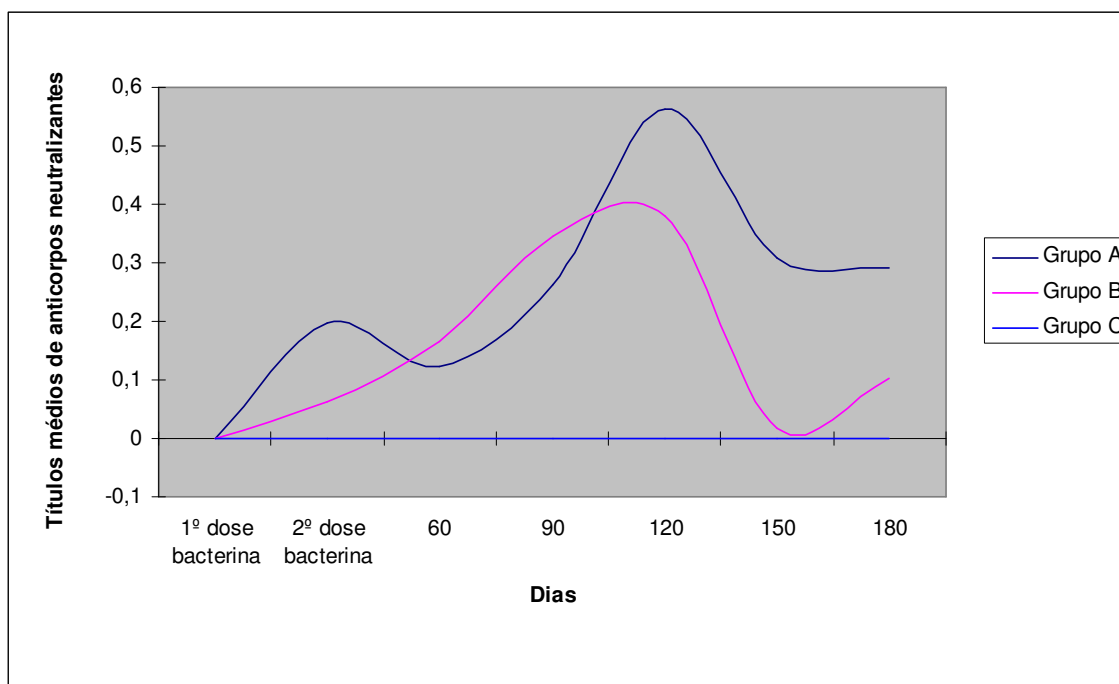


Gráfico 18 - Títulos médios de anticorpos neutralizantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Hardjo, de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais, segundo a bacterina e o tempo expresso em dias pós primo-vacinação - São Paulo - 2006

## 5.7 SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM) E INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE LEPTOSPIRAS (ICL) DE LEITÕES - SEGUNDA FASE

Nos exames de SAM dos leitões nascidos das matrizes suínas imunizadas com bacterina A e das do grupo C (controle, não vacinadas), da segunda fase do experimento, totalizando respectivamente 98 e 46 animais, nas quatro faixas etárias avaliadas, não houve reagentes aos sorovares presentes na bacterina. Os leitões, nascidos das matrizes suínas imunizadas com bacterina B, apresentaram reações com títulos  $\geq 2,004$  para os sorovares Hardjo e Bratislava, tabela 20.

Tabela 20 - Leitões filhos de matrizes suínas vacinadas com bacterina comercial anti-leptospirose - B. Proporção de reatores e respectivas médias de títulos de anticorpos aglutinantes segundo o sorovar de leptospira e o tempo expresso em dias após a ingestão do colostro - São Paulo - 2006

| Idade média | Proporção de reagentes para qualquer sorovar (%) | Proporção de reagentes para sorovar Hardjo | TMAA sorovar Hardjo | Proporção de reagentes sorovar Bratislava | <b>TMAA sorovar Bratislava</b> |
|-------------|--|--|---------------------|---|--------------------------------|
| 03          | 11/ 25*<br>(44%)                                 | 10/25<br>(40%)                             | 0,912               | 4/25 (16%)                                | 0,357                          |
| 08          | 8/39<br>(21%)                                    | 8/39<br>(21%)                              | 0,472               | 0/39<br>(0%)                              | 0,000                          |
| 12          | 0/15<br>(0%)                                     | 0/15<br>(0%)                               | 0,000               | 0/15<br>(0%)                              | 0,000                          |
| 19          | 0/ 4<br>(0%)                                     | 0/4<br>(0%)                                | 0,000               | 0/4<br>(0%)                               | 0,000                          |
| Total       | 19/83<br>(22,89%)                                | 18/83<br>(21,68%)                          | ...                 | 4/83<br>(4,81%)                           | ...                            |
| Média       | ...  | ...  | 0,517               | ...                                       | 0,107                          |

% - porcentagem, TMAA- título médio de anticorpos aglutinantes \* reagentes/ examinados.  
...= dado não disponível

Nos gráficos 19 e 20, são apresentados os títulos médios de anticorpos aglutinantes para os sorovares Hardjo e Bratislava dos leitões, nascidos de matrizes suínas vacinadas com bacterinas comerciais polivalentes anti-leptospirose A ou B, bem como do grupo controle, não vacinado.

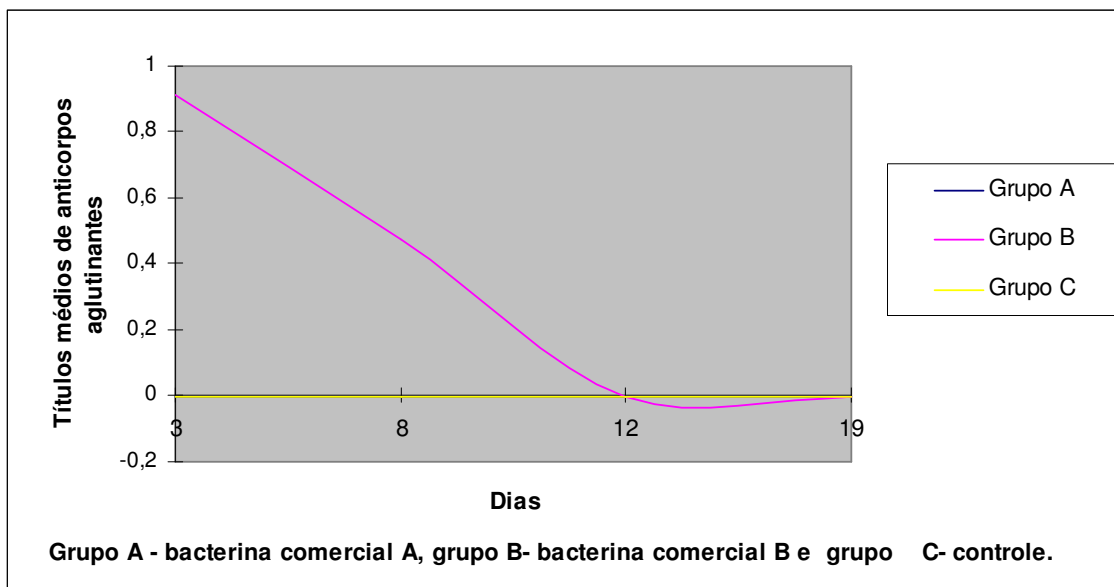


Gráfico 19 - Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Hardjo, de leitões nascidos de matrizes suínas imunizadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, segundo a bacterina e a idade dos animais expressa em dias - São Paulo - 2006

