

Disbiose intestinal em leitões com diarreia pós-desmame induzida por *Escherichia coli* enterotoxigênica

Gabriela Merker Breyer*
Franciele Maboni Siqueira

Gut dysbiosis in piglets with post-weaning diarrhea induced by enterotoxigenic Escherichia coli

Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

*Correspondência: gabibreyer@hotmail.com

Palavras-chave: DPD. ETEC. Microbiota intestinal. 16S-rDNA.

Introdução

A diarreia pós-desmame (DPD) induzida por *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) é uma doença de grande impacto econômico na suinocultura (Fairbrother, 2005), acometendo leitões nas primeiras semanas após o desmame em decorrência da brusca mudança alimentar e estresse enfrentados pelos animais neste período (Frese et al., 2015).

Tendo em vista que a maioria dos estudos sobre o efeito de infecções por ETEC na microbiota intestinal de suínos utiliza modelos de infecção induzida (Bin et al., 2018; Liu et al., 2021), este trabalho visa investigar os impactos da infecção por este patógeno na microbiota intestinal de suínos com DPD em condições naturais de produção.

Material e métodos

Quinze leitões com 28-42 dias de vida foram analisados, incluindo animais diarreicos (DPD; n = 6) e não diarreicos (controle; n = 9). DNA total das fezes dos animais foi extraído e empregado em reações em PCR para a confirmação do agente etiológico através da detecção de marcadores moleculares de ETEC (Costa et al., 2010). Para a caracterização da microbiota intestinal, realizou-se sequenciamento *paired-end* de 16S-rDNA (região V4) (Kozich et al., 2013) através da plataforma Illumina MiSeq. A análise dos dados foi realizada através do pacote DADA2 (Callahan et al., 2016) pelo software QIIME2 (Estaki et al., 2020), utilizando o banco de dados Silva 138.1 (Quast et al., 2012), e posteriormente os dados foram processados no RStudio. A diversidade bacteriana dos grupos controle e DPD foi comparada pelos índices observado e Shannon através de test t ($p < 0,05$), análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA; $p < 0,05$) e análise de coordenadas principais (PCoA) por Bray Curtis. Para avaliar a composição bacteriana, determinou-se a abundância relativa, identificaram-se táxons compartilhados e exclusivos através de diagrama de Venn, e buscou-se por táxons com abundância diferencial através do teste Wilcoxon ($p < 0,05$) nos dois grupos.

Resultados e discussão

A busca por marcadores permitiu a detecção de ETEC apenas nas fezes dos leitões diarreicos, confirmando a ocorrência de DPD induzida por ETEC, enquanto no

grupo controle não foram detectados nenhum dos marcadores investigados. Quanto à microbiota intestinal, não houve diferença na diversidade bacteriana entre os grupos controle e DPD ($p > 0,05$). A análise de PERMANOVA, no entanto, indicou diferença na composição taxonômica dos grupos ($p < 0,001$; $R^2 = 0,1754$), indicando que a infecção por ETEC é capaz de modular a microbiota intestinal dos leitões analisados. Apesar do desmame intrinsecamente gerar um desequilíbrio da microbiota intestinal de leitões (Gresse et al., 2017), este resultado demonstra que a DPD induzida por ETEC agrava a disbiose intestinal nesta fase.

Firmicutes e *Bacteroidota* foram os filos mais abundantes nas amostras em ambos os grupos, como esperado para fezes de suínos (Kim et al., 2015; Shao et al., 2021). Um total de 12 táxons centrais foram compartilhados entre os grupos, enquanto 10 foram exclusivos do grupo DPD e 18 do grupo controle. Ademais, observou-se abundância diferencial em cinco táxons: *Elusimicrobium* e *Victivallaceae* foram mais abundantes no grupo controle ($p < 0,05$), enquanto *Bradymonadales*, *Solobacterium* e RF39 apresentaram abundância superior em leitões DPD ($p < 0,05$). De modo geral, estes táxons são menos representados na microbiota intestinal dos animais analisados (abundância relativa $< 2\%$), sugerindo, portanto, que grupos bacterianos mais abundantes não são afetados pela ocorrência de DPD induzida por ETEC.

Conclusão

Os resultados obtidos neste trabalho indicam a ocorrência de disbiose intestinal associada à DPD induzida por ETEC em leitões. Tais observações permitem uma melhor compreensão da dinâmica da microbiota intestinal de suínos em condições normais de produção frente à infecção por ETEC.

Referências

BIN, P. et al. Intestinal microbiota mediates Enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced diarrhea in piglets. *BMC Veterinary Research*. v.14, p.385, 2018.

CALLAHAN, B.J. et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*. v.13, p.581-583, 2016.

COSTA, M.M. et al. Virulence factors, antimicrobial resistance, and plasmid content of *Escherichia coli* isolated in swine commercial farms. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.62, p.30-36, 2010.

ESTAKI, M. et al. QIIME 2 Enables comprehensive end-to-end analysis of diverse microbiome data and comparative studies with publicly available data. *Current Protocols in Bioinformatics*. v.70, 2020.

FAIRBROTHER, J.M. et al. *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Animal Health Research Reviews*. v.6(1), p.17-39, 2005.

FRESE, S.A. et al. Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. *Microbiome*. v.3, p.28, 2015.

GRESSE, R. et al. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health. *Trends in Microbiology*. v.25(10), p.851-873, 2017.

KIM, J. et al. Analysis of swine fecal microbiota at various growth stages. *Archives of Microbiology*. v.197, p.753-759, 2015.

KOZICH, J.J. et al. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Applied and Environmental Microbiology*. v.79, p.5112-5120, 2013.

LIU, N. et al. Effects of IQW and IRW on inflammation and gut microbiota in ETEC-induced diarrhea. *Mediators of Inflammation*. 2752265, 2021.

QUAST, C. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res*. v.41, p.590-596, 2012.

SHAO, M. et al. Fecal microbial composition and functional diversity of Wuzhishan pigs at different growth stages. *ABM Express*. v.11, p.88, 2021.

Incidência de *Mycoplasma hyorhinis* em suínos com lesões articulares

Maria Eduarda R. Jacques da Silva¹
Gabriela Merker Breyer
Regina Tose Kemper²
David Driemeier²
Franciele Maboni Siqueira^{1*}

Incidence of Mycoplasma hyorhinis in pigs with joint diseases

¹ Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Departamento de Patologia Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Setor de Patologia Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

*Correspondência: franciele.siqueira@ufrgs.br

Palavras-chave: Artrite. *Mycoplasma hyorhinis*. Suínos.

Introdução

Mycoplasma hyorhinis é uma bactéria que pertence à classe Mollicutes. É comumente encontrado no sistema respiratório de suínos saudáveis. Embora seja considerada uma bactéria comensal, é um dos principais patógenos pertencentes ao gênero *Mycoplasma*, que afetam suínos, juntamente ao *Mycoplasma hyopneumoniae* e *Mycoplasma hyosynoviae* (Maes et al., 2018, Roos et al., 2019). *M. hyorhinis* é um patógeno frequentemente associado a problemas respiratórios e polissosseite (Wang et al., 2020). Além disso, *M. hyorhinis* pode levar a uma condição conhecida como poliartrite. Essa doença é caracterizada por uma inflamação simultânea de várias articulações. Na suinocultura, diversos agentes infecciosos são responsáveis pelo desenvolvimento de artrite. Entre os agentes mais encontrados estão *M. hyosynoviae*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus suis*. As doenças articulares em suínos causam sérios problemas de saúde e bem-estar animal,

afetando a produção e a lucratividade na indústria suína. Desse modo, o presente trabalho propõe um levantamento da ocorrência de *M. hyorhinis* em suínos com sinais clínicos de doenças articulares.

Material e métodos

Foram analisadas 89 amostras de líquido sinovial de suínos comerciais com sinais de doenças articulares, provenientes do estado do Rio Grande do Sul. O DNA genômico dos líquidos sinoviais foi extraído com o emprego de kit comercial. Para identificação de *M. hyorhinis*, uma região específica do gene 16S-rDNA foi amplificada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) (Stakenberg et al., 2006). Os ciclos de amplificação foram conduzidos sob as seguintes condições: desnaturação inicial a 94 °C por 5 min; 35 ciclos de 94 °C por 35 s, 57 °C por 35 s, 72 °C por 1 min; e extensão final a 72 °C por 5 min. Os produtos de reação foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1%, em um transiluminador com iluminação ultravioleta.

Resultados e discussão

Dos 89 suínos com sinais de doenças articulares investigados no estudo, 6,74% (6) foram positivos para *M. hyorhinis*. Os resultados obtidos nesse trabalho se relacionam com os descritos na literatura. Em um estudo com pulmões de suínos, a prevalência de amostras positivas para *M. hyorhinis* foi de 15,7% na Europa (Luehrs et al., 2017). Na Espanha, a prevalência encontrada em pulmões pneumônicos foi de 47% (Assunção et al., 2005). Finalmente, Wang et al. (2022) observaram diferenças na virulência de *M. hyorhinis* quanto às vias

de inoculação, sugerindo que a rota de inoculação afeta as consequências da infecção.

