

OCORRÊNCIA DE *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* E *Salmonella* sp. EM SUÍNOS COM DIARREIA NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO MATO GROSSO



João Xavier de Oliveira Filho¹, Daphine Ariadne Jesus de Paula¹,
Juçara Tinasi de Oliveira¹, Maria Cristina da Silva¹, Givago Faria Ribeiro da Silva¹,
Luciano Nakazato¹, Valéria Dutra¹

¹ Universidade Federal do Mato Grosso - valdutra@cpd.ufmt.br

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo identificar a presença de *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella* sp. e *Brachyspira hyodysenteriae* em fezes de suínos com diarreia oriundos da mesorregião norte do Estado de Mato Grosso (MT). Para isso, foi realizada a coleta de suabes retais de 147 animais na fase de crescimento/terminação de quatro municípios do estado. A técnica utilizada foi a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR). Foi observado que 34,69% (51/147) dos animais foram positivos para pelo menos um dos agentes pesquisados. A *L. intracellularis* foi a bactéria mais observada com 20,41% dos animais positivos, seguido da *Salmonella* sp. (14,29%) e *B. hyodysenteriae* (3,40%). O presente trabalho demonstrou a presença dos principais agentes enteropatogênicos (*L. intracellularis*, *Salmonella* sp. e *B. hyodysenteriae*) em suínos com sintomatologia clínica de diarreia na região. No entanto, são necessários outros estudos para descrever a real importância desses agentes na ocorrência de distúrbios entéricos em suínos.

Palavras-chave: Brasil; suinocultura; doença entérica; PCR

OCCURRENCE OF *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* AND *Salmonella* sp. IN PIGS WITH DIARRHEA IN NORTHERN REGION OF THE STATE OF MATO GROSSO

ABSTRACT: This study aimed to identify the presence of *L. intracellularis*, *B. hyodysenteriae* and *Salmonella* sp. In faeces of pigs with diarrhea in Mato Grosso (MT) Brazil. For this, samples were collected from rectal swabs of 147 animals during the growing/finishing phase from four different municipalities in MT. The technique diagnosis used was Polymerase Chain Reaction (PCR). It was observed that 34.69% (51/147) of animals studied were positive for at least one of the bacteria investigated. *L. intracellularis* was the most observed (20.41%), followed by *Salmonella* sp. (14.29%) and *B. hyodysenteriae* (3.40%). This study demonstrated the presence of major pathogens (*L. intracellularis*, *B. hyodysenteriae* and *Salmonella* sp.) in pigs with clinical symptoms of diarrhea in the region. However, further studies are needed to describe the real importance of these agents in the occurrence of enteric disorders in pigs.

Key Words: Brazil; swine; enteric diseases; PCR

INTRODUÇÃO

Entre os problemas sanitários enfrentados na suinocultura moderna, as doenças entéricas ocupam um lugar de destaque devido ao baixo desenvolvimento dos animais nas granjas, aumento na mortalidade, maior custos com medicamentos e na implementação de medidas de prevenção (Stege et al., 2000; McOrist, 2005). Em geral, a morbidade é alta e a mortalidade em leitões pode ser observada entre 10 a 20% (Hansen, 2006). Além dessas perdas econômicas no sistema de produção, as doenças entéricas podem ser causadas por microorganismos com potencial zoonótico, tal como a *Salmonella enterica* (Baggesen e Wegener, 1994; Weneger e Bager, 1997).

Infecções intestinais causadas por bactérias patogênicas para suínos, principalmente em animais nas fases de crescimento e terminação, são frequentemente observadas em vários países (Stege et al., 2000; Paradis et al., 2007). Os sinais clínicos podem variar de simples diarreias com leve perda do estado corporal e baixa mortalidade (Thomson et al., 1998) à doenças graves com diarreia hemorrágica ou muco-hemorrágica aguda, estado geral severamente deprimido e altas taxas de mortalidade (Meyer, 1978; Mcorist e Gebhart, 1999).

