



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VANESSA YUMI HASHIMOTO

**ASSOCIAÇÃO DA LEPTOSPIROSE COM LESÕES RENAIIS
MACROSCÓPICAS TIPO “WHITE SPOTS” EM SUÍNOS
APARENTEMENTE SADIOS, ABATIDOS EM FRIGORÍFICO
DA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ**

VANESSA YUMI HASHIMOTO

**ASSOCIAÇÃO DA LEPTOSPIROSE COM LESÕES RENAIIS
MACROSCÓPICAS TIPO “WHITE SPOTS” EM SUÍNOS
APARENTEMENTE SADIOS, ABATIDOS EM FRIGORÍFICO
DA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Julio Cesar de Freitas

Londrina
2006

Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

H348a Hashimoto, Vanessa Yumi.

Associação da leptospirose com lesões renais macroscópicas tipo “white spots” em suínos aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico da região norte do estado do Paraná / Vanessa Yumi Hashimoto. – Londrina, 2006. 43f.

Orientador : Júlio César de Freitas.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, 2006.

Bibliografia : f. 12-15; f.31-33.

1. Leptospirose em animais – Teses. 2. Leitão (Suíno) – Teses. 3. Histopatologia veterinária – Teses. I. Freitas, Julio Cesar. II. Universidade Estadual de Londrina. III. Título.

CDU 619:636.4

VANESSA YUMI HASHIMOTO

**ASSOCIAÇÃO DA LEPTOSPIROSE COM LESÕES RENAIAS
MACROSCÓPICAS TIPO “WHITE SPOTS” EM SUÍNOS
APARENTEMENTE SADIOS, ABATIDOS EM FRIGORÍFICO
DA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Julio Cesar de Freitas
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Prof. Dr. Raul José Silva Girio
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
(UNESP – Campus Jaboticabal)

Prof^a. Dr^a. Roberta Lemos Freire
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Londrina, 28 de junho de 2006.

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Leptospirose, Microbiologia e Doenças infecciosas e Anatomia Patológica, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Área de Concentração Sanidade Animal, sob orientação do Prof. Dr. Julio Cesar de Freitas.

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento a pesquisa abaixo relacionadas:

- 1. PROPPG: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Estadual de Londrina**
- 2. CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior**
- 3. SETI: Secretaria de Estado da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior – Unidade Gestora do Fundo Paraná.**

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar presente em todos os momentos de minha vida, que me fortaleceu e trouxe esperança para a realização dos meus sonhos.

Aos meus pais Marina e Jorge e minhas irmãs Claudia e Joice pelo amor incondicional e alicerce constante que sempre me proporcionaram. Agradeço a Deus pela família maravilhosa que tenho e por sempre estarem ao meu lado ao longo dessa trajetória. Pela paciência que tiveram e por agüentarem o meu mau-humor durante a fase final do mestrado. Por vocês serem tudo de mais precioso que tenho em minha vida.

Ao Prof. Julio Cesar de Freitas por todos os momentos de incentivo e paciência, principalmente durante a fase final deste trabalho. Pela excelente orientação e atenção dada durante todos esses anos e por ter sempre acreditado que algum dia poderia chegar aqui. Pela amizade que se criou entre nós e que com certeza levarei comigo sempre.

Aos professores Antônio Carlos, Roberta e Ana Paula pela ajuda prestada para a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Leptospirose, que desde o início de meu estágio de graduação me acolheu e me transmitiu todos os conhecimentos práticos que tenho. A Eleine, amiga querida desde a graduação, por sempre me ajudar e me apoiar em todos os momentos, especialmente nos mais difíceis, por ter me recebido de portas abertas em sua casa e por ter uma família maravilhosa, que me acolheu com todo o carinho do mundo. A Bruna, pela amizade, pelo ombro amigo, pela grande ajuda prestada para que esse trabalho se realizasse, especialmente tornando-se as idas ao frigorífico divertidíssimas. A Francielle, pela ajuda e pelos conhecimentos transmitidos desde a graduação e pelos laços de amizade que se criaram durante todo esse tempo. A Lucimara, que além de colega de trabalho, tornou-se uma amiga muito especial. Ao Kledir, Luciano, Daniela, Aline e Carioca pelo carinho e incentivo constante.

Ao Laboratório de Microbiologia pela atenção dada desde a graduação. A Lucienne e Zé pela ajuda durante todos esses anos. A Juliana Dias, pela grande amizade e lealdade, por sempre estar ao meu lado me apoiando e me ajudando nos momentos de muitas dificuldades e pela

ajuda prestada para que o meu trabalho se concluísse. A Juliana Galhardo e Juçara Tinasi pelo companheirismo, amizade e momentos de alegria.

Ao Laboratório de Anatomia Patológica, por sempre me receberem com um sorriso no rosto e me ajudarem para que este trabalho se realizasse. Agradeço a Tiziane, Kleber e estagiários. Agradeço a Claudia pela paciência que teve em me ensinar, sempre com muito carinho, a arte da montagem das lâminas. Agradeço a Letícia, que além de ser uma amiga querida, pela ajuda e pelos conselhos dados e pelas idas e vindas, que se tornaram divertidas, ao frigorífico durante o mestrado.

Ao Laboratório de Virologia Animal, que sempre me receberam com muito carinho. A Marlize, Alexandre, Kerlei, Dalíria e estagiários pela atenção e pelos momentos divertidos na UEL. A Betinha, que apesar de pouco tempo de amizade, tornou-se uma das pessoas mais especiais e queridas para mim, pela ajuda e pelo ombro amigo, principalmente nas fases mais difíceis. Ao Daniel (Frango), que se tornou um grande amigo, pela companhia constante durante a fase da escrita da dissertação e durante o nosso interminável treinamento profissional.

A amiga mais que especial Adriana Rosa, pelos 8 anos de amizade, pelo incentivo de continuar lutando pelos meus sonhos e por estar presente nos momentos de dificuldades e alegrias

A Amiga Mara, pela grande amizade que se tornou eterna.

A Gisele pela amizade e pelos conselhos dados durante todo esse tempo.

A equipe pelo companheirismo e pelos momentos divertidos.

Aos amigos da pós-graduação Paula, Kátia, Michele, Flora, Salmazo, Magoo, Dengoso, Grazi, Fabio Galli pela amizade.

Aos amigos Rômulo, Juliana, Cuba e Bibiana pela grande amizade e pelos momentos divertidos.

Ao meu grande amigo Eduardo Afonso, presente em todos os momentos, mesmo quando estava distante.

Ao clã Nishi, Marina, Karen e Èrika, pela amizade verdadeira desde a infância e pelos ótimos momentos de descontração que tivemos e temos até hoje, mesmo estando longe.

A Nikita pela companhia agradável e amizade.

Aos amigos da graduação pelas horas divertidas e laços que se criaram.

Paulo Sérgio Telez pela amizade e atenção constante durante a realização deste projeto.

Ao frigorífico e seus funcionários, pela paciência e colaboração, pois sem eles este projeto não se realizaria.

A todos os professores do Programa de Mestrado em Ciência Animal.

As funcionárias do Departamento, principalmente a Neusa, pelo carinho e pelos bolinhos de chuva deliciosos.

A todos que colaboraram na realização deste experimento.

A todos aqueles que acreditaram em mim e que em algum momento passaram pela minha vida, deixando sempre palavras de amizade, incentivo e em alguns casos saudades. Muito obrigada!!!

HASHIMOTO, Vanessa Yumi. **Associação da leptospirose com lesões renais macroscópicas tipo “White spots” em suínos aparentemente saudáveis, abatidos em frigoríficos da região norte do estado do Paraná**. 2006. 43f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2006.