Conclusão

O presente trabalho permitiu observar que *M. hyorhinis* está envolvido nos casos de lesões articulares em suínos comerciais no estado do Rio Grande do Sul. É indispensável que haja maiores estudos para compreender a patogenicidade e a prevalência de *M. hyorhinis* em suínos com lesões articulares no Brasil. Além disso, destaca-se a importância de medidas preventivas e tratamentos eficazes contra a doença.

Referências

- ASSUNÇÃO, P. et al. The occurrence of mycoplasmas in the lungs of swine in Gran Canaria (Spain). *Veterinary Research Communications*. v.29, n.6, p.453-62, 2005.
- HANSEN, M. S. et al. An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *Journal of Comparative Pathology*. v.143, p.120-31, 2010.
- LUEHRS, A. Et al. Occurrence of *Mycoplasma hyorhinis* infections in fattening pigs and association with clinical signs and pathological lesions of Enzootic Pneumonia. *Veterinary Microbiology*. v.203, p.1-5, 2017.
- MAES, D. et al. Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: knowledge gaps for improved disease control. *Transboundary and Emerging Diseases*. v.65, p. 110-124, 2018.
- ROOS, L. et al. *Mycoplasma hyorhinis* and *Mycoplasma hyosynoviae* dual detection patterns in dams and piglets. *PLOS ONE*. v.14, n.1, 2019.
- STAKENBORG, T. et al. A Multiplex PCR to identify porcine mycoplasmas present in broth cultures. *Veterinary Research Communications*. v.30, p.239-247, 2006.
- WANG, J. et al. Virulence and inoculation route influence the consequences of *Mycoplasma hyorhinis* infection in Bama miniature pigs. *Microbiology Spectrum*. v.10, n.3, 2022.

Leitões como reservatório de *Escherichia coli* enterotoxigênica: detecção molecular de enterotoxinas em amostras de fezes

Gabriela Merker Breyer
Maria Eduarda Dias
Maria Eduarda R. Jaques da Silva
Franciele Maboni Siqueira*

Piglets as reservoir for enterotoxigenic Escherichia coli: molecular detection of enterotoxins in stool samples

Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

*Correspondência: franciele.siqueira@ufrgs.br

Palavras-chave: Diarreia pós-desmame. ETEC. Marcador molecular. PCR.

Introdução

Na suinocultura, o patotipo *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) é um dos principais agentes responsáveis por infecções gastrointestinais em leitões nas suas fases iniciais de desenvolvimento, gerando altas taxas de morbidade e mortalidade (Gyles, 1994). Isso reflete em prejuízos na produção, como menor ganho de peso, piora da conversão alimentar e aumento nos custos com tratamentos e manejo, resultando em perdas econômicas significativas (Frydendahl, 2002; Chen et al., 2004; Nagy et al., 2005).

Os sinais clínicos de ETEC se dão em decorrência da produção de enterotoxinas, sendo importantes marcadores moleculares deste patotipo. Em suínos, as principais toxinas envolvidas são a toxina termolábil LT e toxinas termoestáveis STa e STb (Dubreuil, 2012).

Sendo assim, a investigação por fatores de virulência marcadores de ETEC é uma ferramenta importante para a detecção deste patógeno em suínos. Em vista disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de leitões reservatório de ETEC com base na presença das enterotoxinas STa, STb e LT.

Material e métodos

Amostras de fezes foram coletadas de um total de 36 leitões de 21 a 42 dias sem sinais clínicos. O DNA genômico total das amostras foi extraído e empregado em reações de PCR convencional *singleplex*, tendo como alvo as enterotoxinas STa, STb e LT (Costa et al., 2010). As reações de PCR foram realizadas em um volume total de 25 µL, contendo 1 X de tampão, 0,2 mM dNTP, 2 mM MgSO₄, 0,2 µM de cada primer, e 1 U de Taq DNA Polimerase recombinante (Invitrogen). As condições de ciclagem utilizadas consistiram em: desnaturação inicial a 94 °C por 5 min, 30 ciclos de 94 °C por 45 s, 50 °C por 30 s e 72 °C por 30 s, e uma extensão final a 72 °C por 5 min. Os produtos de PCR foram avaliados por eletroforese em gel de agarose 2%. Os animais foram considerados carreadores de ETEC quando detectado pelo menos um dos genes analisados, enquanto animais sem detecção destes genes analisados foram classificados como não carreadores.

Resultados e discussão

Verificou-se a presença de marcadores de ETEC em 58% (21/36) dos animais analisados, reforçando a importância do monitoramento microbiológico na suinocultura para identificar os carreadores assintomáticos deste patógeno. Destes positivos, 90% apresentavam apenas genes para uma das enterotoxinas investigadas, semelhante a estudo realizado na África do Sul (Mohlalole et al., 2013), no qual observou-se que 98% de cepas de *E. coli* apresentavam apenas uma enterotoxina. Luppi et al. (2016), por outro lado, observaram que somente 11% dos isolados de ETEC provenientes de leitões diarreicos no pós-desmame apresentavam apenas um fator de virulência. Como no presente trabalho foram investigados apenas animais assintomáticos, os resultados podem ser sugestivos de que a presença de mais de uma enterotoxina pode estar associada ao surgimento de sinais clínicos. Em detalhe, a enterotoxina STb foi detectada em 80% dos 21 animais carreadores de ETEC, sendo a mais frequente, enquanto a frequência para os genes STa e LT foi de 23 e 4,7%, respectivamente. Nenhum leitão apresentou genes para as três enterotoxinas investigadas (Figura 1). Estes resultados, de forma geral, foram semelhantes aos observados em suínos na África do Sul (Mohlalole et al., 2013).

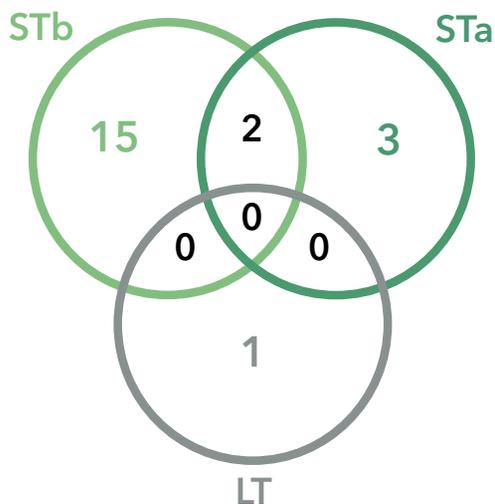


Figura 1 - Diagrama de Venn da presença de genes codificadores das enterotoxinas STa, STb e LT em *Escherichia coli* enterotoxigênicas em fezes de leitões.

Conclusão

Este estudo demonstra a presença de genes codificadores de enterotoxinas marcadoras de ETEC em leitões sem sinais clínicos de diarreia, confirmando que estes animais podem agir como carreadores assintomáticos deste patógeno. O conhecimento da prevalência das enterotoxinas analisadas pode ser considerado no desenvolvimento de estratégias para a redução da circulação de ETEC e, consequentemente, redução das perdas econômicas.

Referências

- ABPA. Estatísticas do setor, 2023 [Internet]. Acesso em 21 de maio de 2023. [Link](#)
- CHEN, X. et al. Prevalence of serogroups and virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from pigs with postweaning diarrhoea in eastern China. *Veterinary Microbiology*, v. 103, n. 1-2, p. 13-20, 2004.
- COSTA, M.M. et al. Virulence factors, antimicrobial resistance, and plasmid content of *Escherichia coli* isolated in swine commercial farms. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 62, n. 1, p. 30-36, fev. 2010.
- DUBREUIL, J.D. The whole Shebang: the gastrointestinal tract, *Escherichia coli* enterotoxins and secretion. *Current issues in molecular biology*, v. 14, n. 2, p.71-82, 2012.
- FRYDENDAHL, K. Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhoea and edema disease in pigs and a comparison of diagnostic approaches. *Veterinary microbiology*, v. 85, n. 2, p. 169-82, 2002.
- GYLES, C.L. *Escherichia coli* Enterotoxins. In: GYLES, C.L. (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, 1994. p. 337-364.
- LUPPI, A. et al. Prevalence of virulence factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhoea in Europe. *Porcine health management*, v. 2, p. 20, 2016.
- NAGY, B.; FEKETE, P.Z. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *International journal of medical microbiology*, v. 295, n. 6-7, p. 443-454, 2005.
- MOHLATLOLE, R. P. et al. Virulence profiles of enterotoxigenic, shiga toxin and enteroaggregative *Escherichia coli* in South African pigs. *Tropical Animal Health and Production*, [s. l.], v. 45, n. 6, p. 1399-1405, 2013.

Relato de caso: *Trueperella pyogenes* em abscesso vertebral de suíno

Trueperella pyogenes in
swine vertebral abscess

Rafaela da Rosa Marques¹
Maria Eduarda R. Jacques da Silva^{1,2}
Mariana Costa Torres^{1,2}
Franciele Maboni Siqueira^{1,2*}

¹ Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

*Correspondência: franmaboni@gmail.com

Palavras-chave: Antimicrobianos. Susceptibilidade. Vértebra suína.