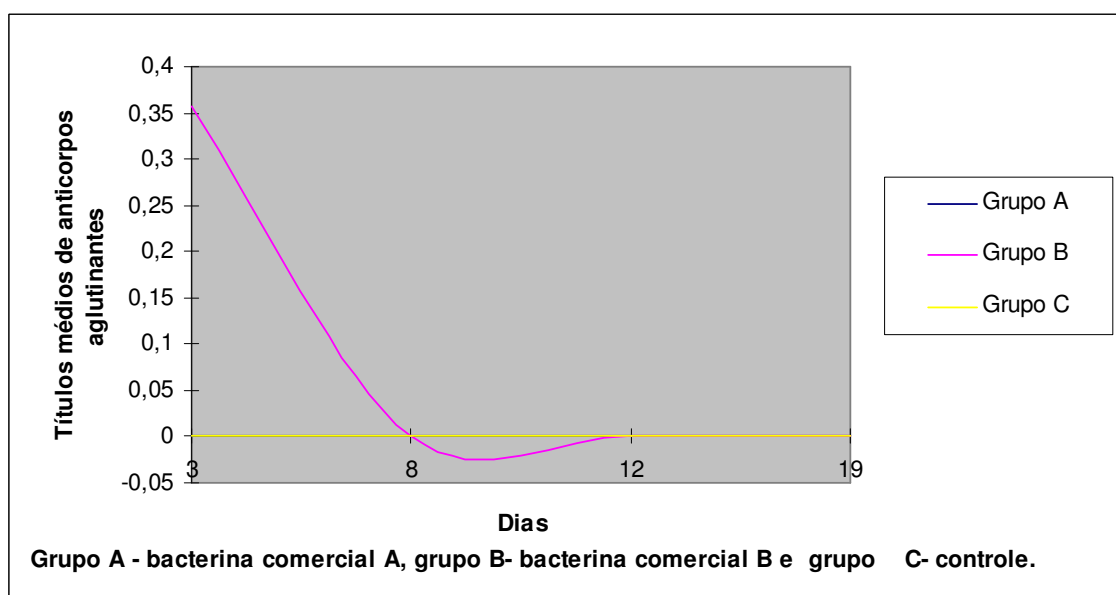


Gráfico 20-Títulos médios de anticorpos aglutinantes em logaritmo de base 10, para o sorovar Bratislava, de leitões nascidos de matrizes suínas vacinadas contra a leptospirose com bacterinas comerciais A e B, grupos A e B e grupo C, controle, de acordo com a idade em dias - São Paulo - 2006

No teste de ICL todos os “pools” dos leitões dos grupos A, B e C, nas quatro faixas etárias avaliadas da segunda fase do experimento, totalizando 98, 83 e 46 animais foram não reagentes.

## 5.8 RESULTADOS DO TESTE DE POTÊNCIA DE BACTERINAS COMERCIAIS ANTI-LEPTOSPIROSE EM HAMSTERS – SEGUNDA FASE

Nas tabelas 21 e 22 são apresentados os resultados do teste de potência de bacterinas comerciais anti-leptospirose A e B em hamsters.

Tabela 21-Hamsters vacinados com bacterina comercial polivalente anti-leptospirose A. Proporção de animais sobreviventes segundo a concentração da vacina e a estirpe de leptospira empregada no desafio - São Paulo - 2006

| Condição da imunização  | Sorovar desafio | Proporção de sobreviventes |
|-------------------------|-----------------|----------------------------|
| Vacina pura             | Pomona          | 10/10                      |
| Vacina pura             | Canicola        | 10/10                      |
| Vacina diluída (1: 800) | Pomona          | 07/10                      |
| Vacina diluída (1: 800) | Canicola        | 10/10                      |
| Controle (não vacinado) | Pomona          | 04/10                      |
| Controle (não vacinado) | Canicola        | 00/10                      |

Tabela 22-Hamsters vacinados com bacterina comercial polivalente anti-leptospirose B. Proporção de animais sobreviventes segundo a concentração da vacina e a estirpe de leptospira empregada no desafio - São Paulo - 2006

| Condição da imunização  | Sorovar desafio | Proporção de sobreviventes |
|-------------------------|-----------------|----------------------------|
| Vacina pura             | Pomona          | 09/10                      |
| Vacina pura             | Canicola        | 06/10                      |
| Vacina diluída (1: 800) | Pomona          | 03/10                      |
| Vacina diluída (1: 800) | Canicola        | 03/10                      |
| Controle (não vacinado) | Pomona          | 04/10                      |
| Controle (não vacinado) | Canicola        | 00/10                      |

## 6 DISCUSSÃO

Na primeira fase do experimento, aos 36 dias da aplicação da dose de reforço das vacinas experimentais produzidas com a estirpe LO-4 do sorovar Canicola, todos os animais foram reagentes ao teste de SAM aplicada à leptospirose para a vacina de subunidade. No entanto, para a bactéria de bactéria completa, pouco mais de 60% dos animais foram reagentes, com títulos médios de anticorpos aglutinantes de 1,438 e desvio padrão de 1,144. A análise estatística para anticorpos aglutinantes confirmou a diferença a favor do grupo 2, aos 32 ( $p=0,013$ ) e 68 ( $p=0,031$ ) dias pós- vacinação. Midwintwer, Faine e Adler (1990) também encontraram respostas imunológicas em hamsters imunizados com vacinas anti-leptospirose constituídas por LPS de leptospiras dos sorovares Pomona e Hardjo com picos de títulos aglutinantes entre 42 e 70 dias da aplicação da bactéria. Sonrier et al. (2000) em hamsters tratados com LPS de leptospiras observaram picos de produção de anticorpos aglutinantes após a aplicação da dose de reforço, com manutenção de níveis de proteção por 120 dias. Koizumi e Watanabe (2004) avaliaram o poder imunogênico de duas lipoproteínas imunogênicas extraídas de uma estirpe do sorovar Manilae, constatando a produção de anticorpos aglutinantes inclusive para sorovares heterólogos ao da estirpe vacinal.

No presente estudo, aos 94 dias da primo-vacinação (pv) das vacinas experimentais, houve redução dos títulos de aglutininas tanto para a vacina de subunidade, como para de bactéria completa. Esta breve presença de anticorpos aglutinantes pós-vacinais também foi verificada por Cacchione et al., (1969) e Nardi Júnior (2005).

Os níveis de anticorpos neutralizantes pós-vacinais apresentados no gráfico 3 demonstraram a ausência de correlação entre anticorpos aglutinantes e neutralizantes, como também foi obtido por Nardi Júnior (2005) em búfalos. A despeito do declínio dos anticorpos neutralizantes registrados aos 94 dias pós pv para as duas vacinas ensaiadas, houve uma tendência de persistência da

proteção, que talvez venha a ser obtida com o incremento da dose de vacina empregada. De fato, os anticorpos neutralizantes são os principais responsáveis pelo combate ao microorganismo invasor (ROITT; BROSTOFF; MALE, 1985; TIZARD, 1977).

Em relação à imunidade passiva, no 30º dia de vida não foram detectados anticorpos aglutinantes nos leitões, nascidos das matrizes suínas vacinadas com as vacinas monovalentes experimentais. Contudo, foram registradas médias de títulos de anticorpos neutralizantes de 0,832 na vacina de subunidade e 0,930 na bacterina de bactéria completa, o que novamente demonstrou que a ausência de aglutininas, não significa ausência de proteção.