RESUMO

A leptospirose suína é uma zoonose de grande significado econômico, responsável por elevadas perdas econômicas devido ao comprometimento no desempenho reprodutivo dos animais acometidos. Entretanto, suínos de terminação infectados por leptospirose são considerados frequentemente como portadores sãos e quando levados ao abate, estes animais podem passar despercebidos pelo Serviço de Inspeção Veterinária. Diversos autores consideram as lesões macroscópicas nos rins, conhecidas como “white spots”, como a única indicação de leptospirose em suínos. O objetivo deste trabalho foi associar a leptospirose em suínos aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná com as lesões renais macroscópicas tipo “white spots”. Foram colhidas amostras de rim e sangue intracardíaco de 120 animais com lesões renais macroscópicas tipo “white spots” e de 120 sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, utilizados como controle. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste do Qui-Quadrado (χ^2) ou Exato de Fisher. Para detectar anticorpos contra *Leptospira* spp, todos os soros foram submetidos a prova de soroprecipitação microscópica (SAM). Considerando a diluição 1:100 como ponte de corte da reação, não foi encontrada associação entre a SAM e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” ($p=0,27$). Todos os soros não reagentes na diluição 1:100 foram novamente diluídos a 1:20, 1:40 e 1:80. Considerando todos os soros com títulos de anticorpos ≥ 20 na SAM, foi encontrada associação entre a SAM e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” ($p=0,0021$). Os exames histopatológicos, corados pelo HE, realizados em cortes de rins do grupo com lesões “white spots” mostrou alterações estruturais em 118 (98,33%) suínos e em 84 (70,00%) animais do grupo sem lesões “white spots”. Foi verificada a associação entre os exames histopatológicos e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” ($p=0,0001$). Os resultados deste trabalho indicam que a *Leptospira* spp pode ser considerada uma das responsáveis pelas lesões macroscópicas tipo “white spots” em suínos, aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico, com títulos ≥ 20 na prova de soroprecipitação microscópica.

Palavras-chave: *Leptospira* spp. Suíno. “White spots”. Sorologia. Histopatologia.

HASHIMOTO, Vanessa Yumi. **Association between leptospirosis and kidneys' s macroscopic lesions type “White spots” in apparently healthy swine, originated from slaughterhouse in Northern Paraná State.** 2006. 43f. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2006.

ABSTRACT

Swine leptospirosis is a zoonotic disease with a worldwide distribution. The disease is responsible for increasing economic losses due to involve the reproduction system of infected animals. However, fatteners with leptospirosis are considered frequently as carrying and can pass unnoticed at the veterinary inspection when slaughter. Many authors consider the macroscopic lesions in the kidneys, known as “white spots”, as the only indication of leptospirosis in swine. The aim of this work was to associate the macroscopic lesions type “white spots” in swine’s kidneys with leptospirosis. The organs were collected from apparently healthy animals originated from slaughterhouses placed in northern Paraná State. Samples of kidney and intracardiac blood were collected from 120 animals with macroscopic lesions “white spots” and from 120 animals without the macroscopic lesions, used as negative control. The results were submitted to Qui-Square test (χ^2) or Fisher’s test. To detect antibodies against *Leptospira* spp, all the serums had been submitted to the microscopic agglutination test (MAT). Considering the 1:100 dilution as cut-off value of the reaction, association between MAT and the macroscopic kidney’s lesions type “white spots” was not found ($p=0,27$). All the not reacting serums in the 1:100 dilution, had been diluted again to 1:20, 1:40 and 1:80. Considering all the serums with antibodies titers ≥ 20 in MAT, association between MAT and the macroscopic kidney’s lesions “white spots” was found ($p=0,0021$). Slices of kidneys prepared with hematoxylin and eosin (HE) staining showed modifications in 118 animals (98,33%) originated from the group with “white spots” and in 84 (70,00%) animals belonging to the group without “white spots”. As a result, the association between histopathology and macroscopic lesions type “white spots” were verified ($p= 0,0001$). The results of this work indicate that the *Leptospira* spp can be considered one of the responsible for the macroscopic lesions of nephritis in swine, in apparently healthy animals originated from slaughterhouses with macroscopic kidney’s lesions type “white spots” and antibody titers ≥ 20 in MAT.

Keywords: *Leptospira* spp. Sswine. “White spots”. Serology. Histopathology.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Resultados da prova de soroaglutinação microscópica considerando os títulos de anticorpos ≥ 100 e entre os títulos 20 e 80, em 240 suínos aparentemente saudáveis, sendo 120 provenientes do grupo com lesão renal macroscópica tipo “white spots” e 120 provenientes do grupo sem lesão, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006..... 32
- Tabela 2** - Resultados da prova de soroaglutinação microscópica considerando os títulos de anticorpos ≥ 20 em 240 suínos aparentemente saudáveis, sendo 120 provenientes do grupo com lesão renal macroscópica tipo “white spots” e 120 provenientes do grupo sem lesão, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006 32
- Tabela 3** - Resultados dos exames histopatológicos (HE) em 240 suínos aparentemente saudáveis, sendo 120 provenientes do grupo com lesão renal macroscópica tipo “white spots” e 120 provenientes do grupo sem lesão, abatidos em frigorífico da região norte do Estado de Paraná, 2006 33
- Tabela 4** - Resultados dos exames histopatológicos (HE) e prova de soroaglutinação microscópica (SAM), considerando reagentes os títulos de anticorpos ≥ 20 em 120 suínos aparentemente saudáveis, com lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006 34
- Tabela 5** - Resultados dos exames histopatológicos (HE) e prova de soroaglutinação microscópica (SAM), considerando reagentes os títulos de anticorpos ≥ 20 em 120 suínos aparentemente saudáveis, sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006 34

SUMÁRIO

1 REVISÃO DE LITERATURA	11
Resumo	11
Abstract.....	11
1.1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	17
Associação da leptospirose com lesões renais macroscópicas tipo “white spots” em suínos aparentemente sadios, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná.	18
Resumo	18
Abstract.....	19
Introdução.....	20
Material e métodos	21
Resultados.....	23
Discussão	25
Conclusão	28
Referências	29
4 CONCLUSÃO GERAL	35
REFERÊNCIAS	36
ANEXOS	39
Anexo 1	40

1 REVISÃO DE LITERATURA

RESUMO

A leptospirose suína é uma zoonose mundialmente difundida, responsável por elevadas perdas econômicas devido ao comprometimento no desempenho reprodutivo dos animais acometidos. Nos suínos, durante a fase de leptospiremia, ocorre a disseminação e multiplicação da leptospira, sendo o rim considerado um dos principais locais de permanência deste microrganismo. As alterações histológicas em rins infectados por leptospiras mostram um quadro variado de lesões, predominando as nefrites intersticiais. As lesões macroscópicas da nefrite intersticial, conhecidas como “white spots” são uma das principais causas de condenação de rins de suínos em frigoríficos. Vários autores consideram estas lesões específicas da leptospirose, entretanto, no Brasil, atualmente são poucas as pesquisas que relacionam a leptospirose e as lesões macroscópicas tipo “white spots” nos rins de suínos. Várias são as técnicas laboratoriais utilizadas para o diagnóstico da leptospirose suína. A prova de soroaglutinação microscópica (SAM), método recomendado pela Organização Mundial de Saúde, associada as técnicas de imunoperoxidase e histopatologia podem ser úteis para caracterizar a relação entre a leptospirose e as lesões macroscópicas tipo “white spots” nos rins de suínos.

Palavras-chave: Leptospirose. Suínos. Rins. “White spots”.