Entre as espécies de bactérias envolvidas em diarreias, a *Lawsonia* (*L.*) *intracellularis*, responsável pela enterite proliferativa suína, é o principal agente envolvido com prevalência variando de 75 a 100% dos rebanhos e de 5 a 100% de animais infectados (Møller et al., 1998; Stege et al., 2000; Stege et al., 2001; Lee et al., 2001; Marsteller et al., 2003). Outros agentes bacterianos, em menor prevalência também têm sido envolvidos em casos de enteropatias, tais como a *Brachyspira* (*B.*) *hyodysenteriae*, *B. pilosicoli*, *Salmonella*

sp. e a *Escherichia* (*E.*) *coli* enterotoxigênica (Stege et al., 2000; Baccaro et al., 2003; Suh e Song, 2005a; Viott, 2010).

O isolamento e identificação desses microorganismos são lentos, podendo levar vários dias ou semanas, e os resultados nem sempre são definitivos (Elder et al., 1994). Com o uso das técnicas moleculares, foi possível desenvolver testes diagnósticos mais rápidos e sensíveis para detecção de microrganismos patogênicos (Suh e Song, 2005b), tais como a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) (Elder et al., 1997; Suh e Song, 2005b).

No Estado do Mato Grosso (MT), são escassas informações sobre os patógenos responsáveis por doenças entéricas em suínos, o que dificulta a adoção de medidas corretas de controle e tratamentos efetivos para evitar perdas econômicas nas unidades de produção de suínos. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi determinar a presença de *L. intracellularis*, *B. hyodysenteriae* e *Salmonella* sp em suínos com diarreia, nos principais municípios produtores de MT através da técnica da PCR.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas por conveniência de acordo com a notificação de Médicos Veterinários da ocorrência do problema clínico de diarreias em suínos. Foram coletadas 147 amostras de suabes retais em suínos na fase de crescimento/terminação (61 a 140 dias de vida) durante o período de Março de 2007 a Janeiro de 2009. Essas amostras foram provenientes de 07 granjas tecnificadas, com problemas sanitários diversos em quatro diferentes municípios do estado de Mato Grosso, sendo que duas amos-

Tabela 1 – Oligonucleotídeos utilizados para a amplificação da *L. intracellularis*, *Salmonella* sp. e *B. hyodysenteriae* através da técnica da PCR.

Microrganismos	Oligonucleotídeos	Pb ¹
	Sequência (5'-3')	
<i>L. intracellularis</i>	FOR – GCAGCACTTGCAAACAATAAACT	210
	REV – TCTCCTTTCTCATGTCCCATAA	
<i>B. hyodysenteriae</i>	FOR – GCTGGAGATGATGCTTCTGG	403
	REV – GTCCAAGAGCTTGGCTGTTC	
<i>Salmonella</i> spp.	FOR – TTGGTGTTTATGGGGTCGTT	298
	REV – GGGCATACCATCCAGAGAAA	

¹ pares de base; Fonte: A sequência dos Oligonucleotídeos foi descrita por Suh e Song (2005b).

tras pertenciam à unidade de ciclo completo (Tapurah e Diamantino) e cinco de crescimento/terminação, no qual uma é localizada no município de Vera e quatro em Nova Mutum. O número de amostras por granja coletadas não obedeceu a um padrão amostral, variando de 7 a 36 amostras por propriedade.

Os materiais coletados foram encaminhados, sob refrigeração em caixas isotérmicas, ao Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, permanecendo estocados a – 21°C até o momento da realização dos testes moleculares.

A extração do DNA genômico e a técnica de PCR foram realizadas de acordo com o protocolo descrito por Suh e Song (2005b). Os oligonucleotídeos utilizados para a amplificação da *L. intracellularis*, *Salmonella* sp. e *B. hyodysenteriae* estão descritos na tabela 1. A PCR foi conduzida em um volume final de 25 µl, onde cada reação continha 2,5µl de 10 X Tampão de PCR, 1,2µl de MgCl₂ (25mM), 2,5µl de dNTPs (10mM), 1,0µl de cada oligonucleotídeo (20 pmol), 50ng de DNA molde e 0.5 unidades/µl de Taq DNA polimerase (Invitrogen ®). Como controle positivo foi utilizada amostras de *L. intracellularis*, *B. hyodysenteriae* e *Salmonella* spp., gentilmente cedidos pela Embrapa-CNPSA e Laboratório de

Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os produtos amplificados foram corados com brometo de etídeo (10µg/mL), fracionados em gel de agarose a 2% (1 h a 125V/cm). Esses produtos foram visualizados em transiluminador UV.