Os resultados do teste de desafio em hamsters com vacina experimental anti-leptospirose de LPS-MPLA, estão dentro dos parâmetros exigidos, portanto a bacterina seria aprovada segundo o critério de avaliação internacional (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1977) para bacterinas anti-leptospirose, que é de 80% de animais sobreviventes. Destaque-se contudo, que a mesma foi ensaiada pura e não diluída na proporção de 1:800 da dose indicada para suínos, como é preconizado no teste .

Os resultados obtidos na primeira fase do experimento demonstraram que a vacina experimental de lipolissacarídeo associada ao monofosforil lipídeo de leptospira foi superior a de bactéria completa. Avanços neste caminho também foram referidos por Haake e Matsunaga (2005).

A resposta imunológica obtida com a utilização das duas bacterinas comerciais A e B, na segunda fase do experimento, conforme apresentado nos gráficos de 4 a 10, e tabelas de 6 a 17, mostrou resposta heterogênea na proporção de animais reagentes e níveis de anticorpos aglutinantes frente aos sorovares incluídos na formulação das vacinas. No gráfico 4 ficou evidenciada a oscilação de 50 a 60% de animais reagentes para o sorovar Bratislava aos 60 dias após a pv, número máximo de reagentes de (75%) e (62,5%) aos 90 dias, respectivamente, para as bacterinas comerciais A e B. Nas colheitas de

sangue subseqüentes, houve grande flutuação para este sorovar. Para o sorovar Canicola, foram detectadas aglutininas aos 60 dias da pv com 37,5% de reagentes para a bacterina comercial A. Para a bacterina comercial B, houve 12,5% de reagentes aos 150 dias da pv, gráfico 5. Em relação ao sorovar Grippotyphosa, para a bacterina comercial A, 25% dos animais foram reagentes 60 dias após a pv, e queda nas colheitas posteriores de sangue. Não foram detectados animais reagentes a partir dos 90 dias da pv. Para a bacterina comercial B aos 60 dias da pv a porcentagem de animais sororeagentes para o sorovar Grippotyphosa foi igual a da bacterina comercial A, atingindo aos 90 dias da pv 37,5% de animais reagentes, seguido de queda nas colheitas de sangue subseqüentes.

A observação do gráfico 7 revela a existência de resposta de aglutininas para o sorovar Copenhageni, apenas para a bacterina comercial A aos 60 (87,5%) e (100%) aos 90 dias da pv, com declínio nas colheitas subseqüentes. Para o sorovar Icterohaemorrhagiae, houve 50% de animais reagentes aos 60 dias da pv para bacterina comercial A, e queda nas colheitas seguintes. Para a bacterina comercial B, houve animais reagentes apenas aos 150 dias da pv e em porcentagem baixa, 37,5%. O gráfico 9 mostrou animais reagentes para o sorovar Pomona apenas entre os imunizados com a bacterina comercial A e em porcentagem baixa, somente 25%. No 60º dia pós pv houve animais reagentes para este sorovar entre os imunizados com a bacterina comercial A. Em relação ao sorovar Hardjo, foram identificados animais reagentes a partir dos 30 dias da pv, com pico máximo aos 90 dias da pv, revelando 87,5% de reagentes para a bacterina comercial A e de 62,5% para a bacterina comercial B. Nas colheitas de sangue subseqüentes, os valores foram decrescentes, gráfico 10.

A análise das médias de títulos de anticorpos aglutinantes induzidas pelas bacterinas polivalentes comerciais A e B revelou que, a partir dos 60 dias da pv, houve títulos superiores a 1,00 para as duas bacterinas para o sorovar Bratislava, (Tabelas 6 e 7). Para os sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae, apenas na bacterina comercial A, (Tabelas 12 e 13). Para o sorovar Hardjo, os títulos de anticorpos aglutinantes induzidos pelas

duas bacterinas foram superiores a 1,00 apenas a partir de 90 dias da pv (Tabelas 16 e 17). Para os sorovares Canicola, Grippotyposa e Pomona, (Tabelas 8 a 11 e 15) para as duas bacterinas comerciais, e Icterohaemorrhagiae com a bacterina comercial B, (Tabela 14), o título médio de aglutininas nas sete avaliações realizadas foi inferior a 1,00. Houve, portanto, diferenças entre sorovares e bacterinas. Estes resultados contrariam os obtidos por Morsi, Shibley e Strother (1973) que detectaram níveis elevados de anticorpos aglutinantes para os sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae aos 15 dias da aplicação da segunda dose de bacterina. Porém há concordância com a queda dos títulos de aglutininas em sete meses da pv. A persistência de títulos de aglutininas anti-leptospirose por quatro meses da pv observada no presente trabalho para os sorovares Hardjo e Icterohaemorrhagiae com as bacterinas comerciais A e B e para o sorovar Copenhageni apenas com a bacterina A foi também constatada por Bey e Johnson (1993), Dobson e Davos (1975), Frantz, Hanson e Brown (1989) e Whyte et al. (1982).

Os títulos de anticorpos aglutinantes induzidos pelas bacterinas comerciais A e B apresentaram diferença significativa aos 60 dias da pv, para os sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae com  $p < 0,001$  e  $p = 0,027$ , respectivamente, bem como aos 90 e 120 dias da pv para o sorovar Copenhageni com  $p < 0,001$  e  $p = 0,027$ , respectivamente. Estes resultados demonstraram a heterogeneidade de resposta imune de aglutininas induzidas pelas bacterinas comerciais polivalentes empregadas no presente trabalho. Ávila (1979) testou bacterinas experimentais anti-leptospirose bivalentes para suínos, sorovares Pomona e Canicola, e obteve flutuações nos títulos de aglutininas até o 90º dia pós pv, sendo que o maior título obtido foi de 320 no 60º da pv, entretanto, não houve diferença significante entre os sorovares analisados.

Os níveis de anticorpos neutralizantes das matrizes suínas para o sorovar Hardjo na segunda fase do experimento, apresentados nas tabelas 18 e 19 e gráfico 18, confirmaram a persistência de títulos de anticorpos neutralizantes nas seis avaliações realizadas pós pv com as bacterinas comerciais



empregadas mesmo que com títulos baixos, principalmente para a bacterina B. Houve diferença entre os grupos tratados, A e B, na sexta colheita, com  $p=0,021$ . Os valores apresentados no gráfico 18 revelaram a presença de picos de anticorpos neutralizantes aos 120 dias da pv, para as duas bacterinas ensaiadas, e persistência de níveis de anticorpos elevados para a bacterina A entre 150 e 180 dias da pv, com valores de 0,310 e 0,292. Estes resultados indicaram que os anticorpos neutralizantes persistem por tempo superior ao observado com os anticorpos aglutinantes, e que a inexistência deste último não significa ausência de proteção. Indicam também o emprego de revacinações pelo menos semestrais, cujo prazo poderá vir a ser estendido em novos experimentos de maior duração.

A imunidade passiva dos leitões, induzida pelas bacterinas polivalentes comerciais A e B, foi de curta duração para as duas vacinas, e incapaz de conferir proteção até que os neonatos pudessem desenvolver imunidade ativa, conforme relataram Malyavin et al. (1971) e Millar et al. (1987).