ABSTRACT

Swine leptospirosis is a zoonotic disease with a worldwide distribution. The disease is responsible for increasing economic losses due to involve the reproduction system of infected animals. In swine, during leptospiremia phase occur a dissemination and multiplication of leptospire. In addition, the kidney is considered one of the major places of permanence for leptospire. The histological modification in infected kidneys from leptospire shows several types of lesions having interstitial nephritis as the major finding. Macroscopic lesions from interstitial nephritis, known as “white spots”, are one of the main causes of condemnation of swine’s kidneys in slaughterhouses. Many authors consider this type of lesions as specific from leptospirosis. However, in Brazil, nowadays, just a few researches relate leptospirosis with macroscopic lesions as white spots in swine kidney. A lot of laboratory techniques are used to diagnose swine leptospirosis including the microscopic agglutination test (MAT) as a method recommended by World Health Organization (WHO). In addition, the association between MAT, immunoperoxidase and histology methods can be useful to characterize the relation between leptospirosis and macroscopic lesions in “white spots” swine’s kidneys.

Keywords: Leptospirosis. Swine. Kidneys. “White spots”.

1.1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma das mais importantes zoonoses de ocorrência mundial, causada por diferentes sorovares (MAILLOUX, 2001).

Os suínos são suscetíveis a vários sorovares (FAINE, 1982), sendo considerados hospedeiros definitivos dos sorovares Pomona, Bratislava e Tarassovi e hospedeiros acidentais dos sorovares Icterohaemorrhagiae, Canicola, Autumnalis, Hardjo e Grippotyphosa (ELLIS, 1992).

Levantamentos sorológicos nesta espécie animal realizados por Reis et al. (1973) em Minas Gerais, Oliveira (1977) em Santa Catarina e Rio Grande do Sul, Larsson et al. (1984) em São Paulo, Paraná e Santa Catarina e Langoni et al. (1995) em São Paulo, detectaram o predomínio de anticorpos contra os sorovares Pomona e Icterohaemorrhagiae.

Fávero et al. (2002) analisando resultados dos exames sorológicos de leptospirose suína, no período de 1987 a 1997, constataram maior frequência de reações para o sorovar Icterohaemorrhagiae (33,0% a 66,6%) nos Estados de SP, SC, PR e GO, para o sorovar Pomona (100%, 33,3% e 47,7%) no RS, RJ e PE respectivamente, para o sorovar Grippotyphosa (33,3%) em MG e para o sorovar Autumnalis (50%) no CE.

Delben et al. (2002), no período de 1999 a 2000, pesquisando em propriedades de suínos da região norte do Paraná, detectaram maior frequência de reações para o sorovar Icterohaemorrhagiae. O mesmo foi observado por Shimabukuro et al. (2003) que também relataram predomínio do sorovar Icterohaemorrhagiae em suínos de abatedouro da região de Botucatu no Estado de São Paulo.

Os primeiros trabalhos sobre isolamento de *Leptospira* spp em suínos no Brasil foram iniciadas por Guida (1958) que identificou três amostras isoladas de rins de suínos aparentemente normais, procedentes de Rio Claro, Estado de São Paulo. Foi realizada a prova de soroaglutinação microscópica com soros hiperimunes para os sorovares Pomona, Grippotyphosa, Australis, Balum, Canicola, Icterohaemorrhagiae e Tarassovi. Os três soros aglutinaram o sorovar Tarassovi na diluição 1:3000. Seguiram-se os trabalhos de Santa Rosa et al. (1962) que isolaram, leptospiros do sorovar Pomona da urina de uma porca que havia abortado e de Castro et al. (1962) que registraram o primeiro isolamento, no Brasil, do sorovar Canicola de rim de suíno, aparentemente sadio, abatido em frigorífico da região do Estado de São Paulo.

Oliveira et al. (1983) no Rio Grande do Sul e Freitas et al. (2004) no Paraná isolaram, respectivamente, o sorovar Pomona e Canicola em amostras de rim e fígado de suínos, aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico.

Na espécie suína, as leptospirosas são responsáveis por transtornos reprodutivos, que consistem em retorno ao cio nas primeiras seis semanas de gestação, descargas vulvares, abortos na fase final da gestação, natimortos e nascimento de leitões fracos (OLIVEIRA, 1994). Ocasionalmente, lesões em vários órgãos, principalmente no fígado (MICHNA & CAMPBELL, 1969), no entanto alguns sorovares (Pomona, Canicola, Tarassovi e Icterohaemorrhagiae) alojam-se, preferencialmente, nos rins e são eliminados pela urina (OLIVEIRA, 1994). A maioria dos achados anátomopatológicos em suínos tem sido encontrada após a fase crônica da doença e estão frequentemente limitados aos rins.

Estudos têm sido realizados para esclarecer a etiologia da nefrite intersticial em suínos, aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico (HUNTER et al., 1987; JONES et al., 1987; BAKER et al., 1989; DROLET et al., 2002; BOQVIST et al., 2003). Entre os vários microrganismos responsáveis pela nefrite intersticial em suínos, a *Leptospira* spp tem sido considerada um dos principais agentes causadores desta lesão (MAXIE & PRESCOTT, 1993), caracterizada histologicamente por vários graus de fibrosamento e infiltração celular intersticial (BAKER et al., 1989).

As lesões macroscópicas da nefrite intersticial, conhecidas como “white spots” são uma das principais causas de condenação de rins de suínos em abatedouros (DROLET et al., 2002). Estas lesões apresentam-se como focos branco-acizentados de um a três milímetros de diâmetro, predominantemente corticais. Algumas vezes, uma reação mais aguda aparece como um anel de congestão em volta do foco (OLIVEIRA, 1988).

O diagnóstico da leptospirose pode ser realizado por diferentes métodos laboratoriais baseados na detecção direta ou indireta do agente ou do material genético (FAINE et al., 1999), entretanto técnicas complementares, como a histopatologia podem auxiliar no diagnóstico.

A prova de soroaglutinação microscópica (SAM) é o método indireto mais utilizado para o diagnóstico da leptospirose suína (VASCONCELLOS, 1979). Para a sua realização é necessária uma infra-estrutura mínima e pessoal qualificado. Este teste utiliza antígenos vivos para detectar anticorpos presentes no soro (LEVETT, 2001). Os antígenos utilizados devem conter pelo menos um representante de cada sorogrupo. A especificidade e a sensibilidade da SAM são altas, entretanto a sensibilidade declina à medida que aumenta o

tempo decorrido após a infecção. Para a sua realização é necessária uma infra-estrutura mínima e pessoal qualificado (FAINE et al., 1999).

O isolamento de leptospiras permite o diagnóstico definitivo da leptospirose e a identificação do sorovar infectante, dado este importante tanto na epidemiologia como na profilaxia da doença (FAINE et al., 1999). As técnicas de isolamento são demoradas e laboriosas, sendo restritas a poucos laboratórios. O rápido processamento das amostras, a utilização de meios de transporte e de meios de culturas que satisfaçam exigências nutricionais das leptospiras, o uso de antibióticos seletivos para controle de bactérias contaminantes e as técnicas de diluições aumentam as chances de isolamento de leptospiras (ADLER et al., 1986).

Entre as técnicas de diagnóstico baseadas na detecção do DNA da leptospira, a reação em cadeia pela polimerase (PCR) vem sendo utilizada com mais frequência na detecção da enfermidade em várias espécies animais (RICHTZENHAIN et al., 2002). Apesar da alta especificidade e sensibilidade desta técnica, a necessidade de equipamentos específicos, o elevado custo dos reagentes e a ausência de procedimentos automatizados e padronizados impedem sua implantação na rotina de diagnóstico, principalmente em áreas endêmicas da doença (BOLIN, 1996).