Os resultados foram tabulados e posteriormente realizou-se uma análise descritiva dos dados através da tabela de frequências.

RESULTADOS

Os municípios abordados nesse estudo são os principais pólos produtores de suínos do Estado de MT. No entanto, o grupo amostral não apresentou um padrão homogêneo entre os municípios, havendo com isso um baixo número de amostras em Diamantino.

Foi identificada a presença dos três agentes pesquisados, sendo que 34,69% (51/147) dos animais foram positivos para pelo menos uma bactéria. A *L. intracellularis* foi observada com maior frequência, 20,41% (30/147), seguido da *Salmonella* sp. com 14,29% (21/147) e da *B. hyodysenteriae* 3,40% (5/147) (Tabela 2).

Foi observada a presença de animais co-infectados com os agentes: *L. intracellularis* e *Salmonella* sp. em três suínos, sendo dois no município de Nova Mutum e um em Tapurah; *L.*

Tabela 2 – Detecção de *Lawsonia intracellularis* (LAW), *Brachyspira hyodysenteriae* (BRAC) e *Salmonella* sp. (SAL) pela técnica da PCR em conteúdo fecal de suínos com diarreia na fase de crescimento/terminação em municípios da mesorregião Norte do Estado de Mato Grosso

Município	n	Número de animais positivos		
		LAW (%)	SAL (%)	BRAC (%)
Nova Mutum	77	17 (22,08)	13 (16,88)	2 (2,60)
Diamantino	7	1 (14,29)	1 (14,29)	0 (0)
Tapurah	27	3 (11,11)	7 (25,93)	2 (7,41)
Vera	36	9 (25,00)	0 (0)	1 (2,77)
Total	147	30	21	5
	100	20,41	14,29	3,40

intracellularis e *B. hyodysenteriae* em um animal (Nova Mutum); *Salmonella* sp. e *B. hyodysenteriae* em uma amostra proveniente de Tapurah. Não foi encontrado nenhum animal co-infectado com os três agentes.

DISCUSSÃO

Estudos relacionados à caracterização de frequência dos principais agentes envolvidos em casos de diarreias em suínos nas fases de crescimento e terminação são importantes, pois auxiliam na conduta terapêutica adotada pelo médico veterinário, uma vez que existe diferença entre os diferentes agentes associados em afecções entéricas. Segundo Menin et al. (2008) a variação na prevalência dos enteropatógenos nos rebanhos suínos provavelmente está relacionada a aspectos gerais de manejo, dinâmica de infecciosidade dos agentes, pressão de infecção, capacitação gastrointestinal, ao status imunitário do rebanho, nutrição, programas de vacinação, uso de antimicrobianos e aos fatores que desencadeiam estresse.

Neste trabalho foi possível observar que os agentes pesquisados estão presentes em importantes municípios produtores de suínos no Estado de Mato Grosso, sendo observado que 34,69% dos animais estudados apresentavam pelo menos

um dos agentes. No entanto, apenas a detecção do agente em animais com a presença clínica de diarreia não indica que este é o responsável pela enfermidade, sendo assim necessária a realização de outros testes diagnósticos. Dentre estes, a prática de necropsia, o exame histopatológico e o teste imunohistoquímica auxilia com caracterização da lesão com a presença do agente.