Introdução

Trueperella pyogenes é uma bactéria gram-positiva que se apresenta em bastonetes pleomórficos, não esporulada, imóvel, β -hemolítica e cresce em condições aeróbicas. É considerado um patógeno oportunista que acomete diversas espécies animais, destacando-se em bovinos, ovinos, caprinos, suínos, cães e até mesmo animais selvagens. Com maior frequência é encontrado nos tratos respiratório, urogenital ou gastrointestinal, causando abscessos, mastites, metrite e pneumonias (Fujimoto et al., 2023). Em humanos, há relatos na literatura de *T. pyogenes* causando endocardites infecciosas e resultando em acidente vascular cerebral (Deliwala et al., 2020), porém são pouco frequentes; quando ocorrem, contudo, podem causar danos destrutíveis. Na suinocultura, *T. pyogenes* é uma das principais causas de grandes perdas econômicas e da condenação de carcaças nos abatedouros (Fujimoto et al., 2020).

O objetivo do presente estudo foi relatar um caso de *T. pyogenes* em suínos de 70 dias com sinais clínicos de paralisia dos membros pélvicos e determinar a susceptibilidade antimicrobiana desta cepa.

Material e métodos

Foi recebida no Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul uma vertebra de suíno, de raça comercial, macho, de aproximadamente 70 dias, para a realização de isolamento bacteriano. Alguns animais de um lote de 100 animais apresentavam paralisia dos membros pélvicos, tendo um deles sido sacrificado. Na necropsia, visualizaram-se abscessos em meio às vertebrae e má-lácia de medula espinhal. Para o isolamento bacteriano, realizou-se coleta do material presente nos abscessos da vértebra com o auxílio de um swab e inoculado em ágar base enriquecido com 5% de sangue ovino. A placa foi mantida em estufa a 37 °C por 48h em condições aeróbicas. Após o crescimento, as colônias foram submetidas à coloração de Gram. A confirmação final foi dada através do MALDI-TOF. O perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos foi determinado pelo método de disco-difusão em ágar. Foram selecionados 18 anti-bióticos testados previamente em *T. pyogenes* e descritos na literatura (Rezanejad et al. 2019; Ashrafi et al. 2021;), incluindo florfenicol (FLF 30 μ g), ceftiofur (CTF 30 μ g), doxiciclina (DOX 30 μ g), amoxicilina (AMO 10 μ g), tetraciclina (TET 30 μ g), rifampicina (RIF 30 μ g), amicacina (AMI 30 μ g), cloranfenicol (CLO 30 μ g), oxacilina (OXA 1 μ g), clindamicina (CLIN 2 μ g), penicilina (PEN 10 μ g), ampicilina (AMP 10 μ g), gentamicina (GEN 10 μ g), azitromicina (AZI 15 μ g), enrofloxacina (ENO 5 μ g), ciprofloxacina (CIP 5 μ g), cefalexina (CFE 30 μ g) e

estreptomicina (ET 30µg). O teste foi realizado em meio de cultivo ágar Mueller-Hinton incluído de 5% de sangue ovino e armazenado em estufa a 37 °C por 24h para a realização da leitura dos halos de difusão.

Resultados e discussão

Após 48h de cultivo, foi possível visualizar pequenas colônias de coloração acinzentada, com presença de hemólise total. Na coloração de Gram foram observados bastonetes pleomórficos Gram-positivos. A identificação da bactéria como *T. pyogenes* foi confirmada através do MALDI-TOF. Quanto ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos, Clindamicina e Azitromicina foram os únicos antibióticos aos quais a cepa foi classificada como resistente, enquanto para os demais antibióticos testados a bactéria foi classificada como sensível, mostrando eficiência para o uso de um possível tratamento em animais acometidos com *T. pyogenes*.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos nesse estudo, pode-se observar a importância do isolamento e da identificação de um agente patológico como a *T. pyogenes*, a fim de evitar e prevenir possíveis perdas em granjas ou rebanhos de diversas espécies animais. Ainda, com os resultados obtidos no antibiograma, pode-se observar o perfil de alta sensibilidade da cepa, o que favorece a terapia antimicrobiana contra este agente.

Referências

- ASHRAFI, T. I. et al. Investigation of antimicrobial susceptibility and virulence factor genes in *Trueperella pyogenes* isolated from clinical mastitis cases of dairy cows. *Food science & nutrition*, 9(8), 4529-4538, 2021.
- DELIWALA, S. et al. When zoonotic organisms cross over—*Trueperella pyogenes* endocarditis presenting as a septic embolic stroke. *Cureus* 12(4): e7740, 2020.
- DONG, W.L. et al. antimicrobial resistance and presence of virulence factor genes in *Trueperella pyogenes* isolated from pig lungs with pneumonia. *Trop Anim Health Prod* 51, 2099-2103, 2019.
- FUJIMOTO, H. et al. Antimicrobial susceptibility of *Trueperella pyogenes* isolated from cattle and pigs with septicemia in southern Kyushu, Japan. *The Journal of veterinary medical science*, 85(3), 379-382, 2023.
- FUJIMOTO, H. et al. Differences in phenotypic and genetic characteristics of *Trueperella pyogenes* detected in slaughtered cattle and pigs with septicemia. *The Journal of veterinary medical science*, 82(5), 626-631, 2020.
- Rezanejad, M. et al. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Trueperella pyogenes* strains isolated from bovine mastitis and metritis. *BMC microbiology*, 19(1), 305, 2019.

Relato de caso: *Actinomyces* *hyovaginalis* isolado de lesão pulmonar de javali

Case report - Actinomyces
hyovaginalis isolated
from board lung injury

Camila Azevedo Moni¹
Larissa Caló Zitelli^{1,2}
Cassiane Elisabete Lopes^{1,2}
Joanna Vargas Zillig Echenique^{2,3}
Mônica Slaviero^{2,3}
Ana Paula Bitencourt⁴
Welden Panziera^{2,3}
David Driemier^{2,3}
Franciele Maboni Siqueira^{1,2*}

¹ Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

³ Setor de Patologia Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

⁴ Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural, Porto Alegre, Brasil

*Correspondência: franciele.siqueira@ufrgs.br

Palavras-chave: Identificação bacteriana. Pneumonia bacteriana. Pneumonia necrótica.

Introdução

Actinomyces hyovaginalis é um agente bacteriano e Gram-positivo, que se apresenta em forma de bastonetes. É dividido em dois grupos fenotípicos: o grupo denominado grupo II é isolado de secreções vaginais e materiais de aborto de suínos, enquanto o grupo III é isolado a partir de amostras de outros locais como fígado e pulmão (Storms et al., 2002). As lesões observadas em suínos acometidos pelo grupo III são relatadas como lesões necróticas e disseminadas nos pulmões (Aalbæk et al., 2003). A identificação deste agente costuma ocorrer em suínos abatidos e inspecionados que apresentam lesões pulmonares necróticas. Cerca de 23% das condenações de carcaças suínas por lesões pulmonares em abatedouros são

devido ao *A. hyovaginalis* (Aalbæk et al. 2003), que tem sido relatado majoritariamente em suínos, havendo, porém, relatos de sua identificação em ovinos (Foster et al., 2012) e caprinos (Schumacher et al., 2009). O objetivo deste trabalho foi descrever o caso de isolamento e identificação de *A. hyovaginalis* a partir de fragmento de pulmão de javali (*Sus scrofa*).

Material e métodos

Um javali macho, jovem, de vida livre, oriundo de caça do município de Bagé, foi submetido para avaliação *post mortem* no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Durante a necropsia, fragmentos de pulmão, coração e linfonodo foram coletados e fixados em formalina tamponada neutra a 10% e posteriormente processados e corados com hematoxilina e eosina para análise histopatológica. Um fragmento de pulmão foi enviado ao Laboratório de Bacteriologia Veterinária da UFRGS para cultura bacteriológica. A amostra foi plaqueada tanto em ágar sangue ovino 5% (AS) quanto em ágar MacConkey (MC) e incubadas a 37 °C em atmosfera de aerobiose, sendo examinadas após 24 e 48 horas. Além disso, empregou-se a tecnologia de *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight* (MALDI-TOF) para a identificação do agente bacteriano.

Resultados e discussão

Durante a análise *post mortem*, macroscopicamente os fragmentos de pulmão apresentavam áreas nodulares, multifocais e coalescentes, medindo de 0,1 a 1,5 cm de diâmetro, que, ao corte, eram delineadas por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso com seu centro preenchido por material caseoso de coloração amarelo-esverdeado. Não foram observadas alterações macroscópicas nos fragmentos de coração e linfonodo.

Na histologia do pulmão, observaram-se áreas de acentuada necrose caseosa em meio ao parênquima pulmonar, contendo, em seu centro, abundante quantidade de debris necróticos, ocasional mineralização e acentuada quantidade de agregados bacterianos cocóides basofílicos. Além disso, circundando as áreas necróticas, havia um marcado infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos, neutrófilos, macrófagos e macrófagos epitelióides, que por vezes apresentavam-se dispostos em forma de paliçada. Havia ainda moderada proliferação de tecido conjuntivo fibroso na periferia. A coloração histoquímica de Ziehl-Neelsen do pulmão foi negativa para bacilos álcool-ácidos resistentes, assim como para estruturas fúngicas na coloração histoquímica de Prata Metenamina de Grocott. Não foram observadas alterações histológicas nos fragmentos de coração e linfonodo. Após 24 e 48 horas, foram observadas colônias grandes, tanto lactose negativas, quanto lactose positivas em MC, enquanto colônias pequenas de cor acinzentada não hemolíticas classificadas como bacilos Gram-positivos foram observadas em AS. Através do MALDI-TOF, determinou-se a identificação de *Actinomyces hyovaginalis*. A identificação do agente bacteriano desse relato corresponde com o padrão e o local de lesões associados a esse patógeno, também descrito em outros estudos (Collins et al., 1993; Aalbæk et al., 2003). Além disso, Aalbaek et al. (2003) apontam a importância desse patógeno em lesões pulmonares disseminadas em suínos.