As alterações celulares decorrentes da presença das leptospiras em cortes histológicos podem ser visualizadas pela coloração Hematoxilina-Eosina. Hanson e Tripathy (1986) relataram pequenas alterações histológicas, em suínos, durante a fase aguda da leptospirose, caracterizadas por lesão tubular renal, necrose focal do fígado, infiltração linfocítica da glândula adrenal e meningoencefalite associada à infiltração linfocítica perivascular (CHAUDHARY et al., 1966). Na fase crônica da doença, as principais alterações histopatológicas encontram-se no rim e são caracterizadas por uma progressiva nefrite intersticial focal (LANGHAM et al., 1958). A infiltração intersticial leucocitária, que consiste de linfócitos, macrófagos e células plasmáticas, pode ser extensa em algumas áreas. Podem ocorrer ainda outras alterações como, fibrose e/ou atrofia dos glomérulos, espessamento da cápsula de Bowman contendo material eosinofílico granular (LANGHAM et al. 1958), atrofia ou hiperplasia e presença de debris necróticos no lúmen tubular e hemorragias no espaço intersticial.

As provas imunoistoquímicas, como imunoperoxidase têm sido usadas para o diagnóstico *post-mortem* da leptospirose. A técnica de imunoperoxidase pode ser um importante instrumento para o diagnóstico da leptospirose em biópsias ou materiais de necropsia submetidos rotineiramente à histopatologia (ELLIS et al., 1983). Ela é indicada na

detecção de leptospiros nos tecidos e apresenta como vantagens, baixo custo e visualização da reação tanto em microscópio óptico quanto em microscopia eletrônica. Esta prova possibilita a utilização de fragmentos rotineiramente fixados em formol, a visualização simultânea do agente e das lesões microscópicas e a detecção de leptospiros, mesmo quando estas se apresentam fragmentadas ou na presença de outras bactérias (FAINE et al., 1999).

Tendo em vista o aspecto econômico, epidemiológico e zoonótico da leptospirose suína, torna-se necessário a realização de estudos que caracterizem ou não a associação entre a *Leptospira* spp e as lesões renais macroscópicas em suínos aparentemente saudáveis.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Associar a leptospirose em suínos, aparentemente sadios, com as lesões renais macroscópicas tipo “white spots”.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Associar a leptospirose com as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” utilizando a prova de soroaglutinação microscópica e a histopatologia.
- Caracterizar pela histopatologia as lesões renais macroscópicas tipo “white spots”;

3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

**ASSOCIAÇÃO DA LEPTOSPIROSE COM AS LESÕES RENAIIS
MACROSCÓPICAS TIPO “WHITE SPOTS” EM SUÍNOS APARENTEMENTE
SADIOS, ABATIDOS EM FRIGORÍFICO DA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO
PARANÁ**

ASSOCIAÇÃO DA LEPTOSPIROSE COM AS LESÕES RENAI MACROSCÓPICAS TIPO “WHITE SPOTS” EM SUÍNOS APARENTEMENTE SADIOS, ABATIDOS EM FRIGORÍFICO DA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ

RESUMO

As lesões macroscópicas da nefrite intersticial, conhecidas como “white spots”, são uma das principais causas de condenação de rins de suínos em frigoríficos. Entre os vários microrganismos responsáveis pela nefrite intersticial em suínos, a *Leptospira* spp tem sido considerada um dos principais agentes causadores desta lesão. O objetivo deste trabalho foi associar a leptospirose em suínos aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná com as lesões renais macroscópicas tipo “white spots”. Foram colhidas amostras de rim e sangue intracardíaco de 120 animais com lesões renais macroscópicas tipo “white spots” e de 120 sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, utilizados como controle. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste do Qui-Quadrado (χ^2) ou Exato de Fisher. Para detectar anticorpos contra *Leptospira* spp, todos os soros foram submetidos a prova de sorologia microscópica (SAM). Considerando a diluição 1:100 como ponte de corte da reação, não foi encontrada associação entre a SAM e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” ($p=0,27$). Todos os soros não reagentes na diluição 1:100 foram novamente diluídos a 1:20, 1:40 e 1:80. Considerando todos os soros com títulos de anticorpos ≥ 20 na SAM, foi encontrada associação entre a SAM e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” ($p=0,0021$). Os exames histopatológicos, corados pelo HE, realizados em cortes de rins do grupo com lesões “white spots” mostrou alterações estruturais em 118 (98,33%) suínos e em 84 (70,00%) animais do grupo sem lesões “white spots”. Foi verificada a associação entre os exames histopatológicos e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” ($p=0,0001$). **Palavras-chave:** *Leptospira* spp, suíno, “white spots”, sorologia, histopatologia.

**ASSOCIATION BETWEEN LEPTOSPIROSIS AND KIDNEYS' S MACROSCOPIC LESIONS TYPE
“WHITE SPOTS” IN APPARENTLY HEALTHY SWINE, ORIGINATED FROM
SLAUGHTERHOUSE IN NORTHERN PARANÁ STATE**

ABSTRACT

Macroscopic lesions caused by interstitial nephritis, known as “white spots”, are one of the major causes of condemnation of swine’s kidneys in slaughterhouses. Among all organisms responsible for interstitial nephritis in swine, *Leptospira* spp has been considered one of the major agents responsible for this type of lesion. The aim of this work was to associate the macroscopic lesions type “white spots” in swine’s kidneys with leptospirosis. The organs were collected from healthy animals originated from slaughterhouses placed in northern Paraná State. Samples of kidney and intracardiac blood were collected from 120 animals with macroscopic lesions “white spots” and from 120 animals without the macroscopic lesions, used as negative control. The results were submitted to Qui-Square test (χ^2) or Fisher’s test. To detect antibodies against *Leptospira* spp, all the serums had been submitted to the microscopic agglutination test (MAT). Considering the 1:100 dilution as cut-off value of the reaction, association between MAT and the macroscopic kidney’s lesions type “white spots” was not found ($p=0,27$). All the not reacting serums in the 1:100 dilution, had been diluted again to 1:20, 1:40 and 1:80. Considering all the serums with antibodies titers ≥ 20 in MAT, association between MAT and the macroscopic kidney’s lesions type “white spots” was found ($p=0,0021$). Slices of kidneys prepared with hematoxylin and eosin (HE) staining showed modifications in 118 animals (98,33%) originated from the group with “white spots” and in 84 (70,00%) animals belonging to the group without “white spots”. As a result, the association between histopathology and macroscopic lesions type “white spots” were verified ($p= 0,0001$).

Keywords: *Leptospira* spp, swine, “white spots”, serology, histopathology.

INTRODUÇÃO

A leptospirose suína é uma zoonose de grande significado econômico (HATHAWAY & LITTLE, 1981), sendo reconhecida mundialmente pelos transtornos na esfera reprodutiva que consistem em retorno ao cio nas primeiras seis semanas de gestação, descargas vulvares, abortos na fase final da gestação, natimortos e nascimento de leitões fracos (OLIVEIRA, 1994). Entretanto, suínos de terminação infectados por leptospirosas são considerados freqüentemente como portadores sãos e quando levados ao abate, estes animais podem passar despercebidos pelo Serviço de Inspeção Veterinária (ELLIS, 1999).

A *Leptospira* spp se caracteriza pela persistência nos rins sendo eliminada pela urina por vários meses após a infecção (FAINE, 1982), assumindo importância em saúde pública. As lesões macroscópicas nos rins, conhecidas como “white spots”, são consideradas por diversos autores como a única indicação de leptospirose em suínos, aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico (HUNTER et al., 1987; BAKER et al., 1989). Estas lesões apresentam-se como focos branco-aczentados de um a três milímetros de diâmetro, predominantemente corticais (OLIVEIRA, 1988) e provocam alterações caracterizadas como nefrites intersticiais focais ou difusas (MAXIE & PRESCOTT, 1993).