A *L. intracellularis* foi o agente mais detectado, seguido da *Salmonella* sp. e *B. hyodysenteriae*. Esse dado também é observado em outros países com prevalência variando de 19,9% a 25% dos animais e de 46,51% a 93,7% dos rebanhos (Stege et al. 2000; Suh e Song 2005a). No Brasil, estudos também demonstram essa bactéria como principal patógeno encontrado em animais com diarreia clínica, com prevalência variando de 11,52% a 15% de animais positivos e de 19,56% a 30% dos rebanhos positivos (Moreno et al., 2002; Viott 2010). Esses dados reforçam a importância da presença desse agente nos países produtores de suínos, que pode acarretar doença, caso estejam presentes fatores de risco associados.

Como demonstrado no presente trabalho, a *Salmonella* sp. está presente nos rebanhos de crescimento e terminação de suínos da região do MT, assim representa um importante risco a saúde humana através da contaminação

de carcaças na linha de produção no frigorífico. Atualmente, manter rebanhos livres da infecção torna-se economicamente inviável. Assim, medidas de descontaminação de carcaça no frigorífico são estratégias em estudo para se obter um produto final isento de contaminação (Hurd et al., 2008).

De acordo com outros estudos (Baccaro et al., 2003; Viott, 2010), a presença da *B. hyodysenteriae* foi baixa nas amostras estudadas. Isto, possivelmente se deve ao excessivo uso de antimicrobianos no sistema de produção de forma preventiva.

Como descrito na literatura e também observado no presente estudo, a infecção dos agentes entéricos podem ocorrer de forma isolada ou associada (Moreno et al., 2002; Suh e Song, 2005a, Viott, 2010), e com isso interferir na gravidade da sintomatologia da doença e também na forma de tratamento e controle a ser adotado. Outro fator que interfere na ocorrência da enfermidade ou transmissão dos agentes é a aquisição de animais assintomáticos ou portadores crônicos da bactéria, que proporciona a introdução de novas cepas bacterianas no rebanho. Isso poderia ser evitado através da adoção de medidas simples de biossegurança como o aumento do tempo de quarentena dos animais de reposição (Jacobson et al., 2010), além do conhecimento do estado de infecção dos reprodutores das granjas de origem (Friendship et al., 2005).

CONCLUSÃO

Foi observada a presença dos principais agentes enteropatogênicos (*L. intracellularis*, *Salmonella* sp. e *B. hyodysenteriae*) em suínos com sintomatologia clínica de diarreia. No entanto, são necessários outros estudos para descrever a real importância desses agentes na ocorrência de distúrbios entéricos em suínos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Mato Grosso (FAPEMAT) pelo financiamento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- BACCARO, M.R.; MORENO, A.M.; SHINKA, L.T. et al. Identification of bacterial agents of enteric disease by multiplex PCR in growing-finishing pigs. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, n.3, p.225-229, 2003.
- BAGGESEN, D.L.; WEGENER, H.C. Phage types of *Salmonella enterica* spp. enterica serovar typhimurium isolated from production animals and humans in Denmark. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.35, n.4 p.349-354, 1994.
- ELDER, R.O.; DUHAMEL, G.E.; MATHIESEN, M.R et al. Multiplex polymerase chain reaction for simultaneous detection of *Lawsonia intracellularis*, *Serpulina hyodysenteriae*, and *Salmonellae* in porcine intestinal specimens. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.9, n.3, p.281-286, 1997.
- ELDER, R.Q.; DUHAMEL, G.E.; SCHAFER, R.W. et al. Rapid detection of *Serpulina hyodysenteriae* in diagnostic specimens by PCR. **Journal Clinical of Microbiology**, v.32, n.6 p. 1497-1502, 1994.
- FRIENDSHIP, R.M.; CORZO, C.A.; DEWEY, C.E. et al. The effect of porcine proliferative enteropathy on the introduction of gilts into recipient herds. **Journal Swine Health Production**, v.13, n.3, p.139-142, 2005.
- HANSEN, D. Abordagem prática da síndrome diarreica na maternidade. In CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, III, 2006, Foz do Iguaçu – PR. **Anais....** Foz do Iguaçu – PR: Animalworld, 2006, p. 167-178.
- HURD, H.S; ENØE, C.; SØRENSEN, L. et al. Risk-Based Analysis of the Danish Pork Salmonella Program: Past and Future. **Risk Analysis**, v.8, n.2, p.341-351, 2008.
- JACOBSON, M.; ASPAN, A.; NORDENGRÄHN, A. et al. Monitoring of *Lawsonia intracellularis* in breeding herd gilts. **Veterinary Microbiology**, v. 142, n.3-4, p.317-322, 2010.
- LEE, S.W.; KIM, T.J.; PARK, S.Y. et al. Prevalence of porcine proliferative enteropathy and its control with tylosin in Korea. **Journal of veterinary science**, v.2, n.3, p.209-212, 2001.