Conclusão

A identificação de *A. hyovaginalis* em javalis carece de relatos na literatura. Além disso, sua detecção em javalis de vida livre sugere a possibilidade e a importância de javalis transmitirem o patógeno para suínos comerciais.

Referências

AALBÆK, B. et al. *Actinomyces hyovaginalis* associated with disseminated necrotic lung lesions in slaughter pigs. *Journal of Comparative Pathology* v.129(1) p.70-7, 2003.

COLLINS, M.D. et al. Molecular taxonomic studies of Actinomyces-like bacteria isolated from purulent lesions in pigs and description of *Actinomyces hyovaginalis* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* v.43(3) p.471-473, 1993.

FOSTER, G. et al. Isolation of *Actinomyces hyovaginalis* from sheep and comparison with isolates obtained from pigs. *Veterinary Microbiology* v.157, p.471-475, 2012.

SCHUMACHER, V.L. et al. *Actinomyces Hyovaginalis* – Associated Lymphadenitis in a Nubian Goat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* v.21(3) p.380-384, 2009.

STORMS, V. Et al. Identification of a new biotype of *Actinomyces hyovaginalis* in tissues of pigs during diagnostic bacteriological examination. *Veterinary Microbiology* v.84 p.93-102, 2002.

Saúde respiratória em populações de suínos monitoradas por som: um estudo observacional retrospectivo de banco de dados mundial com ênfase na América Latina

Elisa De Conti^{1*}
Carmen Alonso²

Respiratory health status in sound-monitored pig populations: a retrospective observational study from a worldwide database with an emphasis on Latin America

¹ Boehringer Ingelheim do Brasil, São Paulo, Brasil

² Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Alemanha

*Correspondência: elisa.de_conti@boehringer-ingelheim.com

Palavras-chave: Doenças respiratórias. Epidemiologia. Temperatura.

Introdução

A produção de suínos tem perdas econômicas substanciais devido a doenças respiratórias em todo o mundo (Antunes et al., 2019). O SoundTalks®, uma tecnologia não invasiva com monitoramento contínuo baseado no som, fornece a métrica *Respiratory Health Status* (ReHS) para documentar de forma objetiva a clínica de doenças respiratórias (Polson et al., 2018; Goodell et al., 2022). Além de granjas individuais, há uma

clara necessidade de monitoramento mais amplo de doenças respiratórias a nível mundial. Para estabelecer algumas bases essenciais para a aplicação mais ampla de gerenciamento de saúde, os objetivos deste estudo foram descrever as tendências epidemiológicas e a sazonalidade do estado de saúde respiratória em planteis monitorados por som no mundo, com foco na América Latina, em um período de um ano de análises.

Material e métodos

Este estudo descritivo retrospectivo abrangeu 115 granjas monitoradas pelo SoundTalks® durante um ano (agosto de 2021 a julho de 2022). Os critérios de inclusão foram: granjas comerciais de suínos com capacidade de pelo menos 500 animais; com mais de 120 dias de dados monitorados previamente ao estudo; usando práticas de manejo padrão da indústria (granjas não experimentais, por exemplo); e localizadas nas seguintes regiões: América do Norte, América do Sul, Sudeste Asiático, China, norte e sul da Europa. Todos os dados específicos das granjas foram mantidos em anonimato. O SoundTalks® mensura a saúde respiratória; sendo assim, o ReHS gera um dado que em "100" todos os suínos estão saudáveis na clínica respiratória e essa nota vai diminuindo conforme os sinais se agravam, sendo "60" o ponto que inicia o alerta. As granjas foram

classificadas em quatro categorias de saúde com base nos dias com sinais clínicos respiratórios, mostrados como dias de alarme ($ReHS < 60$) e em dias sem alertas ($ReHS \geq 60$). Outros dados do sensor (temperatura e umidade relativa do ar, internas e externas) foram compilados e analisados usando uma média móvel de sete dias e desvio padrão.

Resultados e discussão

Todas as regiões, exceto a América do Norte, possuíam pelo menos uma granja presente na categoria de condição de saúde respiratória mais baixa, enquanto apenas as granjas da América do Norte, Europa do Norte e Ásia estavam na categoria mais saudável. A América Latina não teve granjas na categoria mais saudável. Na Figura 1, é possível observar que a América Latina foi a região com maior número de dias em alerta ao longo do ano, estando sempre acima da média global. Tal dado pode não ser representativo devido ao baixo número de granjas que se adequaram ao estudo em comparação a outras regiões (7/115). Todavia, considerando o grande desafio relatado a campo no Brasil devido a doenças respiratórias (Piva et al., 2022), não é um dado surpreendente que a América Latina apresente um *status* respiratório desafiador.

Ao comparar as médias gerais dos dados do sensor do ambiente, os resultados demonstraram que as granjas com o *status* de saúde mais baixo diferem significativamente ($p < 0,05$) das granjas médias e mais saudáveis na máxima temperatura, bem como na mínima e máxima umidade. Na América Latina é possível observar aumentos de alertas entre setembro e novembro e novamente em março (Figura 1). Em média, as granjas da América Latina passam mais dias em alerta, o que demonstra o grande desafio com agentes patogênicos do sistema respiratório na região. Além disso, existe uma grande oscilação de temperatura e umidade nas granjas dessa região, o que está relacionado ao manejo e às instalações das granjas nas quais os equipamentos foram instalados.

Conclusão

O potencial de detecção e gerenciamento de doenças em larga escala do sistema baseado em som fica claro quando a tecnologia é implementada em escala regional e global. Esse objetivo será atingido à medida que a adoção da tecnologia for ampliada. Em relação à América Latina, a posição de região com maior desafio com clínica respiratória gera a preocupação de que medidas preventivas devem ser buscadas.

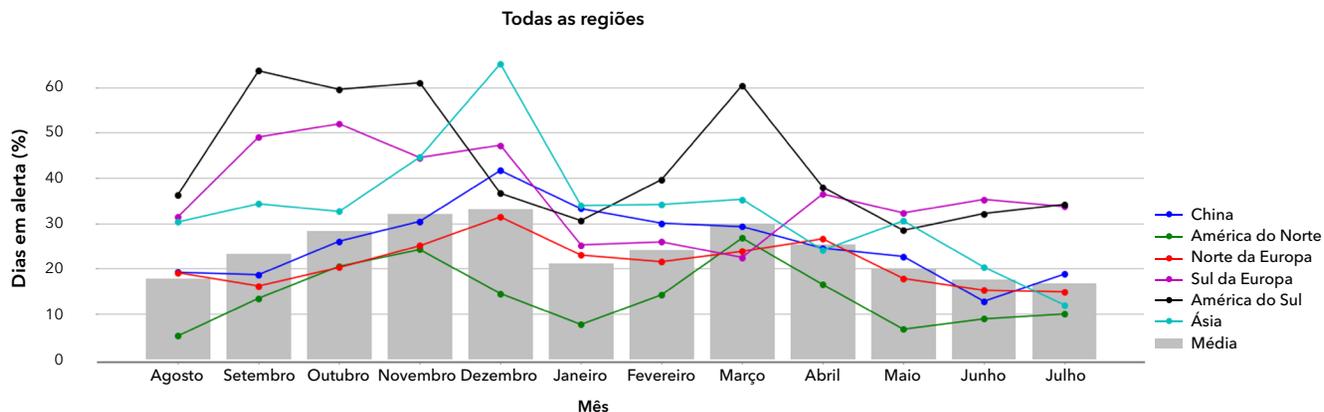


Figura 1 - Porcentagem de dias em alerta ($ReHS < 60$) em cada região, conforme os meses do ano.

Referências

POLSON, D. et al., Classification of cough patterns in growing pigs using continuous sound monitoring and an algorithm-based respiratory distress index. AASV, 2018.
 ANTUNES, A.C.L. et al. Unweaving tangled mortality and antibiotic consumption data to detect disease outbreaks- Peaks, growths, and foresight in swine production. Plos one, v.14, n.10, p.e0223250, 2019.

GOODELL, C. et al., Early diagnostic capability of Sound Talks® technology compared to oral fluids surveillance in growing pigs. AASV, 2022.
 PIVA, M.M., et al. Causes of death in growing-finishing pigs in two technified farms in southern Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.40, p.758-775, 2022.

Essential oils in the drinking water improve the performance of sows and their litters

Patrícia Versuti Arantes Alvarenga^{1*}
Mónica Florez²
Fellipe Freitas Barbosa²
Ana Paula Pinoti Pavaneli³

Óleos essenciais via água de bebida melhoram o desempenho de matrizes suínas e de suas leitegadas

¹ Biochem do Brasil Nutrição Animal Ltda, Guarulhos, Brazil

² Biochem Zusatzstoffe Handels - und Produktionsgesellschaft mbH, Lohne, Germany

³ Insidesui Research Services, Patrocínio, Brazil

*Correspondence: versuti@biochem.net

Keywords: Health. Performance. Swine.