Entre as várias provas de diagnóstico da leptospirose suína, a soroaglutinação microscópica (SAM) é método mais utilizado mundialmente e recomendado pela Organização Mundial de Saúde (FAINE et al., 1999). As alterações decorrentes da presença das leptospirosas em tecidos de eleição do agente como os rins, podem ser visualizadas pelo exame histopatológico. O objetivo deste trabalho foi associar a leptospirose em suínos aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico com as lesões renais macroscópicas tipo “white spots”.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de março de 2004 a abril de 2005, foram utilizados materiais biológicos de 240 suínos, aparentemente saudáveis, com histórico sanitário desconhecido, oriundos de várias propriedades, abatidos em um frigorífico da região norte do Estado do Paraná, com Serviço de Inspeção Federal. Foram coletadas amostras de rim e sangue intracardíaco de 120 animais com lesões renais macroscópicas tipo “white spots” (casos) e de 120 sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots” (controles). A visita ao frigorífico foi realizada uma vez por semana, sendo colhidas no máximo 10 amostras por visita e o número de amostras colhidas dependia da casualidade das lesões. Todos os controles foram colhidos imediatamente após a colheita dos casos.

O sangue colhido foi acondicionado em tubos estéreis, identificado com o número da carcaça, mantido em temperatura ambiente até retração do coágulo e o soro armazenado em duas alíquotas a -20°C até o momento de sua utilização. Para detectar anticorpos contra *Leptospira* spp os 240 soros foram submetidos a SAM, utilizando 22 sorovares de referência: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcomb, Cynopteri, Fortbragg, Grippytyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffii, Shermani, Sentot e Tarassovi e as estirpes Londrina 4 (LO 4 sorovar Canicola) e Londrina 10 (LO 10 sorovar Icterohaemorrhagiae). As estirpes LO 4, isolada do fígado de suíno e a LO 10 isolada da urina de fêmea bovina, ambos animais abatidos em frigorífico do norte do Paraná, foram identificadas pelo Royal Tropical Institute – Amsterdã, the Netherland. Todos os sorovares de referência e as estirpes LO 4 e LO 10 foram mantidos a 28°C por 5 a 10 dias em meio EMJH (DIFCO®-USA) modificado pela adição de soro de coelho (ALVES, 1995).

Os soros foram inicialmente diluídos a 1:50 em tampão PBS. Alíquotas de 50 µl de cada soro foram pipetadas em cavidades de microplacas acrescentando-se a seguir 50 µl de cada um dos antígenos nas cavidades correspondentes a cada amostra, obtendo-se assim, uma diluição de 1:100, considerada o ponto de corte da reação. Os soros reagentes na triagem foram titulados em uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresenta 50 % de leptospiras aglutinadas (MYERS, 1985). Todos os soros não reagentes na diluição 1:100, foram novamente diluídos a 1:20, 1:40 e 1:80 (CHAPPEL et al., 1992). A leitura foi realizada em microscópio de campo escuro de acordo com Myers (1985).

As amostras de rim, com e sem lesões macroscópicas, obtidas de cada animal, durante a evisceração, na linha de abate, foram mantidos imediatamente sob refrigeração e encaminhadas ao laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Estadual de Londrina. Fragmentos de rins foram fixados em solução de formalina tamponada a 10% e submetidos à desidratação em soluções crescentes de álcoois, diafanização em xilol e inclusão em parafina. De cada fragmento foram realizados cortes de 5 µm de espessura. Estes cortes foram submetidos à coloração de Hematoxilina-Eosina (HE) (BREHMER et al., 1976) para o diagnóstico histopatológico.

A associação da leptospirose com as lesões macroscópicas tipo “white spots” em rins de suínos, detectadas pela SAM e histopatologia, foram analisadas através do Teste do Qui-Quadrado (χ^2) ou Exato de Fisher utilizando o programa estatístico EpiInfo, versão 6.04d (CDC-Atlanta), adotando-se 95% de nível de confiança.

RESULTADOS

Nos soros de 120 animais com lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, foram encontrados títulos de anticorpos ≥ 100 na SAM em 21 (17,50%) (Tabela 1). Anticorpos contra o sorovar Icterohaemorrhagiae foram encontrados em 16 (76,19%) animais, seguidos do sorovar Shermani em três (14,29%), Autumnalis em um (4,76%) e Castellonis em um (4,76%). Dos 99 (82,50%) soros não reagentes na diluição 1:100, 36 (36,36%) foram sororeagentes entre os títulos 20 e 80, sendo detectados anticorpos em 35 (97,22%) contra o sorovar Icterohaemorrhagiae e em um (2,78%) contra o sorovar Shermani (Tabela 2).

Nos soros de 120 animais sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, foram encontrados títulos de anticorpos ≥ 100 na SAM em 14 (11,66%) (Tabela 1). Anticorpos contra o sorovar Icterohaemorrhagiae foram encontrados em sete (50,00%) animais, seguidos do sorovar Shermani em seis (42,86%) e Sentot em um (7,14%). Entre os 106 (88,33%) soros não reagentes na diluição 1:100, 19 (17,92%) foram sororeagentes entre os títulos 20 e 80, sendo detectados anticorpos em 15 (78,94%) contra o sorovar Icterohaemorrhagiae e em quatro (21,06%) contra o sorovar Shermani (Tabela 2).

Não houve associação entre a SAM quando foram considerados apenas os animais com títulos de anticorpos ≥ 100 e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” ($p=0,27$) (Tabela 1). Foi encontrada associação entre a SAM quando considerado o total de animais com título de anticorpos ≥ 20 ($p=0,0021$) e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” (Tabela 2). Suínos com títulos de anticorpos ≥ 20 apresentaram no OR, 2,39 (1,35-4,24) vezes mais chances de ter lesões renais tipo “white spots” quando comparado a suínos que não apresentaram títulos de anticorpos ≥ 20 na SAM.

Os exames histopatológicos nos 240 suínos mostraram alterações nos cortes histológicos do rim em 118 (98,33%) animais provenientes do grupo com lesões renais

macroscópicas tipo “white spots” e em 84 (70,00%) animais provenientes do grupo sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots” (Tabela 3).

As alterações teciduais observadas nos rins foram: infiltrados inflamatórios intersticiais de células linfocitárias e plasmocitárias, focais e difusas e focos de fibrose da porção cortical renal. Verificou-se ainda que os túbulos e glomérulos associados a estas lesões estavam frequentemente distorcidos, espessados, caracterizando a nefrite intersticial. Outras alterações histológicas também foram observadas como congestão, presença de focos hemorrágicos, infarto renal, necrose tubular focal e degeneração vacuolar do epitélio tubular.

Foi verificada a associação entre a histopatologia e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” ($p=0,0001$).

Dos 120 suínos provenientes do grupo com lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, 57 (47,50%) apresentaram alterações histológicas nos cortes de rins e foram sororeagentes entre os títulos de anticorpos ≥ 20 na SAM, enquanto em 61 (50,83%) suínos foram detectadas alterações histológicas nos cortes de rins, mas não foram sororeagentes entre os títulos de anticorpos ≥ 20 na SAM (Tabela 4).