Na segunda fase, foram efetuadas colheitas de sangue nos leitões nascidos das matrizes suínas vacinadas em tenra idade, e os títulos de anticorpos aglutinantes para os sorovares Hardjo e Bratislava foram registrados apenas entre três e oito dias de vida (Tabela 20). Ressalta-se ainda que os anticorpos aglutinantes passivamente transferidos só foram induzidos pela bacterina comercial B, neste particular, no terceiro dia de vida apenas para o sorovar Bratislava. A porcentagem de leitões reagentes para o sorovar Hardjo foi superior ao constatado para o sorovar Bratislava e manteve-se até o oitavo dia de vida. Os títulos de anticorpos aglutinantes apresentaram a mesma tendência, com médias de 0,912 para o sorovar Hardjo e 0,357 para o sorovar Bratislava aos três dias de vida. Aos oito dias de vida, a queda nos títulos de aglutininas foi significativa, sendo detectadas médias de 0,472 para o sorovar Hardjo. Aos doze e dezenove dias de vida, não foram constatados anticorpos aglutinantes. Estes resultados indicam que a imunidade passiva conferida pelas bacterinas polivalentes comerciais ensaiadas foi de curta duração. Millar et al. (1987) detectaram uma elevada concentração de aglutininas anti-leptospirose sorovar Pomona, em leitões via imunidade passiva, no primeiro

dia de vida, com substancial queda aos 28 dias. A principal classe de imunoglobulina envolvida na proteção via colostro contra a leptospirose suína foi a IgG, com persistência entre sete e 22 dias e uma meia vida de 15,5 dias. Malyavin et al. (1971) investigaram a proteção contra a leptospirose suína em leitões com sete a dez dias de idade pela imunidade passiva e esta não foi confirmada.

Apesar de ter sido constatada a presença de aglutininas nos leitões aos três e oito dias de vida, o mesmo não ocorreu em relação aos anticorpos neutralizantes, transferidos via imunidade passiva. Os resultados mostraram todos os animais não reagentes, indicando novamente a incapacidade das bacterinas comerciais polivalentes anti-leptospirose de proteger os leitões recém-nascidos contra a leptospirose.

Os resultados apresentados na tabela 21 mostraram que a bacterina A, diluída 1:800, foi aprovada pelas normas internacionais (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1977) para bacterinas comerciais anti-leptospirose em suínos para o sorovar Canicola, com nenhum óbito em dez animais desafiados. Apesar de terem morrido três animais para o inóculo com o sorovar Pomona, e seis no grupo controle para este mesmo sorovar, esta variação pode estar relacionada às características individuais dos animais. Um número maior de animais vacinados e controle desafiados poderia alterar este resultado. Apesar de não estar previsto no protocolo internacional de avaliação de bacterinas comerciais, neste experimento foi utilizada a bacterina pura, com melhores resultados que a diluída, com nenhum óbito, tanto para o sorovar Canicola como para o Pomona, na bacterina comercial A. Estes resultados sugerem que uma maior massa antigênica poderia induzir maior produção de anticorpos com conseqüente melhor proteção.

Com base nos resultados apresentados na tabela 22, a bacterina comercial B não foi aprovada pelas normas internacionais para bacterinas anti-leptospirose (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1977), tanto na forma diluída como pura. Ressalta-se apenas um resultado melhor na opção bacterina pura para o sorovar Pomona, porém esta metodologia de

avaliação não está prevista no protocolo internacional. Comparando tais resultados com o desempenho das bacterinas comerciais nas matrizes suínas vacinadas com a porcentagem de animais reagentes, títulos de aglutininas e de anticorpos neutralizantes, a diferença entre as duas bacterinas comerciais foi confirmada, mostrando a necessidade de um melhor controle de qualidade das bacterinas anti-leptospirose comercializadas no Brasil.

## 7 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente estudo, as conclusões obtidas na primeira fase foram:

1) a vacina experimental monovalente de subunidade-lipolissacarídeo associada ao monofosforil lipídeo mostrou perspectivas para prevenir a leptospirose suína;

2) o número de animais reagentes e a produção de anticorpos aglutinantes com a utilização de vacina experimental monovalente de subunidade-lipolissacarídeo associado monofosforil lipídeo de leptospira foi superior ao da bacterina experimental de bactéria completa, produzida com a estirpe homóloga;

3) os anticorpos neutralizantes induzidos pelas duas doses intervaladas de 30 dias da vacina experimental monovalente de subunidade-lipolissacarídeo associada ao monofosforil lipídeo de leptospira, persistiram por até 123 dias da primo-vacinação;

4) aos 30 dias de vida, os leitões nascidos de matrizes suínas imunizadas com vacina experimental monovalente de subunidade-lipolissacarídeo associada ao monofosforil lipídeo apresentaram anticorpos neutralizantes em níveis superiores ao de aglutininas;

5) a vacina experimental monovalente de subunidade-lipolissacarídeo associada ao monofosforil lipídeo, não diluída foi aprovada ao teste de potência em hamsters.

As conclusões obtidas na segunda fase do experimento foram:

- 1) a resposta imunológica humoral induzida com as duas vacinas comerciais polivalentes anti-leptospirose de bactérias completas em suínos variou entre os sorovares e entre as bacterinas;
- 2) as duas bacterinas polivalentes comerciais anti-leptospirose ensaiadas apresentaram baixos níveis de aglutininas para os sorovares Canicola, Grippotyposa, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Copenhageni;
- 3) a proporção de animais com aglutininas pós-vacinais foi mais elevada para uma das bacterinas polivalentes comerciais anti-leptospirose ensaiadas;
- 4) os títulos de anticorpos neutralizantes persistiram nos animais imunizados até os 150 dias da primo-vacinação, com diferenças significantes entre as duas bacterinas comerciais anti-leptospirose polivalentes avaliadas;
- 5) a imunidade passiva induzida pelas bacterinas anti-leptospirose polivalentes comerciais de bactéria completa foi de curta duração;
- 6) no teste de potência em hamsters, das bacterinas comerciais polivalentes anti-leptospirose de bactérias completas ensaiadas, uma foi reprovada e a outra aprovada;

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

ABBAS, A. K.; LICHTMANN, A. H. **Imunologia celular e molecular**. 4. ed. São Paulo:Revinter, 2002, 486 p.

ADDAMIANO L.; BABUDIERI B. Water strains of *Leptospira* in the serodiagnosis of human and animal leptospirosis. **Bulletim World Health Organisms**, n. 39, p. 925- 934, 1968.

ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; CAMARGO, C. R. A.; MORAIS, Z. M. Influência de fatores ambientais na proporção de caprinos soro-reagentes para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 11-18, 1996.

ÁVILA, F. A. **Avaliação da resposta imunitária humoral em suínos vacinados experimentalmente contra os sorotipos pomona e Canicola**. 1979, 83 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1979.

AZEVEDO, J. F.; FARO, M. M. C.; PALMEIRO, M. M. Ação patogênica sobre os porcos da estirpe patogênica de L. pomona. **Annual Instituto Medicina Tropical**, v. 13, p. 563-568, 1956.

AZEVEDO, S. S.; SOTO, F. R. M.; MORAIS, Z. M.; PINHEIRO, S. R.; VUADEN, E. R.; BATISTA, C. S. A.; SOUZA, G. O.; DELBEM, A. C. B.; GONÇALES, A. P.; VASCONCELLOS, S. A. Frequency of anti leptospire agglutinins in sows from a swine herd in the Ibiúna Municipality, State of São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 1, p.97-100, 2006.

BABUDIERE, B. Ztschr Immuni tatsforsch. **Therapie**, v. 99, p. 442-450, 1941.