Introduction

In swine production, applying good handling practices, vaccination programs, and the use of feed and water additives are important to improve productivity and farm profitability. Besides, these preventive practices could lead to a reduction in the need for antimicrobials, as the use of such molecules has become a huge concern of public health. Additives like prebiotics, probiotics, organic acids, and phytochemical compounds (essential oils) are proven to support animal health and increase animal performance. Eucalyptus and mint essential oils are able to reduce the production and accumulation of mucus in the airways, decongest and improve tissue oxygenation. These compounds have

also antimicrobial activity and may stimulate the immune responses of the animals. In addition, menthol can provide refreshing relief, due to its capacity to interact with specific receptors present in the mucosa (Bautista et al., 2007). In the lactation phase, sows are physiologically challenged and are more susceptible to stressors, which can negatively impact litter performance. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of a blend of essential oils and menthol crystals in the drinking water of sows during seven days pre-partum and lactation period on the performance of sows and their litters.

Material and methods

The experiment was carried out on a commercial farm, in Patrocínio, MG, Brazil. Sixty sows of DanBred genetics (average parity: 3.9) were used in this 30 days (d) study - 7 d pre-partum plus 23 d of the lactation period. Sows were housed in maternity pens (6.05 m²), in an acclimatized maternity barn, and all litters received milk replacer from 5-d old and Pre-Stater feed from 10-d old. A completely randomized block design was used, according to the sows' parity, with four treatments and 15 replicates per treatment: EO25 = sows received a blend of essential oils (EO) via drinking water in the dose of 25 mL diluted in 1000 liters; EO50 = sows received 50 mL of EO diluted in 1000 liters of drinking water; EO75 = sows received 75 mL of EO diluted in 1000 liters of drinking water; Control = sows did not receive EO. The sows from groups EO25, EO50 and EO75 received via drinking water a blend of essential oils of eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), mint (*Mentha arvensis*), and menthol crystals,

5 hours during the day. Data were analyzed by Minitab 17 program and submitted for analysis of orthogonal regression. The comparison with the control group was performed by ANOVA and the comparison of means by the Dunnett test (performance parameters) and Friedman test (mortality rate). Differences between means (treated groups vs. control) were considered statistically significant when $p \leq 0.05$.

Results and discussion

Average daily feed intake (ADFI) during the lactation period of the sows had a quadratic regression effect ($p \leq$

0.05) (Table 1). At 10 d-old, there was a quadratic regression effect ($p \leq 0.05$) for the parameters of individual piglet weight (PW), litter weight (LW) and daily weight gain of the piglets (DWG). At this age, EO50 increased LW ($p \leq 0.05$), and EO25 and EO50 increased DWG of the piglets ($p \leq 0.05$), compared to control group (Table 2). At 18-d old, a quadratic regression effect ($p \leq 0.05$) was observed for LW and DWG, and at this age, EO50 increased ($p \leq 0.05$) the number of piglets in comparison to the control group. At 23-d old, there was a positive linear regression effect ($p \leq 0.05$) for the number of piglets (weaned) and the EO50 group statistically differed ($p \leq 0.05$) from the control group, weaning an average of 0.934 piglets more (Table 2).

Table 1 - Effects of the treatments on the performance of the sows in the lactation period

	Treatment				SD	Regression	P-value
	Control	EO25	EO50	EO75			
ADFI	6.700	7.668	7.237	6.452	1.231	Quadratic ¹	0.067
FCR	2.766	2.501	2.337	2.333	0.903	-	0.563

Note: ADFI = average daily feed intake (kg); FCR = feed conversion ratio (kg of feed/kg of piglets); SD = standard deviation of the means.

¹ $Y = 6.748 + 0.0467X - 0.000685X^2$, where X represents the dosage evaluated.

Table 2 - Effects of the treatments on the performance of the suckling piglets

		Treatment				SD	Regression	P-value
		Control	EO25	EO50	EO75			
2 days	No. of piglets	16.133	16.000	16.400	16.067	0.732	-	0.471
	Piglet weight, kg	1.531	1.519	1.539	1.602	0.389	-	0.941
	Litter weight, kg	24.500	24.240	25.110	25.510	5.790	-	0.933
10 days	No. of piglets	15.800	15.667	16.133	15.600	0.602	-	0.093
	Piglet weight, kg	2.681	3.069	3.171	2.766	0.592	Quadratic ¹	0.082
	Litter weight, kg	42.140	48.070	51.080*	43.150	9.130	Quadratic ²	0.032
	DWG, kg	0.144	0.194*	0.202*	0.145	0.050	Quadratic ³	0.002
	Mortality, %	2.064	2.081	1.628	2.907	3.969	-	0.810
18 days	No. of piglets	15.400	15.467	16.200*	15.667	0.784	-	0.032
	Piglet weight, kg	4.376	4.968	4.807	4.659	0.910	-	0.348
	Litter weight, kg	67.260	76.510	77.560	72.820	13.335	Quadratic ⁴	0.163
	DWG, kg	0.177	0.224	0.203	0.191	0.049	Quadratic ⁵	0.081
	Mortality, %	4.543	3.331	1.220	2.490	4.397	Linear ⁶	0.116
23 days	No. of piglets	15.133	15.400	16.067*	15.600	0.810	Linear ⁷	0.023
	Piglet weight, kg	5.327	6.033	5.750	5.672	1.099	-	0.389
	Litter weight, kg	80.860	92.510	92.120	88.140	16.250	-	0.197
All period	DWG, kg	0.180	0.221	0.200	0.194	0.047	-	0.132
	Mortality, %	6.198	3.750	2.030*	2.907	5.159	-	0.021

Note: *Means differ significantly from control group by Dunnett Test; ^aMeans differ significantly from control group by Friedman Test ($p \leq 0.05$).

DWG = daily weight gain; SD = standard deviation of the means. ¹ $Y = 2.670 + 0.02524X - 0.000317X^2$; ² $Y = 41.74 + 0.440X - 0.00555X^2$; ³ $Y = 0.1425 + 0.003259X - 0.000043X^2$; ⁴ $Y = 67.38 + 0.491X - 0.00560X^2$; ⁵ $Y = 0.1813 + 0.001852X - 0.000024X^2$; ⁶ $Y = 5,330 - 0,04461X$; ⁷ $Y = 15,240 + 0,00827X$. X = the dosage evaluated.

Eucalyptus and mint extracts have been shown broad spectrum of action, such as antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, immunomodulatory, antioxidant and expectorant (Chandorkar et al., 2021; Kehili et al., 2022). For animals, the use of essential oils extracted from eucalyptus and mint has demonstrated beneficial effects on performance and health parameters. The use of essential oils from thyme, peppermint and eucalyptus at 150 ppm in drinking water improved body weight, immune response and microbiota in broilers (Hesabi et al., 2019). For laying hens, the use of eucalyptus extract led to improved antioxidant status and performance (Abdel-Wareth and Lohakare, 2020) and the use of *Mentha piperita* extract led to improvement of performance (Chen et al., 2018). For swine, the literature lacks studies regarding essential oils based on eucalyptus and mint. The use of a micro-encapsulated eucalyptus-medium chain fatty acids into feed improved nutrient digestibility and growth performance of weaned pigs, compared to the control group, and led to a similar performance level compared to groups with an in-feed antibiotics or therapeutic levels of zinc oxide (Han et al., 2011). In general, plant extracts have been shown to improve the performance and health parameters of animals, and their full mechanisms of action need yet to be better studied for swine.

Conclusion

The use of the essential oils in the dilution of 50 mL to 1000 liters of drinking water of sows improved their feed intake, which led to increased piglets' performance and weaning weight, and reduced piglets' mortality in maternity phase.

References

- ABDEL-WARETH, A. A. A.; LOHAKARE, J. D. Productive performance, egg quality, nutrients digestibility, and physiological response of bovans brown hens fed various dietary inclusion levels of peppermint oil. *Animal Feed Science and Technology*, 267,114554, 2020.
- BAUTISTA, D.M. et al. The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold. *Nature*, 12, 204-208, 2007.
- CHANDORKAR, N. et al. systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus Eucalyptus. *Phytomedicine Plus*, 1, 100089, 2021.
- CHEN, Y. et al. Polyphenols in Eucalyptus leaves improved the egg and meat qualities and protected against ethanol-induced oxidative damage in laying hens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2, 214-223, 2018.
- HAN, Y.K. et al. Use of a micro-encapsulated eucalyptus-medium chain fatty acid product as an alternative to zinc oxide and antibiotics for weaned pigs. *Journal of Swine Health and Production*, 19, 34-43, 2011.
- HESABI, N. A. et al. Effects of a blend of thyme, peppermint and eucalyptus essential oils on growth performance, serum lipid and hepatic enzyme indices, immune response and ileal morphology and microflora in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103, 1388-1398, 2019.
- KEHILI, S. et al. Peppermint (*Mentha Piperita* L.) Essential oil as a potent anti-inflammatory, wound healing and anti-nociceptive drug. *European Journal of Biological Research*, 10, 132-149, 2022.