Dos 120 suínos provenientes do grupo sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, 33 (27,50%) apresentaram alterações histológicas nos cortes de rins e foram sororeagentes entre os títulos de anticorpos ≥ 20 na SAM, enquanto em 51 (42,50%) suínos foram detectadas alterações histológicas nos cortes de rins, mas não foram sororeagentes entre os títulos de anticorpos ≥ 20 na SAM (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Neste trabalho, 21 soros de animais provenientes do grupo com lesões renais macroscópicas tipo “white spots” apresentaram títulos de anticorpos ≥ 100 na SAM. Dos 99 soros não reagentes na diluição 1:100 provenientes do grupo com lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, 36 foram sororeagentes, quando diluídos a 1:20, 1:40 e 1:80. Freitas (2006)¹ relatou o isolamento de uma estirpe de leptospira a partir de uma fêmea suína, considerada negativa na diluição 1:100 na SAM. Resultados semelhantes foram obtidos por Ellis et al. (1986), que isolaram leptospira de uma porca, também considerada negativa na diluição 1:100 na SAM, 147 dias após a ocorrência do aborto. Os resultados sorológicos encontrados nos animais com títulos menores que 100 estão de acordo com Delben et al. (2002) e Ellis et al. (1986) que sugeriram que suínos infectados por leptospiras podem apresentar-se negativos na SAM quando considerado os títulos de anticorpos ≥ 100 .

Dos soros dos animais provenientes do grupo sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, 14 apresentaram títulos de anticorpos ≥ 100 na SAM. Dos 106 soros não reagentes na diluição 1:100 provenientes do grupo sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, 19 foram sororeagentes, quando diluídos a 1:20, 1:40 e 1:80. Títulos baixos de anticorpos contra *Leptospira* spp encontrados na SAM podem ser resultantes de infecção recente, sem a colonização renal (CHAPPEL et al., 1992) ou ser provenientes de contato, sem a evolução da infecção ou da doença (BOLIN, 1996).

Em 75 suínos sororeagentes na SAM foram detectados anticorpos contra o sorovar Icterohaemorrhagiae. Resultados semelhantes foram obtidos por Delben et al. (2002), contra o

1 – Comunicação pessoal

sorovar *Icterohaemorrhagiae* em suínos destinados ao abate. Em 75 suínos sororeagentes na SAM foram detectados anticorpos contra o sorovar *Icterohaemorrhagiae*. Resultados semelhantes foram obtidos por Delben et al. (2002), Shimabukuro et al. (2003) que também encontraram uma maior frequência de anticorpos contra o sorovar *Icterohaemorrhagiae* em suínos destinados ao abate, respectivamente do norte do Paraná e do Estado de São Paulo. Fávero (2002) sugere que a evolução da suinocultura nacional, observada nos últimos anos, deve ter modificado o perfil sorológico das granjas, na qual o sorovar Pomona tradicionalmente mantido pelos próprios suínos, está sendo substituído pelo sorovar *Icterohaemorrhagiae*. Faine (1982) considera que este sorovar apresenta uma associação com roedores sinantrópicos e dessa maneira deve haver a implantação de procedimentos destinados ao controle destes reservatórios como parte do manejo das criações.

Segundo Ellis (1999), as lesões macroscópicas na fase crônica da leptospirose suína estão confinadas nos rins e consistem de focos branco-acinzentados predominantemente corticais, conhecidas como “white spots”. Microscopicamente, estas lesões são consideradas nefrites intersticiais, caracterizadas pelo acúmulo de células inflamatórias (DROLET et al., 2002). Entre os vários microorganismos responsáveis pela nefrite intersticial em suínos (CHAPPEL et al., 1992; DROLET et al., 2002; BOQVIST et al., 2003), a *Leptospira* spp tem sido considerado um dos principais agentes causadores desta lesão (MICHINA & CAMPBELL, 1969; JONES et al., 1987; BAKER et al., 1989; MAXIE & PRESCOTT, 1993). Estas lesões têm sido encontradas em suínos aparentemente sadios, abatidos em frigorífico (MAXIE & PRESCOTT, 1993). Neste trabalho, foi encontrada associação ($p=0,0001$) entre as alterações teciduais caracterizadas como nefrite, no exame histopatológico do rim de 118 suínos e as lesões macroscópicas tipo “white spots”. Drolet et al. (2002) e Martinez et al. (2005) pesquisando suínos aparentemente sadios também demonstraram a mesma associação. No presente estudo, não foi encontrada associação ($p=$

0,27) entre as alterações macroscópicas tipo “white spots” e a SAM considerando os 21 soros com títulos de anticorpos ≥ 100 . Boqvist et al. (2002) não encontraram associação entre títulos de anticorpos contra *Leptospira* spp e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots” em suínos abatidos em frigorífico sugerindo que estas lesões podem ocorrer em suínos infectados mesmo quando os títulos de anticorpos estiverem abaixo do ponto de corte.

Delben et al. (2002) demonstraram uma relação entre suínos com títulos de anticorpos ≥ 20 e a presença de alterações teciduais, compatíveis com a infecção por *Leptospira* spp. Essa mesma associação ($p=0,0021$) foi encontrada neste trabalho entre as alterações macroscópicas tipo “white spots” e a SAM considerando os títulos de anticorpos ≥ 20 .

CONCLUSÃO

Estudando suínos aparentemente sadios, abatidos em frigorífico:

Foi encontrada uma maior frequência de anticorpos contra o sorovar Icterohaemorrhagiae nos animais sororeagentes.

Foi demonstrada associação entre as alterações teciduais caracterizadas como nefrite e as lesões macroscópicas tipo “white spots”.

Foi também demonstrada a associação entre a SAM, quando considerado o total de animais com títulos de anticorpos ≥ 20 ($p=0,0021$) e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots”.

Não foi verificada associação entre a SAM quando considerado apenas os animais com títulos de anticorpos ≥ 100 ($p= 0,27$) e as lesões renais macroscópicas tipo “white spots”.

REFERÊNCIAS

- ALVES, C.J. **Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos sororeatores para leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil.** 1995. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
- BAKER, T.F et al. The prevalence of leptospirosis and its association with multifocal interstitial nephritis in swine at slaughter. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 53, p. 290-294, 1989.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**, São Paulo: EDART, 241p, 1976.
- BOLIN, C.A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companions animals. **Semin. Vet. Med. Surg. (Small Animal)**, n.3, v.11, p.166-71, 1996.
- BOQVIST, S. et al. *Leptospira* in slaughtered fattening pigs in southern Vietnam: presence of bacteria in the kidneys and association with morphological findings. **Veterinary Microbiology**, v. 93, p.361-368, 2003.
- CHAPPEL, R.J. et al. Serological evidence for the presence of *Leptospira interrogans* serovar *bratislava* in Australian pigs. **Australian Veterinary Journal**, v.69, n.5, 1992.
- DELBEN, A.C.B et al. Leptospirosis in slaughtered sows: serological and histopathological investigation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p. 174-177, 2002.
- DROLET, R. et al. Infectious agents identified in pigs with multifocal interstitial nephritis at slaughter. **The Veterinary Record** v.150, p.139-143, 2002.
- ELLIS, W.A.et al. Isolation of leptospires from the genital tract and kidneys of aborted sows. **The Veterinary Record**, v.15, p.294-295, 1986.
- ELLIS, W.A. **Leptospirosis**. In: Disease of Swine, p.483-493, 1999.

- FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. Geneva: World Health Organization; 1982 (WHO Offset publication 67).
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2ed. Melbourne: Medisci, 1999.
- FÁVERO, A.C.M. et al. Sorovares de Leptospiras predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.4, p. 613-619, 2002.
- HATHAWAY, S. C.; LITTLE, T. W. A.; AND STEVENS, A. E. Serological and bacteriological survey of leptospiral infection in pigs in southern England. **Research of Veterinary Science**, v.31, p. 169-173, 1981.
- HUNTER, P. et al. Leptospirosis as a cause of “white spot” kidneys in South African pig abattoirs. **Onderstepoort Journal of Veterinay Research** v.54, p. 59-62, 1987.
- JONES, R.T et al. Macroscopic kidney lesions in slaughtered pigs are an inadequate indicator of current leptospiral infection. **Australian Veterinary Journal**, v.64, p. 258-259, 1987.
- MARTINEZ, ; J. SEGALËS. J.; ADURIZ, G. Pathological and aetiological studies of multifocal interstitial nephritis in wasted pigs at slaughter. **Research of Veterinary Science**, 2005.
- MAXIE & PRESCOTT, J.F. The urinary system. In: **Pathology of Domestic Animals**., 4th edn, v.3, p.447-538, 1993.
- 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.
- MYERS, D. Leptospirosis: **Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio Buenos Aires: Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS**, 1985 (Nota técnica 30).
- OLIVEIRA, S.J. Infecções no trato urinário em suínos. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desidério Finamor”**, v.1, n. 130, p. 71-85, 1988.

OLIVEIRA, S.J. Atualização nos conceitos sobre leptospirose em suínos. **A Hora Veterinária**, n. 79, p. 52-55, 1994.

SHIMABUKURO, F.H. et al. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospiras pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, n.4, p.243-253, 2003.

Tabela 1: Resultados da prova de soroaglutinação microscópica considerando os títulos de anticorpos ≥ 100 e entre os títulos 20 e 80, em 240 suínos aparentemente saudáveis, sendo 120 provenientes do grupo com lesão renal macroscópica tipo “white spots” e 120 provenientes do grupo sem lesão, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006.

Lesão renal macroscópica	*Título ≥ 100			20 \geq * Título ≤ 80		
	Reagente	Não reagente	Total	Reagente	Não reagente	Total
	n° (%)	n° (%)	N° (%)	n° (%)	n° (%)	n° (%)
Com lesão	21 (17,50)	99 (82,50)	120 (100)	36 (36,36)	63 (63,64)	99 (100)
Sem lesão	14 (11,67)	106 (88,33)	120 (100)	19 (17,92)	87 (82,08)	106 (100)

* prova de soroaglutinação microscópica

Resultado do teste do Qui-Quadrado (χ^2) considerando os 21 animais provenientes do grupo com lesão com títulos de anticorpos ≥ 100

$$\chi^2 = 1,20$$

$$p = 0,2724$$

Tabela 2: Resultados da prova de soroaglutinação microscópica considerando os títulos de anticorpos ≥ 20 em 240 suínos aparentemente saudáveis, sendo 120 provenientes do grupo com lesão renal macroscópica tipo “white spots” e 120 provenientes do grupo sem lesão, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006.

Lesão renal macroscópica	*Título ≥ 20					
	Reagente		Não reagente		Total	
	n°	(%)	n°	(%)	n°	(%)
Com lesão	57	(47,50)	63	(52,50)	120	(100,00)
Sem lesão	33	(27,50)	87	(72,50)	120	(100,00)

* prova de soroaglutinação microscópica

$$\chi^2 = 9,40$$

$$p = 0,0021$$

Tabela 3: Resultados dos exames histopatológicos (HE) em 240 suínos, aparentemente saudáveis, sendo 120 provenientes do grupo com lesão renal macroscópica tipo “white spots” e 120 provenientes do grupo sem lesão, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006.

Lesão renal macroscópica	Histopatologia					
	Presença de alteração histológica		Ausência de alteração histológica		Total	
	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
Com lesão	118	(98,33)	02	(1,67)	120	(100,00)
Sem lesão	84	(70,00)	36	(30,00)	120	(100,00)

$$\chi^2 = 34,05$$

$$p = 0,0001$$

Tabela 4: Resultados dos exames histopatológicos (HE) e prova de soroglutinação microscópica (SAM), considerando reagentes os títulos de anticorpos ≥ 20 em 120 suínos, aparentemente saudáveis, com lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006.

Exame sorológico	Histopatologia					
	Presença de alteração Histológica		Ausência de alteração histológica		Total	
	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
SAM +	57	(47,50)	0	(0)	57	(47,50)
SAM -	61	(50,83)	02	(1,67)	63	(52,50)
Total	118	(98,33)	02	(1,67)	120	(100,00)

Teste Exato de Fisher $p = 0,4970$

Tabela 5: Resultados dos exames histopatológicos (HE) e prova de soroglutinação microscópica (SAM), considerando reagentes os títulos de anticorpos ≥ 20 em 120 suínos, aparentemente saudáveis, sem lesões renais macroscópicas tipo “white spots”, abatidos em frigorífico da região norte do Estado do Paraná, 2006.

Exame sorológico	Histopatologia					
	Presença de alteração histológica		Ausência de alteração histológica		Total	
	nº	(%)	nº	(%)	nº	(%)
SAM +	33	(27,50)	0	(0)	33	(27,50)
SAM -	51	(42,50)	36	(30,00)	87	(72,50)
Total	84	(70,00)	36	(30,00)	120	(100,00)

$\chi^2 = 17,59$

$p = 0,0001$

4 CONCLUSÃO GERAL

Os resultados deste trabalho indicam que em suínos aparentemente sadios, com títulos ≥ 20 na prova de soroaglutinação microscópica, a *Leptospira* spp pode ser considerada um dos microorganismos responsáveis pelas lesões renais macroscópicas tipo “white spots”

REFERÊNCIAS

- ADLER, B., FAINE, S et al. Development of an improved selective medium for isolation of leptospires from clinical material. **Veterinary Microbiology**, n.13, p. 377-81, 1986.
- BAKER, T.F; McEWEN, S.A; PRESCOTT, J.F et al. The prevalence of leptospirosis and its association with multifocal interstitial nephritis in swine at slaughter. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 53, p. 290-294, 1989.
- BOQVIST, S.; MONTGOMERY, J.M.; HURST, M. et al. Leptospira in slaughtered fattening pigs in southern Vietnam: presence of bacteria in the kidneys and association with morphological findings. **Veterinary Microbiology**, v. 93, p.361-368, 2003.
- BOLIN, C.A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companions animals. **Semin. Vet. Med. Surg. (Small Animal)**, n.3, v.11, p.166-71, 1996.
- CASTRO, A.F.O; ROSA, C.A.S; CALDAS, A.D. Isolamento de *L. canicola* de suínos abatidos em matadouros. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 29, p. 193-197, 1962.
- CHAUDHARY, R. K.; FISH, N. A.; AND BARNUM, D. A. Experimental infection with *Leptospira pomona* in normal and immune piglets. **Canadian Veterinary Journal**, v. 7, p.106-112, 1966.
- DELBEN, A.C.B et al. Leptospirosis in slaughtered sows: serological and histopathological investigation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p. 174-177, 2002.
- DROLET, R.; D'ALLAIRE.; LAROCHELLE, E. et al. Infectious agents identified in pigs with multifocal interstitial nephritis at slaughter. **The Veterinary Record**, v.150, p.139-143, 2002.
- ELLIS, T.M.; ROBERTSON, G.M.; HUSTAS, L. et al. Detection of leptospires in tissue using an immunoperoxidase staining procedure. **Australian Veterinary Journal**, v.60, n.12, p.364-67, 1983.
- ELLIS, W.A. Leptospirosis in pig. **The Pig Veterinary Journal**, v.28, p.24-34, 1992.
- FAINE, S. **Guidelinis for the control of leptospirosis**. Geneva: World Health Organization; 1982 (WHO Offset publication 67).

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

FÁVERO, A.C.M. et al. Sorovares de *Leptospiras* predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.4, p. 613-619, 2002.