BACKER, T. F.; MC EWEN, S. A.; PRESCOTT, J. F.; MEEK, A. H. The prevalence of leptospirosis and its association with multifocal interstitial nephritis in swine at slaughter. **Canadian Journal Veterinary Research**, v. 53, n. 3, p. 290-294, 1989.

---

<sup>1</sup>Conforme as diretrizes para apresentação de dissertações e teses na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo: FMVZ- USP, 2003. 84 p.

BAHAMAN, A. R.; IBRAHIM, A. L.; ADAM, H. Serological prevalence of leptospiral infection in domestic animals in West Malaysia. **Epidemiology and Infection**, v. 99, n. 2, p. 379-392, 1997.

BARRAL, A. **Imunização passiva e ativa**. Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina da Bahia, 2005. Disponível em: <[www.ufba.com.br](http://www.ufba.com.br)>. Acesso em: 08 jun. 2006.

BASTOS, M. **Leptospirose**. Disponível em: <<http://www.cca.ufes.br/caklbacteri.htm>>. Acesso em: 14 mar. 2006.

BEY, R. F.; JOHNSON, R. C. Leptospiral vaccines: immunogenicity of protein free medium cultivated whole cell bacterians in swine. **American Journal Veterinary Research**, v. 12, n. 44, p. 2299-2301, 1993.

BLENDEN, D. C. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. In: REUNION INTERAMERICANA SOBRE EL CONTROLE DE LA FIEBRE AFTOSA Y OTRAS ZOONOSIS, 8., 1975, Guatemala. Washington, Organizacion Panamericana de La Salud, 1976, p. 160-168. (Publicacion Científica, 316).

BRANGER, C. **Protection contre la leptospirose, étude de deux gènes d'intérêt: hap1 et ompL1 codant respectivement une hémolysine et une porine**. 2001, 200 p. thesis, Ph. D. Nantes University, Nantes, France, 2001.

BRANGER, C.; CHATRETT, B.; GAUVRIT, A.; AVIAT, F.; AUBERT, A.; BACH, J. M.; FONTAINE, G. A. Protection against *Leptospira interrogans* sensu lato, challenge by DNA immunization with the gene encoding hemolysin – associated protein 1. **Infection and Immunity**, v. 7, n. 73, p. 4062-4069, 2005.

BOLIN, C. A.; CASSELLS, J. A. Isolation of *Leptospira interrogans* serovar bratislava from stillborn and weak pigs in Iowa. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 10, p. 1601-1604, 1990.

BOLOTSKII, I. A.; KORSHUNOVA, L. N.; SHILYAKIN, V. K.; DAVYDENKO, R. F. Dynamics of antibody formation in pigs with leptospirosis. **Veterinariya**, n. 9, p. 50-52, 1975.

BOQUIST, S.; HOTH, U, T.; MAGNUSSON, A. Annual variations in *Leptospira* seroprevalence among sows in Southern Vietnam. **Tropical Animal Health Production**, v. 6, n. 37, p. 443-449, 2005.

BORDIN, E. L. **Contribuição ao diagnóstico em patologia suína**. 2. ed. São Paulo: Editora Roca, 1992. 192 p.

BOURNE, F. J. Humoral immunity in the pig. **The Veterinary Record**, v. 98, n. 22, p. 499-501, 1976.

CACCHIONE, R. A.; FUENTE, A.; CASCELLI, E. S.; MARTINEZ, E. S. Inmunidad pasiva antileptospira en bovinos lactantes e inmunidad activa del destete. **Revista de Investigaciones Agropecuárias**, v. 6, n. 11, p. 112-120, 1969.

CARVALHO, L. F. O. S. Vacinas e vacinações em suinocultura intensiva. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS- AVESUI, SUINOCULTURA: SAÚDE E MEIO AMBIENTE, 4., 2005, Florianópolis, Santa Catarina. 2005. 14 p.

CASTRO, A. F. P.; SANTA ROSA, C. A.; CALDAS, A. D. Isolamento de *L. canicola* de suínos abatidos em matadouro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 29, p. 193-97, 1962. Art 22.

CHAPELL, R. J. Prevalence and geographic origin of pigs with serological evidence of infection with *Leptospira interrogans* serovar Pomona slaughtered in abattoir in Victória, Australian. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 62, n. 3, p. 235-242, 1998.

CINCO, M.; VECILE, E.; MURGIA, R.; DOBRINA, P.; DOBRINA, A. *Leptospira interrogans* and *Leptospira peptidoglycans* induce the release of tumor necrosis factor  $\infty$  from human monocytes. **FEMS, Microbiology**, v. 138, p. 211-214, 1996.

COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PULSSELY, P. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. **Journal of Applied Microbiology**, v. 5, n. 6, p. 976-980, 1973.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Médica Científica, 1992. 843 p.

COSTA, M. C. R.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C.; MARTINS, N. R. S. Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 1, p. 11-17, 1998.

DANNENBERG, H. D.; RICHTER, W.; WESCHE, W. D. **Schweinekrankheiten**. Berlin: Veb Deutscher Landwirtschaftsverlag, 1975, 465 p.

DELBEM, A. C. B. **Purificação, caracterização e avaliação da capacidade imunogênica do lipolissacarídeo (LPS) de *Leptospira* spp isolada no Brasil associado ao hidróxido de alumínio ou monofosforil lipídio A como adjuvantes**, 2004, 117 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

DOBSON, K. J.; DAVOS, D. E. Leptospiral titres in pigs after vaccination. **Australian Veterinary Journal**, v. 9, n. 51, p. 443-444, 1975.



DUNNE, H. W.; LEMAN, A. D. **Diseases of swine**. 4<sup>th</sup> ed. Ames, Iowa, USA: The Iowa State University Press, p.122- 137. 1994. Chap. 3.

EDWARDS, J. D.; DAINES, D. A Leptospirosis outbreak in a piggery. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 27, n. 11, p. 247-248, 1979.

ELLIS, W. A. Leptospirosis. In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J.; LEMAN, A. D. **Diseases of swine**. 7. ed. Ames: Iowa State Univ., 1999. p. 483-493.

ELLIS, W. A. Leptospirosis in pig. **Pig Veterinary Journal**, Cambridge, v. 28, p. 24-34, 1992.

ELLIS, W. A.; MC PARLAND, P. J.; BRYSON, D. G.; THIERMANN, A. B.; MONTGOMERY, J. Isolation of leptospires from the genital tract and kidneys of aborted sows. **Veterinary Research**, v. 118, n. 11, p. 294-295, 1986.

ELLIS, W. A.; PARLAND, P. J.; BRYSON, D. G.; MC NULTY, M. S. Leptospire in pig urogenital tracts and fetuses. **Veterinary Research**, v. 117, n. 3, p. 66-67, 1985.

ELLIS, W. A.; THIERMANN, A. B. Isolation of *Leptospira interrogans* serovar bratislava from sows in Iowa. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 7, p. 1458-1460, 1986.

ERBER, K. B.; MAILLOUX, M. Les leptospiroses en France- seconde enquête et isolement de *L. pomona*. **Annals Institute Pasteur**, v. 99, p. 359-375, 1960.

ESPINO, R.; MALAJOV, Y. A.; COMIDE, R. I.; SUPLICIO, A. N. Position taxonomica de cepa de leptospira aisladas de bovinos, porcinos y roedores sinantrópicos de la Republica de Cuba. **Revista Cubana de Ciências Veterinárias**, v. 1, n. 20, p. 89-94, 1989.

FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**, Geneva: World Health Organization, 1982. 171 p. ( WHO off set publication, 67).

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

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2. ed. Melbourne: Australia, MediSci, 1999. 272 p.

FARIA, E. J.; RIBEIRO, M. F. B.; SANTOS, J. L.; DALE, R.; SALCEDO, J. H. P. Frequência de aglutininas anti-leptospiras em soros sanguíneos de suínos das microrregiões de Viçosa e Ponte Nova – MG. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 41, n. 5, p. 381-388, 1989.

FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Sorovares de leptospiras predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.

FENNESTAD, K. L.; PETERSEN, B. C.; BRUMMERSTEDT, E. Leptospira antibody formation by porcine foetuses, **Research Veterinary Science**, v. 9, p. 378-380, 1968.

FERREIRA NETO, J. S.; VASCONCELLOS, S. A.; ITO, F. H.; MORETTI, A. S.; CAMARGO, C. A.; SAKAMOTO, S. M.; MARANGON, S.; TURILLI, C.; MARTINI, M. *Leptospira interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae* seropositivity and the reproductive performance of sows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 31, p. 87-93, 1997.

FRANTZ, J. C.; HANSON, L. E.; BROWN, A. L. Effect of vaccination with a bacteria containing *Leptospira interrogans* serovar bratislava on the breeding performance of swine herds. **American Journal Veterinary Research**, v. 7, n. 50, p.1044-1047, 1989.

FREITAS, J. C.; SILVA, F. G.; OLIVEIRA, R. C.; DELBEM, A. C. B.; MÜLLER, E. E.; ALVES, L. A.; TELES, P. S. Isolation of *Leptospira* spp from dogs, bovine and swine naturally infected. **Ciência Rural, Santa Maria, RS**, v. 34, n. 3, p. 853- 856, 2004.

FRENYO, V. L.; PETHES, G.; ANTAL, T.; SZABO, I. Changes in colostral and serum IgG content in swine in relation to time. **Veterinary Research Communications**, v. 4, n. 1, p. 275-282, 1980.

GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Journal of Applied Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 81-85, 1965.

GAMBERINI, M.; GOMEZ, R. M.; ATZINGEN, M. V.; MARTINS, E. A.; VASCONCELLOS, S. A.; ROMERO, E. L.; LEITE, L. C.; HO, P. L.; NASCIMENTO, A. L. Whole- genome analysis of *Leptospira interrogans* to identify potential vaccine candidate against Leptospirosis. **FEMS Microbiology Lett**, v. 2, n. 244, p. 305-313, 2005.

GIORGI, W.; TERUYA, J. M.; SILVA, A. S.; GENOVEZ, M. E. Leptospirose: Resultados das soroaglutinações realizadas no Instituto Biológico de São Paulo durante os anos de 1974/1980. **Biológico**, São Paulo, v. 47, n. 11, p. 299-309, 1981.

GOCHENOUR, W. S.; JOHNSTON, R. H. Y. Porcine leptospiroses. **American Journal Veterinary Research**, v. 13, p. 158-160, 1952.

GONZALEZ, A.; RODRIGUES, Y.; BATISTA, N.; VALDES, Y.; NUNEZ, J. F.; MIRABAL, M.; GONZALEZ, M. Immunogenicity and protective capacity of leptospiral whole cell monovalent serogroup Ballun vaccines in hamsters. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 4, n. 37, p. 169-175, 2005.

GUIDA, V. O. Identificação sorológica de amostras de *Leptospira* (*L. hyos*), isoladas de suínos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 25, p. 73-75, 1958. Art.8.

GUIDA, V. O. Sobre a presença de leptospira em suínos no Brasil. **Revista do Instituto Biológico**, v. 18, p. 285-287, 1948.

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, São Paulo**, v. 26, p. 49-54, 1959. art 8.

HAAKE, D. A.; CHAMPION, C. I.; MARTINICH, C.; SHANG, E. S.; BLANCO, D. R.; MILLER, J. N. Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding OmpL1, a transmembrane outer membrane protein of pathogenic *Leptospira* spp. **Journal Bacteriology**, n. 175, p. 4225-4234, 1993.

HAAKE, D. A.; MARTINICH, C.; SUMMERS, T. A.; SHANG, E. S.; PRUETZ, J. D.; MCCOY, A. M. Characterization of leptospiral outer membrane lipoprotein LipL36: downregulation associated with late-log-phase growth and mammalian infection. **Infection Immunology**, n. 66, p. 1579-1587, 1998.

HAAKE, D. A.; MATSUNAGA, J. Leptospiral membrane proteins- variations on a theme? **Indian Journal Medical**, v. 121, p. 143-145, 2005.

HAAKE, D. A.; WALKER, E. M.; BLANCO, D. R.; BOLIN, C. A.; MILLER, M. N.; LOVETT, M. A. Changes in the surface of *Leptospira interrogans* serovar grippityphosa during *in vitro* cultivation. **Infection Immunology**, n. 59, p.1131-1140, 1991.

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

HARTMANN, E. G.; VAN HOUTEN, M.; FRIK, J. F. Humoral immune response of dogs after vaccination against Leptospirosis measured by an IgM- an IgG-specific ELISA. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v. 7, p. 245-254, 1984.

HATHAWAY, S. C. Porcine Leptospirosis. **Pig News and Information**, v. 6, n. 1, p. 31-34, 1985.

HATHAWAY, S. C.; LITTLE, T. W. A. Prevalence and clinical significance of leptospiral antibodies in pigs in England. **The Veterinary Record**, v. 108, n. 11, p. 224-228, 1981.

HIDALGO, L. J.; HIDALGO, R. R. Leptospirosis em el ganado y matarifes de Tumbes, Peru. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 68, n. 4, p. 297-305, 1970.

HIDALGO, L. J.; MEJIA, D. E. Leptospirosis em Iquitos. Departamento de Loreto, Perú. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 90, n. 2, p. 152-159, 1981.

HODGES, R. T. *Leptospira interrogans* serotype pomona infection in pigs: prevention of leptospirosis by immunization before exposure to a natural infection. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 25, n. 1-2, p. 33-35, 1977.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 19. De 15 de fevereiro de 2002. Aprovar as normas a serem cumpridas para a certificação de granjas de reprodutores suínos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01 mar. 2002. sec. I, pt.2.

JELAMBI, F.; PENA, A. P. C.; IVANOV, N. P. J. E. La leptospirosis de los animales domésticos em Venezuela. **Veterinária Tropical**, v. 1, n. 1, p. 63-71, 1976.

JENKINS, E. M.; HARRINGTON, R.; GBADAMOSI, S. G.; BRAYE, E. T. Survey of leptospiral agglutinins in the sera of swine of southeastern Alaban. **American Journal Veterinary Research**, v. 40, n. 7, p. 1019-1021, 1979.

KANAVAGH, N. 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.

KAZAMI, A.; WATANABE, H.; HAYASHI, T.; KOBAYASHI, K.; OGAWA, Y.; YAMAMOTO, K.; ADACHI, Y. Serological survey of leptospirosis in sows with premature birth and stillbirth in Chiba and Gunma prefectures of Japan. **Journal Veterinary Medical Science**, v. 64, n. 8, p. 735-737, 2002.

KOIZUMI, N.; WATANABE, H. Leptospiral immunoglobulin-like protein elicit protective immunity. **Vaccine**, v. 22, n. 29, p. 1545-1552, 2004.