Detecção molecular de fímbrias de *Escherichia coli* enterotoxigênica em fezes suínas

Gabriela Merker Breyer
Eduarda Adiers Agustini
Mariana Costa Torres
Franciele Maboni Siqueira*

Molecular detection of fimbriae from Escherichia coli enterotoxigenic in swine feces

Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

*Correspondência: franciele.siqueira@ufrgs.br

Palavras-chave: Diarreia pós-desmame. ETEC. Fímbrias.

Introdução

Escherichia coli enterotoxigênica (ETEC) é o micro-organismo responsável pela manifestação de diarreia em leitões pós-desmame, resultando em grandes prejuízos econômicos (Rhouma et al., 2017). Através de transmissão oro-fecal, ETEC é capaz de se ligar aos receptores presentes nos enterócitos e colonizar o intestino (Luppi, 2017). O componente responsável pela capacidade de fixação é nomeado fímbria, sendo considerado importante fator de virulência (Rydal et al., 2023). Assim, o objetivo deste estudo foi realizar a detecção molecular de genes que codificam para as fímbrias F4 e F5 de ETEC em fezes de leitões na fase de creche, com e sem diarreia, e avaliar a associação entre a presença de sinais clínicos e genes para as fímbrias.

Material e métodos

Foram selecionados 30 suínos em fase de creche (pós-desmame), com 35 a 42 dias de vida, através de amostragem por conveniência (Medronho et al., 2008). Entre os animais, seis apresentavam diarreia. Amostras de fezes foram coletadas diretamente do reto e extraiu-se DNA metagenômico total utilizando DNeasy Power Soil Kit. A partir de então, realizou-se a reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional em *singleplex* para a detecção dos genes que codificam para as fímbrias F4 e F5 (Casey e Bosworth, 2009). Utilizou-se o teste qui-quadrado de Pearson com correção de continuidade de Yates (Callegari-Jaques, 2003) para verificar se há associação entre diarreia e a presença das fímbrias ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

Foram detectadas fímbrias em 11/30 (36,7%) dos suínos, sendo F4 em 3/11 (27,3%) e F5 em 9/11 (81,8%), com um caso em que foram encontradas ambas as fímbrias. Não constatou-se associação entre a presença das fímbrias e diarreia ($p > 0,05$). Dois estudos realizados em leitões pós-desmame diarreicos obtiveram resultados semelhantes entre si, com uma maior proporção de F4 (66,4 e 45,1%) e menor de F5 (0,57 e 0,6%), respectivamente (Zhang et al., 2007; Luppi et al., 2016).

O presente estudo difere dos anteriormente citados, apresentando uma maior proporção de F5, possivelmente por não abranger apenas leitões diarreicos, tendo em vista que F4 é mais relacionada ao sinal clínico (Sun e Kim, 2017). A análise dos fatores de

virulência também em suínos não diarreicos se faz relevante, já que a transmissão pode ocorrer a partir de animais assintomáticos (Rhouma et al., 2017). Além disso, destaca-se também que para a manifestação de sinais clínicos, é necessária a presença de outros fatores de virulência, como as enterotoxinas (Zhang et al., 2018), provável motivo pelo qual não houve associação entre diarreia e a presença de F4 e F5.

Conclusão

Os genes codificadores de fímbrias foram identificados em fezes de animais com e sem diarreia. Apesar das fímbrias F4 e F5 serem importantes na aderência de ETEC no trato gastrointestinal de suínos, parece ser essencial a presença de outros fatores de virulência para o desencadeamento de sinais clínicos nos animais.

Referências

AB CALLEGARI-JAQUES, S.M. Bioestatística: princípios e aplicações. Porto Alegre: Artmed; p.128-143, 2003
CASEY, T.A.; BOSWORTH, B.T. Design and evaluation of a multiplex polymerase chain reaction assay for the simultaneous identification of genes for nine different virulence factors associated with *Escherichia coli* that cause diarrhea and edema disease in swine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.21, n.1, p.25-30, 2009.

LUPPI, A. et al. Prevalence of virulence factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs with post-weaning diarrhea in Europe. *Porcine Health Management*, v.2, p.20, 2016.

LUPPI, A. Swine enteric colibacillosis: diagnosis, therapy and antimicrobial resistance. *Porcine Health Management*, v.3, p.16, 2017.

MEDRONHO, R.A. et al. *Epidemiologia*. 2ed. São Paulo: Atheneu; 2008. p.413.

RHOUMA, M. et al. Post Weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.59, p.31, 2017.

RYDAL, M.P. et al. Complete association between CHCF1 genotype and enterotoxigenic *Escherichia coli* F4ab-associated post-weaning diarrhea in a pig challenge trial. *Veterinary Microbiology*, v.282, 109771, 2023.

SUN, Y.; KIM, S.W. Intestinal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* in pigs, and nutritional intervention to prevent postweaning diarrhea. *Animal nutrition*, v.3, n.4, p.322-330, 2017.

ZHANG, H. et al. Protective immunity of a multivalent vaccine candidate against piglet diarrhea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in a pig model. *Vaccine*, v.36, n.5, p.723-728, 2018.

ZHANG, W. et al. Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains recently isolated from young pigs with diarrhea in the US. *Veterinary Microbiology*, v.123, n.1-3, p.145-152, 2007.

Desempenho de animais vacinados com diferentes vacinas para PCV-2 e *Mycoplasma hyopneumoniae*

Aparecida Tatiane L. Fiúza^{1*}

Elisa De Conti¹

Renato Simões Santana²

Rômulo Gonçalves¹

Pedro Motta³

Ricardo Lippke¹

Performance of animals vaccinated with different vaccines for PCV-2 and Mycoplasma hyopneumoniae

¹ Boehringer Ingelheim do Brasil, São Paulo, Brasil

² Médico Veterinário Agropecuária FETZ, Rio Verde, Brasil

³ Vetmarket Agronegócios, Brasília, Brasil

*Correspondência: aparecida.fiuza@boehringer-ingelheim.com

Palavras-chave: Circovirose. Pneumonia. Reação vacinal.

Introdução

A infecção pelo circovírus suíno tipo 2 (PCV-2) pode levar a diversas manifestações clínicas, como a síndrome multissistêmica do definhamento (SMD). O PCV-2 causa grandes perdas econômicas à suinocultura devido ao atraso no desenvolvimento dos animais ou elevada mortalidade (Baró et al., 2015). Outro agente de grande importância é o *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhyo), que está entre os principais patógenos causadores de pneumonias em suínos (De Conti et al., 2021). Entre as medidas de controle destes agentes, a vacinação tem se mostrado efetiva, reduzindo sinais clínicos, minimizando perdas de desempenho e reduzindo a circulação (baixando pressão de infecção) viral e bacteriana nos animais e no ambiente (Segalés, 2014;

Maes et al., 2018; Opriessnig et al., 2020). No entanto algumas vacinas, principalmente formuladas com adjuvantes oleosos, as quais apresentam reações adversas mais severas, podem impactar diretamente o ganho de peso diário do animal. Assim, o objetivo deste estudo foi mensurar o ganho de peso diário e o peso por fase em animais na creche e terminação, vacinados com diferentes vacinas para PCV-2 e Mhyo.

Material e métodos

O estudo foi realizado em uma granja comercial de 2.450 matrizes produtivas, localizada no centro-oeste brasileiro. Um total de 1.290 leitões, igualmente divididos em machos e fêmeas, provenientes de desmame único, foram aleatorizados em dois tratamentos (Tabela 1). Os animais foram brincados, pesados individualmente, aleatorizados e vacinados no dia seguinte ao desmame, com média de 22 dias de vida. A segunda pesagem foi realizada na saída da creche, com média de 64 dias de vida, e a terceira pesagem uma semana antes do abate, com média 153 dias de vida. Análise estatística de teste t foi realizada considerando um intervalo de confiança de 90%.

Resultados e discussão

Os dados de desempenho de cada tratamento estão descritos na Tabela 2. O peso médio inicial ($\pm 5,8$ kg) foi igual entre os tratamentos ($p > 0,1$). Na creche, não foi observada diferença entre os tratamentos (T1 = 20,09 kg vs T2 = 20,43 kg, $p > 0,1$).

Tabela 1 - Distribuição das vacinas por tratamento

Tratamento	Vacina	Dose	Adjuvante	Frequência
T1 (645 animais)	Vacina A PCV2	1 ml	Oleoso	Dose única IM
	Vacina B Mhyo	2 ml	Oleoso	(22 dias, creche)
T2 (645 animais)	Vacina C PCV2	1 ml	Aquoso	Dose única IM
	Vacina D Mhyo	2 ml	Oleoso	(22 dias, creche)

Tabela 2 - Peso médio dos leitões no desmame, na saída de creche, na terminação e ganho de peso diário (GPD) de creche e terminação

Tratamento	Peso desmame	Peso saída creche	Peso terminação	GPD creche	GPD terminação
T1	5,81	20,09	104,48	0,340	0,948
T2	5,79	20,43	106,05	0,348	0,962
Valor-p	0,87	0,25	0,07	0,17	0,08

Da mesma forma, o desempenho dos animais de creche medido pelo GPD foi semelhante entre os tratamentos (T1 = 0,340 kg vs T2 = 0,348 kg, $p > 0,1$). Já na terminação, os animais de T2 obtiveram 1,57 kg a mais por animal (T1 = 104,48 kg vs T2 = 106,05 kg, $p < 0,1$) e com desempenho de GPD superior (T1 = 0,948 kg vs T2 = 0,962 kg, $p < 0,1$). Esse resultado vai de encontro com outros estudos (Potter et al., 2012; Lima e Lippke, 2018), nos quais demonstrou-se que vacinas oleosas causam maior reação vacinal e que os animais perdem desempenho. Os animais vacinados com vacina de adjuvante polímero aquoso (T2) apresentaram melhor desempenho, semelhante ao observado no estudo de Potter et al. (2012).