- MARSTELLER, T.A.; ARMBRUSTER, G.; BANE, D.P.; GEBHART, C.J.; MULLER, R.; WEATHERFORD, J.; THACKER, B. Monitoring the prevalence of *Lawsonia intracellularis* IgG antibodies using serial sampling in growing and breeding swine herds. **Journal of Swine Health and Production**, v.11, n.3, p. 127-130, 2003.
- MCORIST S. Defining the full costs of endemic porcine proliferative enteropathy. **Veterinary Journal**, v.170, n.1, p.8-9, 2005.
- MCORIST, S.; GEBHART, C.J. Porcine Proliferative Enteropathies. In STRAW, B. E.; ALLAIRE, S. D.; MENGELIG, W. L; TAYLOR, D. J. **Diseases of Swine**. Iowa State University Press, Ames – Iowa: Iowa State University Press, 8 ed., 1999, cap. 38, p. 521-534.
- MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D. et al. Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.1687-1693, 2008.
- MEYER, R.C. Swine dysentery: A perspective. **Advances in Veterinary Science & Comparative Medicine**, v.22, p.133-158, 1978.
- MØLLER, K.; JENSEN, T.K.; JORSAL, S.E. et al. Detection of *Lawsonia intracellularis*, *Serpulina hyodysenteriae*, weakly beta-hemolytic intestinal spirochetes, *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* from swine herds with and without diarrhoea among growing pigs. **Veterinary Microbiology**, v.62, n.1, p.59-72, 1998.
- MORENO, A.M.; BACCARO, M.R.; COUTINHO, L.L. *Lawsonia intracellularis* detection in swine feces from important producing regions in Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, n.3, p.5-8, 2002
- PARADIS, M; GOTTSCHALK, M.; RAJIC, A. et al. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* in different swine populations in 3 provinces in Canada. **Canadian Veterinary Journal**, v.48, n.1, p. 57-62, 2007.
- STEGE H.; JENSEN T.K.; MOLLER, K. et al. Risk factors for intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. **Preventive veterinary medicine**, v.50, p.153-164, 2001.
- STEGE, H.; JENSEN, T.K.; MÜLLER, K. et al. Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.46, n.4, p.279-292, 2000.
- SUH, D.K.; SONG, J.C. Prevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and *Salmonella* in swine herds. **Journal of veterinary science**, v.6, n.4, p.289-293, 2005a.
- SUH, D.K.; SONG, J.C. Simultaneous detection of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and *Salmonella* spp. in swine intestinal specimens by multiplex polymerase chain reaction. **Journal of veterinary science**, v.6, n.3, p.231-237, 2005b.
- THOMSON, J.R.; SMITH, W.J.; MURRAY, B.P. Investigations into field cases of porcine colitis with particular reference to infection with *Serpulina pilosicoli*. **Veterinary Records**, v.142, n.10, p.235-239, 1998.
- VIOTT, A.M. **Prevalência de enteropatógenos em suínos de recria/terminação em Minas Gerais e desenvolvimento de modelo experimental murino de enteropatia proliferativa**. 2010. Minas Gerais. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais.
- WENEGER, H.C.; BAGER, F. Pork as a source of human Salmonellosis. In: PROCEEDINGS OF THE 2ND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK., 1997, Copenhagen, Denmark. **Proceedings...** Copenhagen – Denmark: Institute of Food Hygiene of Thessaloniki, 1997, p. 3-8.