KOIZUMI, N.; WATANABE, H. Leptospirosis vaccines: past, present and future. **Journal Postgrad Medicine**, v. 3, n. 51, p. 210-214, 2005.

LANGONI, H.; CABRAL, K. S. M.; JACOBI, H. Inquérito soroepidemiológico para leptospirose suína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 7., 1995, Blumenau, **Anais...** Blumenau: EMBRAPA, 1995. p. 153.

LARSSON, C. E.; YASUDA, P. H.; SANTA ROSA, C. A.; COSTA, E. O. Leptospirose suína. Inquérito sorológico e bacteriológico em municípios dos Estados de São Paulo, do Paraná e de Santa Catarina. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 21, n. 1, p. 43-50, 1984.

LEE, S. H.; KIM, K. A.; PARK, Y. G.; SEONG, I. Y.; KIM, M. J.; LEE, Y. G. Identification and partial characterization of a novel hemolysin from *Leptospira interrogans*. **Gene**, n. 254, p. 19-28, 2000.

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

LIMA, P. C. R. 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. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, v. 24, n. 1, p. 119-121, 1996.

LOBO, E. A.; TAUTZ, S. M.; CHARLIER, C. F.; CONCEIÇÃO, A.; NETO, J. A. S. P. Estudo comparativo do padrão sorológico de animais domésticos potencialmente transmissores de leptospirose no Município de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, entre os nos de 2002 e 2003. **Caderno de Pesquisa-Série Biologia**, Santa Cruz do sul, v. 16, n. 2, p. 47-64, 2004.

MALYAVIN, A. G.; SOLOVEVA, V. S.; SHUPLIKO, A. H.; POBEGAEV, V. S.; GLUSHKOV, A. A. Immunogenicity of leptospiroses vaccines, **Veterinariya**, Moscow, n. 3, p. 56-57, 1971.

MASEDO, A. C.; CHERNUKHA, Y. Kklassifikatsii leptospira, vydelennykhv Peru. **Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii**, n. 2, p. 77-81, 1979.

MASON, R. J.; FLEMING, P. J. S.; SMYTE, L. D. *Leptospira interrogans* antibodies in feral pigs from New South Wales. **Journal Wildl Diseases**, v. 4, n. 34, p. 738-743, 1998.

MICHNA, S. W.; CAMPBELL, R. S. F. Leptospirosis in pigs: epidemiology, microbiology and pathology. **The Veterinary Record**, n. 6, v. 84, p. 135-138, 1969.

MIDWINTER, A.; FAINE, S.; ADLER, B. Vaccination of mice with lipopolysaccharide (LPS) and LPS-derived immuno-conjugates from *Leptospira interrogans*. **Journal Medical Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 199-204, 1990.

MILLAR, B. D.; CHAPPEL, R. J.; ADLER, B.; DRIESEN, S. J.; JONES, R. T. Effect of maternal vaccination on the susceptibility of growing pigs to leptospiral infection. **Veterinary Microbiology**, v. 15, p. 79-87, 1987.

MILLER, D. A.; WILSON, M. A.; OWEN, W. J.; BERAN, G. W. Porcine leptospirosis in Iowa. **Journal Veterinary Dentistry**, v. 2, n. 3, p. 171-175, 1990.

MIRAGLIA, F. **Pesquisa de leptospiros no aparelho reprodutor, fígado, rim e urina de fêmeas suínas abatidas no período de abril de 2003 a agosto de 2004, em matadouro localizado no Estado de São Paulo**. 2005. 126 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MORES, N. Cuidados com a leitoa de reposição. **Instrução Técnica para o Suinocultor**, n.14, p 1-2, 1999.

MORSI, H. M.; SHIBLEY, G. P.; STROTHER, B. S. Antibody response of swine to *Leptospira Canicola* and *Leptospira Icterohaemorrhagiae*. **American Journal Veterinary Research**, v. 34, n. 10, p. 1253- 1259, 1973.

NARDI, G. **Perfil sorológico de anticorpos anti- *Leptospira* spp em búfalas (*Bubalus bubalis*) vacinadas com tipos de vacinas comerciais anti-leptospirose (Bacterina e Membrana externa)**. 2005. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

NGUYEN, V. P.; WONG, C. W.; HINCH, G. N.; SINGH, D.; COLDITZ, I. G. Variation in the immune status of two Australian pig breeds. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, n. 9, p. 613-617, 1998.

OLIVEIRA, S. J. Infecções no trato urinário em suínos. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias "Desidério Finamor"**, n. 10, p. 71-85, 1988.

OLIVEIRA, S. J. Leptospirose em suínos. **A Hora Veterinária**, v. 7, n. 41, p. 5-8, 1988.

OLIVEIRA, S. J. Presença de aglutininas antileptospiros em suínos e bovinos com e sem sinais de infecção. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias "Desidério Finamor"**, v. 4, p. 57-64, 1977.

OLIVEIRA, S. J.; BOROWSKI, S. M.; BARCELOS, D. E. S. N.; BRASIL, J. N. Evidências de infecção por *L. bratislava* em casos de transtornos reprodutivos em suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, ABRAVES, 11., 1993, Goiânia, GO. **Anais...** p. 115.

OLIVEIRA, S. J.; FALLAVENA, L. C.; PIANTA, C. Leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: Isolamento e caracterização dos agentes. Estudos em suínos abatidos em frigorífico e granjas com problemas de reprodução. **Arquivo Brasileiro da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 35, n. 5, p. 641-650, 1983.

OLIVEIRA, S. J.; LIMA, P. C. R.; BARCELLOS, D. E. S. N.; BOROWSKI, S. M. 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**, Porto Alegre, v. 1, n. 4, p. 263- 267, 1995.

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.

PARLOV, F. N.; KHAIBRAKHIMANOVA, R. K.; ILIN, K. I.; UTEKAEVA, F. S. Epidemiology of leptospirosis. **Veterinariya**, Moscow, n. 4, p. 56-57, 1971.

PAZ-SOLDAN, S. V.; DIANDERAS, M. T.; WINDSOR, R. S. *Leptospira interrogans* serovar canicola: a casual agent of sow abortions in Arequipa, Peru. **Tropical Animal Health Production**, v. 43, n. 4, p. 233-240, 1991.

PEREA, A.; GARCIA, R.; MALDONADO, A.; TARRADAS, M. C.; LUQUE, I.; ASTORGA, R.; ARENAS, A. Prevalence of antibodies to different *Leptospira interrogans* serovar in pigs on large farms. **Zentralbl Veterinarmed Bulletin**, v. 41, n. 7-8, p. 512-516, 1994.

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

PIZZI, M. Sampling variation of the fifty percent end-point, determined by Reed-Muench (Behrens) method. **Human Biology**, v. 22, n. 3, p. 151-190, 1950.

PLOTKIN, S. A. Six revolutions in vaccinology. **Pediatric Infection Diseases Journal**, n. 24, p. 1-9, 2005.

PRESCOTT, J. F.; FERRIER, R. L.; NICHOLSON, V. M.; JOHNSTON, K. M.; HOFF, B. Is canine leptospirosis underdiagnosed in southern Ontario? A case report and serological survey. **Canadian Veterinary Journal**, n. 32, p. 481-486, 1991.

PORTER, P.; ALLEN, W. D. Classes of immunoglobulins related to immunity in the pig. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 160, n. 4, p. 511-520, 1972.