Conclusão

O desempenho dos animais vacinados a campo pode ser afetado pelos diferentes tipos de vacinas usadas. Além da eficácia e segurança da vacina, portanto, o tipo de adjuvante pode interferir no resultado, sendo necessário cada vez mais selecionar adjuvantes adaptados que causem menor reação vacinal e garantam que o animal expresse o seu total potencial zootécnico.

Referências

BARÓ, J. et al. Porcine circovirus type 2 (PCV2) enteric disease: An independent condition or part of the systemic disease? *Veterinary microbiology* v.176, n.1, p.83-87, 2015.

DE CONTI, E. R. et al. Agents of pneumonia in slaughtered pigs in southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 41, p. e06669, 2021.

LIMA, D.; LIPPKE, R. Impacto da utilização de vacina frente o PCV2 e Mh (reativa vs não reativa) no desempenho dos leitões do desmame ao abate. *XI SINSUI Avanços em sanidade Produção e Reprodução de Suínos III*, 2018.

MAES, D., et al.; Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: Knowledge gaps for improved disease control. *Transbound Emerg Dis.*, v.65 (Suppl. 1), p.110-124, 2018.

OPRIESSNIG, T. et al.; Porcine circovirus type 2a or 2b based experimental vaccines provide protection against PCV2d/porcine parvovirus 2 co-challenge. *Vaccine*, v.38, p.1975-198, 2020.

POTTER, M. L. et al; Effects of diet source and vaccination for porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* on nursery pig performance. *J. Anim. Sci.*, p.90, p.4063-4071, 2012.

SEGALÉS, J. Best practice and future challenges for vaccination against porcine circovirus type 2. *Expert Rev. Vaccines* Early online, p.1-15, 2014.

SPICKLER, A.R. et al.; Adjuvants in Veterinary Vaccines: Modes of Action and Adverse Effects. *J Vet Intern Med.*, v.17, p.273 - 281, 2003.

Intoxicação por narasina em suínos: relato de caso

Narasin Poisoning in swine: case report

Gabriella Martins de Souza¹
Anna Christina Augestein¹
Carol Camila Ladwig¹
Caroline Kuhnen Lima¹
Willian Ferreira Cristovão¹
Natalia Bordignon Moreira¹
José Cristani²
Sandra Davi Traverso^{1*}

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Brasil

² Departamento de Produção Animal e Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Brasil

*Correspondência: sandra.traverso@udesc.br

Palavras-chave: Antibiótico ionóforo. Diagnóstico. Miopatia tóxica.

Introdução

Segundo Patterson (2005), os antibióticos ionóforos têm sido regularmente utilizados nas rações de suínos desde a década de 50, agindo na modulação da microbiota intestinal, diminuindo a incidência de diarreia e melhorando substancialmente o ganho de peso e a eficiência alimentar (Patterson, 2005). De acordo com Roder (2011), quando usados adequadamente, esses produtos são eficazes, porém a margem de segurança é pequena e o uso indevido pode causar miopatias tóxicas (Roder, 2011). Esse relato tem por objetivo descrever um surto de miopatia em suíno de terminação decorrente da intoxicação espontânea por narasina.

Material e métodos

Dados epidemiológicos referentes à mortalidade em suínos em três granjas no oeste de Santa Catarina foram obtidos com o técnico responsável. Animais doentes foram necropsiados e amostras de vísceras, SNC, coração e músculos esqueléticos foram coletadas, fixadas em formol 10%, processadas rotineiramente para exame histológico e coradas pela hematoxilina e eosina (HE) (Prophet et al., 1994). Amostras da ração foram encaminhadas para análise toxicológica.

Resultados e discussão

Cinco dias após o fornecimento de ração para três granjas terminadoras de suínos, relatos simultâneos de animais sendo encontrados caídos ou com relutância ao movimentos foram feitos por parte dos produtores. Visita a uma das propriedades foi feita pela equipe do Laboratório de Produção e Sanidade Animal (PROS - animal). Nessa propriedade os animais estavam com 100 dias de alojamento. A primeira alteração observada foi diminuição brusca do consumo logo após o fornecimento de ração, com estimativa de consumo de 1,8 kg ração/animal, sendo que o esperado seria de aproximadamente 3 kg. Três dias após o fornecimento da ração, iniciaram-se os sinais clínicos e cinco dias após foram encontrados inúmeros animais caídos nas baias. Os animais apresentavam tremores musculares acentuados, com grunhidos contínuos de dor durante o tremor. Apresentavam dificuldade de manter-se em estação, quando caminhavam apoiavam-se nas pinças dos cascos, quando parados ficavam em posição de cão sentado ou decúbito lateral e muitos deles apresentavam dificuldade respiratória. Em cinco dias, 79 suínos já tinham morrido ou sido eutanasiados *in extremis*. Quatro animais foram necropsiados e em um deles observou-se palidez leve de musculatura dos membros pélvicos. Na histologia da musculatura esquelética observou-se necrose hialina e flocular de fibras, multifocal, variando de moderada a acentuada, por vezes com desaparecimento completo de citoplasma e outras com fagocitose de fibras. As lesões eram acompanhadas de infiltrado de macrófagos e menor número de neutrófilos,

multifocal e moderado, compatível com miopatia tóxica. Segundo o veterinário responsável das três propriedades, os sinais clínicos eram semelhantes, porém eram mais intensos na granja 1, seguida pelas granjas 2 e 3. Como medida de controle, a ração foi substituída nas três granjas onde o problema ocorreu.

Na investigação epidemiológica na fábrica de ração constatou-se que foram fabricadas duas partidas de ração. A primeira partida foi produzida com um lote de *premix* (*premix* a). A ração foi armazenada em um silo, sendo imediatamente expedida para a granja 1, porém parte da ração produzida permaneceu no silo. A segunda partida foi feita com o outro lote de *premix* da mesma marca (*premix* b) e armazenada sobre a tonelada restante, sendo enviada para as granjas 2 e 3 ainda no mesmo dia. As três granjas que receberam a ração fabricada apresentaram os mesmos sinais clínicos. Amostras da primeira e segunda partida de ração e dos insumos (milho e soja) utilizados na fabricação foram encaminhadas para análise toxicológica, sendo recuperada narasina nas amostras de ração enviadas, nas dosagens de 79,78 mg/kg (primeira partida) e 16,98 mg (segunda partida). Assim, como a gravidade dos sinais clínicos, a mortalidade também foi maior na granja 1 (24,4%), seguida das granjas 2 e 3 (12,93% e 3,63%, respectivamente), e deve-se à quantidade de narasina na ração e à quantidade de ração ingerida. Os dados produtivos das granjas podem ser observados na Tabela 1.

A ração expedida no dia seguinte, feita com o restante *premix* b, não ocasionou problemas. Através do sistema de rastreabilidade da fornecedora do *premix*, constou-se que o lote de *premix* 1 era destinado a aves e que foi enviado por engano à fábrica de ração de suínos. Ao término do período de carência, os animais foram encaminhados ao abate, como forma de mitigar as perdas econômicas.

Conclusão

O diagnóstico da intoxicação baseou-se na epidemiologia, no quadro clínico-patológico e na recuperação de narasina da ração fornecida aos animais. As medidas profiláticas de troca imediata de ração e abate precoce dos animais após o período de carência foram fundamentais para o controle do surto e para a diminuição das perdas econômicas.

Referências

PATTERSON, J.A. Prebiotic feed additives: rational and use in pigs. *Advances in Pork Production*. 16(13):149-159, 2005.
 PROPHET, E.B. et al. *AFIP laboratory methods in histotechnology*. Washington: American Registry of Pathology, 1994.
 RODER, J.D. Ionophore toxicity and tolerance. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 27(2):305-314, 2011.

Tabela 1 - Dados produtivos das granjas

Granjas	Animais alojados (n)	Partida da ração recebida	Ração entregue (kg)	Mortalidade (%)
1	525	1	17,950	24,4
2	1128	2	14,390	12,92
3	1100	2	17,890	3,63

Bactérias isoladas de lesões pulmonares responsáveis por condenações ou aproveitamento condicional de carcaças de suínos

Marcos A .Z. Mores*
Jalusa D. Kich
Raquel Rebelatto

Bacteria isolated from lung lesions responsible for condemnation or conditional use of pig carcasses

Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

*Correspondência: marcos.mores@embrapa.br

Palavras-chave: Bactéria. Condenação. Pneumonia.