FREITAS, J.C.; SILVA, F.G.; OLIVEIRA, R.C. et al. Isolation of *Leptospira* spp from dogs, bovine and swine naturally infected. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.3, p.853-856, 2004.

GUIDA, V.O. Identificação sorológica de amostras de *Leptospira* (L. Hyos), isoladas de suínos. **Arquivos do Instituto Biológico.**, v.71, n.3, p.293-301, 1958.

HANSON, L. E., AND TRIPATHY, D. N. LEPTOSPIROSIS. In: **Diseases of Swine**, 6th ed. Ed. A. D. Leman, B. Straw, R. D. Glock, W. L. Mengeling, R. H. C. Penny, and E.Scholl. Ames: Iowa State Univ Press, pp. 591-599, 1986.

HUNTER, P. et al. Leptospirosis as a cause of “white spot” kidneys in South African pig abattoirs. **Onderspoort Journal of Veterinary Research**, v.54, p. 59-62, 1987.

JONES, R.T et al. Macroscopic kidney lesions in slaughtered pigs are an inadequate indicator of current leptospiral infection. **Australian Veterinary Journal.**, v.64, p. 258-259, 1987.

LANGONI, H. et al. Inquérito soroepidemiológico para leptospirose suína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, Blumenau, Sc. **Anais...** Blumenau: ABRAVES, p.153, 1995.

LANGHAM, R. F.; MORSE, E. V.; AND MORTER, R. L.. Experimental leptospirosis. V. Pathology of *Leptospira pomona* infection in swine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 19, p.395-400, 1958.

LARSSON, C.E. et al. 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**, São Paulo, v.21, n.1, p. 43-50, 1984.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

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

MAXIE & PRESCOTT, J.F. The urinary system. In: **Pathology of Domestic Animals.**, 4th edn, v.3, p.447-538, 1993.

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.

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

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**, São Paulo, v.35, n.5, p.641-650, 1983.

OLIVEIRA, S.J. Infecções no trato urinário em suínos. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desidério Finamor”**, v.1, n. 130, p. 71-85, 1988.

OLIVEIRA, S.J. Atualização nos conceitos sobre leptospirose em suínos. **A Hora Veterinária**, n. 79, p. 52-55, 1994.

REIS, R; RUY, E; PENA, C.M. Pesquisa de aglutininas antileptospiras em bovinos e suínos em Minas Gerais, Brasil. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 25, n.1, p.11-14, 1973.

RICHTZENHAIN, L.J.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B. et al. A multiplex PCR for the detection of *Brucella* spp and *Leptospira* spp DNA from aborted bovine fetuses. **Veterinary Microbiology**, v.87, p.139-147, 2002.

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

SHIMABUKURO, F.H.; DOMINGUES, P.F.; LANGONI, H. et al. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospiras pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, n.4, p.243-253, 2003.

VASCONCELLOS, S.A. **Diagnóstico laboratorial da leptospirose**. Comunicação Científica da Faculdade de Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, n.3, p.189-195, 1979.

ANEXOS

Anexo 1

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões bibliográficas e notas devem ser encaminhados em três vias, datilografados e/ou editados em idioma Português ou Inglês e paginados. O trabalho deverá ser digitado em folha com tamanho A4 210 x 297mm, com no **máximo, 28 linhas em espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota**, incluindo tabelas, gráficos e ilustrações. Cada gráfico, figura, ilustração ou tabela equivale a uma página. ***Enviar a forma digitalizada somente quando solicitada.***

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Agradecimento(s); Fontes de Aquisição, quando houver, e Referências Bibliográficas. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.**

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências Bibliográficas. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.**

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto [sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão (podendo conter tabelas ou figuras)]; Fontes de aquisição se houver; Referências Bibliográficas. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.**

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista.

7. Os nomes dos autores deverão ser colocados por extenso abaixo do título, um ao lado do outro, seguidos de números que serão repetidos no rodapé, para a especificação (formação, titulação e instituição) e indicação de autor para correspondência (com endereço completo, CEP e obrigatoriamente **E-mail**). Faculta-se a não identificação da autoria em duas cópias dos artigos enviados.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos. Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências Bibliográficas deverão ser efetuadas conforme ABNT (NBR 6023/2000):

9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Três autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:

AUDE, M.I.S. et al. (Mais de 2 autores) Época de plantio e seus efeitos na produtividade e teor de sólidos solúveis no caldo de cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.22, n.2, p.131-137, 1992.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal: identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o **endereço completo do autor** (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral:** análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

LeBLANC, K.A. **New development in hernia surgery**. Capturado em 22 mar. 2000. Online. Disponível na Internet <http://www.medscape.com/Medscape/surgery/TreatmentUpdate/1999/tu01/public/toc-tu01.html>.

UFRGS. Transgênicos. **Zero Hora Digital**, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Capturado em 23 mar. 2000. Online. Disponível na Internet: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>.

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. 23 mar. 2000. Online. Disponível na Internet <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>.

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA

VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias – UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. Tabelas e figuras devem ser enviadas à parte, cada uma sendo considerada uma página. Os desenhos e gráficos (em largura de 7,5 ou 16cm) devem ser feitos em editor gráfico impresso a laser, em papel fotográfico glossy sempre em qualidade máxima, e devem conter no verso o nome do autor, orientação da borda superior e o número das legendas correspondentes, as quais devem estar em folhas à parte. Alternativamente, após aprovação as figuras poderão ser enviadas digitalizadas com ao menos 800dpi, em extensão .tiff. **Fotografias, desenhos e gráficos** devem ser enviados, **obrigatoriamente, em três vias**. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. O ofício de encaminhamento dos artigos deve conter, **obrigatoriamente, a assinatura de todos os autores** ou termo de compromisso do autor principal, responsabilizando-se pela inclusão dos co-autores.

13. Taxas de publicação e tramitação

Ciência Rural cobra taxas de tramitação e publicação de artigos. A taxa para tramitação será o equivalente a US\$ 7,00 por trabalho submetido; e a taxa para publicação será de US\$ 10,00 por página impressa. Os pagamentos deverão ser feitos em reais (R\$), de acordo com a taxa de câmbio comercial do dia. Essas taxas deverão ser pagas no Banco do Brasil, Agência 1484-2, Conta Corrente 250304-2 em nome da FATEC – Projeto 95304. Alternativamente poderá ser enviado um cheque no valor correspondente em nome da FATEC. Pagamentos por cartão de crédito VISA são também aceitos. A submissão do artigo deverá ser obrigatoriamente acompanhada do recibo da taxa de tramitação (cheque correspondente ou cartão de crédito). **A taxa de submissão é obrigatória para todos os trabalhos independentemente de ser assinante.** A taxa de publicação somente deverá ser paga (e o comprovante anexado) após a revisão final das provas do manuscrito pelos autores. **Os pesquisadores assinantes da Ciência Rural não pagarão a taxa de publicação, se pelo menos um dos autores for assinante.** Professores do Centro de Ciências Rurais e dos Programas de Pós-graduação do Centro têm seus artigos previamente pagos por esse Centro, estando isentos da taxa de publicação, devendo, no entanto, pagar a taxa de tramitação. No caso de impressão colorida, todos os trabalhos publicados deverão pagar um adicional de US\$ 120,00 equivalente por página impressa, independentemente do número de figuras na respectiva página. Este pagamento também deverá ser anexado no momento da devolução do artigo rubricado obedecendo uma das duas formas previamente mencionadas. O remetente do numerário deverá deixar claro em nome de quem o recibo deverá ser emitido, pessoa física enviar o número do CIC e no caso de pessoa jurídica CNPJ e inscrição estadual caso não seja isento (ex.: instituições privadas).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão devolvidos.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.