PORTER, P.; NOAKES, D. W.; ALLEN, W. D. Intestinal secretion of immunoglobulins and antibodies to *Escherichia coli* in the pig. **Immunology**, v. 18, p. 909-920, 1970.

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

REED, L. J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. **American Journal Hygiene**, n. 27, p. 493-497, 1938.

REHMTULLA, A. J.; THOMSON, R. J.; STEVENSON, R. J. *Leptospira bratislava* infection in aborted pigs in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, v. 33, n. 5, p. 345, 1992.

ROCHA, T. Isolation of *Leptospira interrogans* serovar mozdok from aborted swine fetuses in Portugal. **Veterinary Research**, v. 126, n. 24, p. 602, 1990.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Immunology**. Edinburg, London: Churchill Livingstone, 1985. 490 p.

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

SALMON, H. Immunity in the fetus and the newborn infant: a swine model. **Reproduction Nutrition Development**, v. 24, n. 2, p. 197-206, 1984.

SANTA ROSA, C. A.; CAMPEDELI, O.; CASTRO, A. F. P. Suínos como reservatórios de leptospiros no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 3, n. 40, p. 243-246, 1973.

SANTA ROSA, C. A.; CASTRO, A. F. P.; CALDAS, A. D. Isolamento de leptospira *Icterohaemorrhagiae* e leptospira *hyos* de suínos abatidos em matadouro. **Revista do Instituto Biológico**, v. 29, p. 285-291, 1962.



SANTA ROSA, C. A.; CASTRO, A. F. P.; SILVA, A. S.; TERUYA, J. M. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 29/30, p. 19-27, 1969/70.

SANTA ROSA, C. A.; CASTRO, A. F. P.; TROISE, C. Isolamento de *Leptospira pomona* de suíno em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 165-174, 1962.

SARAZÁ, M. L.; SÁNCHEZ-VAZCAÍNO, J. M. Mecanismo de infección de las enfermedades animales. **Porcine**, n. 68, p. 13-26, 2002.

SAVINO, E.; RENELLA, E. Estudios sobre leptospiras. VI leptospirasuis (n.sp?) y leptospira hyos ( n.sp? ) aislada en credos de la Republica Argentina. **Revista de Instituto de Bacteriología**, v.13, p. 62-665, 1948.

SCHONBERG, A.; HAHN- HEY, B.; KAMPE, U.; SCHMIDT, K.; ELLIS, W. A. The isolation and identification of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava from a pig in Germany. **Zentralbl Veterinarmed B**, v. 5, n. 39, p. 362-368, 1992.

SHANG, E. S.; SUMMERS, T. A.; HAAKE, D. A. Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding LipL41, a surface-exposed lipoprotein of pathogenic *Leptospira* species. **Infection Immunology**, n. 64, p. 2322-2330, 1996.

SEGBERS, R. P. A.; VAN DER DRIFT, A.; NIJS, P.; CORCIONE, B. A.; VAN DER, Z.; GAASTRA, W. Molecular analysis of a sphingomyelinase C gene from *Leptospira interrogans* serovar hardjo. **Infection and Immunity**, n. 58 p. 2177-2185, 1990.

SIPPEL, L.; ATWOOD, M. B. Leptospirosis in swine. **School Medicine Science Public**, v.1, p.143-151, 1952.

SHIMABUKURO, F. H. **Pesquisa de suínos portadores renais de leptospiras pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose**. 2003. 62 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, Botucatu, 2003.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.; MORES, N.; CARVALHO, L. F.; OLIVEIRA, S. **Clínica e patologia suína**. 2 ed. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 1999. 464 p.

SONRIER, C.; BRANGER, C.; NICHEL, V.; RUVOËN, J. P.; GANIÉRE, G.; FONTAINE, A. Evidence of cross- protection within *Leptospira interrogans* in an experimental model. **Vaccine**, v. 19, n. 1, p. 89-94, 2000.

SOUZA, A. S. **Estudo da prevalência de *Leptospira interrogans* em reprodutores suínos em produção e aspectos epidemiológicos da infecção em Goiás**, 2000. 74 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, Goiânia, Goiás, 2000.

TABATA, R. **Proteção cruzada entre bacterinas anti-leptospirose produzidas com três representantes do sorogrupo sejroe. Ensaio experimental em hamsters (*Mesocricetus auratus*)**. 2002. 70 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

TABATA, R.; SCANAVINI NETO, H.; ZUANAZE, M. A. F.; OLIVEIRA, E. M. D.; DIAS, R. A.; MORAIS, Z. M.; ITO, F. H.; VASCONCELLOS, S. A. Cross neutralizing antibodies in hamsters vaccinated with leptospiral bacterins produced with three serovars of serogroup sejroe. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 267-270, 2002.

TIZARD, I. R. **An introduction to veterinary immunology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1977. Chap 6.

TRIPHATY, D. N.; HANSON, L. E.; MANSFIELD, M. E. Growth inhibition test for measurement of immune response of animals vaccinated with leptospiral bacterins. In: ANNUAL MEETING, UNITED STATES ANIMAL HEALTH ASSOCIATION, 77., 1973, Missouri. **Proceedings.....** p. 20-30. .

TURNER, L. H. Leptospirosis III. Maintenance, isolation and demonstration of leptospire. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 64, p. 623-646, 1970.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE ANIMAL PLANT HEALTH INSPECTION SERVICE VETERINARY SERVICES LABORATORIES **Supplemental assay method for potency assay of *Leptospira interrogans* serotype pomona bacterins**. Ames, 1977. [11p.]. (SAM608-9CFR113.86).

VALDIVIA, P. S. S.; TERAN, D. M.; WINDSOR, R. S. *Leptospira interrogans* serovar canicola: a causal agent of sows abortions in Arequipo, Peru. **Tropical Animal Health Production**, v. 4, n. 23, p. 233-240, 1991.

VAN DER HOEDEN, J. Leptospirosis canicularis in pigs and its probable transfer to human beings. **Journal Infecty Diseases**, v. 98, n. 1, p. 33-38, 1956.

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. 4, n. 55, p. 352-355, 1991.

YAN, J. Advances in research on pathogenic mechanism the prospect of genus- specific genetic engineering vaccine of *Leptospira interrogans*. **Zhejiang Da Xue Xu,e Bao Yi Xue Ban**, n. 34, p. 1-3, 2005.

YOU, Z.; DAI, B.; CHEN, Z.; YAN, H.; FANG, Z.; LI, S.; LIU, J. Immunogenicity and immunoprotection of a leptospiral DNA vaccine. **Hua Xi Yi Ke Da Xue Bao**, v. 30, n. 2, p. 128-132, 1998.

WALDMANN, K. H. Progression and control of leptospirosis in a sow herd. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, n. 1, p. 39-42, 1990. (Abstract).

WHYTE, P. B.; RATCCLIFF, R. M.; CARGILL, C.; DOBSON, K. J. Protection of pregnant swine by vaccination against leptospira infection. **Australian Veterinary Journal**, v. 2, n. 59, p. 41-45, 1982.

ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S.; FRÍAS, M. Infeccion por *Leptospira interrogans* serogrupo Pomona serovar kennewicki en porcinos. **Archives Medicine Veterinary**, v. 20, n. 2, p. 134-135, 1988.

ZUERNER, R. L.; KNUDTSON, W.; BOLIN, C. A.; TRUEBA, G. Characterization of outer membrane md secreted proteins of *Leptospira interrogans* serovar Pomona. **Microbiology and Pathogen**, n. 10, p. 311-322, 1991.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)