Introdução

As perdas relacionadas com condenações causam importantes prejuízos econômicos, pois ocorrem no final da produção, contabilizando todos os custos envolvidos durante as diferentes fases deste processo. As doenças respiratórias são as principais causas sanitárias de condenações de carcaças em suínos (Coldebella et al., 2018; Kingler et al., 2021). As lesões mais frequentemente associadas com estas condenações são os nódulos ou abscessos pulmonares, associados ou não com lesões na pleura (Morés et al., 2016). Estas lesões normalmente são causadas por infecções bacterianas. A correta identificação das bactérias envolvidas nestas lesões permite que ações específicas possam ser tomadas nas granjas para mitigação do

problema. O objetivo deste estudo foi identificar os agentes bacterianos envolvidos nestas lesões.

Material e métodos

Foram analisadas 60 amostras de lesões pulmonares oriundas de cinco abatedouros com inspeção federal, pertencentes a duas empresas. As amostras caracterizaram-se por nódulos de necrose pulmonar, associadas com pleurite focal ou difusa, colhidas de carcaças desviadas da linha para o departamento de inspeção final (DIF) devido a estas lesões. Fragmentos das lesões foram colhidos, com tesoura e pinça estéreis, e armazenados em sacos plásticos e transportados refrigerados para exame bacteriológico em formol 10% à temperatura ambiente para exame histopatológico. No laboratório, as amostras bacteriológicas seguiram cultivo de rotina e os isolados foram caracterizados por provas bioquímicas (Quinn et al., 1994) e PCRs específicos para cada agente a ser confirmado. Os exames histopatológicos foram processados conforme técnica de rotina.

Resultados e discussão

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados de isolamento bacteriano. As quatro bactérias isoladas com maior frequência pertencem à família Pasteurellaceae, sendo agentes com capacidade de induzir broncopneu-

monia fibrinosa em suínos, a qual é caracterizada principalmente por exsudação de fibrina e áreas de necrose pulmonar que, com a evolução, produzem nódulos necróticos e aderências de pleura. Outros trabalhos também encontraram *Pasteurella multocida* e *Actinobacillus pleuropneumoniae* entre os principais agentes causadores de lesões pulmonares em suínos de abate (Morés et al., 2016). O *Actinobacillus suis* tem sido isolado com maior frequência nos últimos anos (Santos et al., 2021), tanto em lesões observadas ao abate como em quadros clínicos de campo (Santos et al., 2021; Kulathunga et al., 2022). Um estudo no Canadá associou cepas patogênicas de *A. suis* com novas linhagens moleculares da bactéria, as quais apresentaram aumento no número de cópias de genes da toxina RTX quando comparadas a uma amostra padrão ATCC (Kulathunga et al., 2022). No presente estudo, em 27 amostras (45%), além da lesão necrótica que causou o desvio da carcaça, havia também áreas de consolidação pulmonar, indicando a associação de outro agente, sendo que 20 destas amostras (33,3%) foram positivas para *Mycoplasma hyopneumoniae* em teste de imunohistoquímica, evidenciando o envolvimento deste agente

nos quadros, principalmente nas infecções por *P. multocida*, onde em 15 das 19 amostras (79%) havia lesões de associação de agentes. Já para *A. pleuropneumoniae* (12,5%) e *A. suis* (37%), esta associação foi menor. Conti et al. (2021) também identificaram *M. hyopneumoniae* como um dos principais agentes em pneumonias de suínos ao abate. Os agentes *P. multocida* e *A. suis* foram isolados em pelo menos uma amostra em todos os cinco abatedouros, enquanto *A. pleuropneumoniae* foi isolado em apenas dois, sendo sete das oito amostras em um único frigorífico. Estes dados demonstram que *A. suis* e *P. multocida* estão mais disseminados nas granjas do que *A. pleuropneumoniae*.

Conclusão

A. suis, *P. multocida* tipo A e *A. pleuropneumoniae* foram as bactérias mais frequentes em lesões pulmonares responsáveis por condenações ou aproveitamento condicional de carcaças no estudo realizado. Lesões causadas por *M. hyopneumoniae* foram observadas em 33% destas amostras.

Tabela 1 - Bactérias isoladas de lesões pulmonares responsáveis por condenações ou aproveitamento condicional de carcaças de suínos em cinco abatedouros

Bactéria	Número de amostras (%)
<i>Actinobacillus suis</i>	19 (31,7)
<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	19 (31,7)
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	8 (13,3)
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	3 (5,0)
<i>Streptococcus suis</i>	2 (3,3)
Sem crescimento de bactérias patogênicas	9 (15,0)

Referências

- COLDEBELLA, A. Et al. Avaliação dos dados de abate e condenações/desvios de suínos registrados no Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal nos anos de 2012 a 2014. Embrapa, Documento 198, 2018.
- CONTI, E. R. et al. Agents of pneumonia in slaughtered pigs in Southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 41:e06669, 2021.
- KLINGER, J. Agricultural holdings and slaughterhouses' impact on patterns of pathological findings observed during post-mortem meat inspection. *Animals*. 11, 1442, 2021.
- KULATHUNGA, D. G. R. S. et al. *Actinobacillus suis* isolated from diseased pigs are phylogenetically related but harbour different number of toxin gene copies in their genomes. *Veterinary Record Open*. 9(1):e45, 2022.
- MORÉS, M.A.Z. et al. Aspectos patológicos e bacteriológicos em lesões pulmonares responsáveis por condenações de carcaças em suínos. *Archives of Veterinary Science*. 21(4):92-100, 2016.
- QUINN, P.J. et al. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolf/Mosby, London, 1994.
- RODER, J.D. Ionophore toxicity and tolerance. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 27(2):305-314, 2011.
- SANTOS, L.F. Aumento da ocorrência de *Actinobacillus suis* no Brasil. SINSUI, 2021. [Link](#)

Detecção de genótipos do circovírus suíno tipo 2 (PCV2) em amostras clínicas de suínos

Rovian Miotto^{1,2*}
Caroline Pissetti³
Luiz Carlos Bordin⁴
Janice Reis Ciacci Zanella⁴

Porcine circovirus type 2 (PCV2) genotype detection in swine clinical samples

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina, Concórdia, Brasil

² Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

³ Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal, Concórdia, Brasil

⁴ Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

*Correspondência: rovia.n.miotto@gmail.com

Palavras-chave: Circovírus. Genotipagem. PCV.

Introdução

Os circovírus são os menores vírus de DNA fita simples de replicação autônoma, não envelopados e com simetria circular (Mankertz et al., 1997). Este vírus pertence à família Circoviridae, gênero *Circovirus* e infectam suínos causando circovirose suína, uma importante doença da produção (Allan et al., 1995). Até o momento foram identificados quatro tipos de circovírus suínos (PCV) capazes de infectar suínos: PCV1, PCV2 e os mais recentes descobertos PCV3 e PCV4 (Zhai et al., 2019; Zhang et al., 2020). Destes, apenas o PCV1 não causa doença conhecida em suínos. Atualmente o PCV2 é classificado em nove genótipos: PCV2a - PCV2i (Franzo e Segalés, 2018; Lv et al., 2020; Rajkhowa et al., 2021). A vacinação e a utilização de medidas de controle dos fatores de risco, visando reduzir

a disseminação e severidade da doença, são as ações mais eficientes para controlar a circovirose na espécie suína (Segalés, 2015). Há diversas vacinas comerciais disponíveis para o controle da circovirose, a maioria baseada no genótipo a do PCV2 (PCV2a) (Zanella et al., 2016). O objetivo deste trabalho foi caracterizar os genótipos de PCV2, buscando padronizar o teste convencional de PCR para três dos nove genótipos circulantes atualmente; estimar a presença de PCV2a, PCV2b e PCV2d em casos clínicos; estimar a presença de coinfeções entre os genótipos e qual genótipo esteve mais presente em coinfeções com PCV3.

Material e métodos

Um total de 333 amostras de diagnóstico foram analisadas, sendo obtidas de casos clínicos e com diagnóstico positivo para PCV2 e PCV3. As amostras incluíam 105 amostras de soro, 10 de útero, 4 de swabs de reto, 3 de rim, 50 de pulmão, 6 de linfonodo, 31 de intestino, 61 de fetos (natimortos, mumificados), 2 de cérebro e 58 de pool de órgãos (fígado, rim, pulmão, baço, linfonodos, coração). O estudo utilizou amostras de casos clínicos submetidos ao diagnóstico de PCV2 em 2021 e 2022, ou seja, 65 e 268 amostras, respectivamente. As amostras eram de suínos de idades variadas (de reposição até animais na fase de terminação) e também de rebanhos de diferentes estados do país, mas em maior número dos estados do sul do Brasil (267/333). Com o objetivo de obter os controles positivos da reação, 20 amostras foram escolhidas aleatoriamente e submetidas ao sequenciamento genômico. A reação

de sequenciamento foi realizada com *primers* descritos anteriormente por Dupont et al. (2008), buscando amplificar a região da ORF2 do vírus (capsídeo viral). A padronização da PCR foi baseada também na região da ORF2 do PCV2, sendo essa a que apresenta maior taxa de diversidade. Cada amostra foi testada individualmente para cada um dos três genótipos de PCV2 de interesse, ou seja, PCV2a, PCV2b e PCV2d. As condições de PCR utilizadas foram as mesmas descritas por Kim et al. (2018). Os produtos da amplificação da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% e visualizados em luz UV após coloração de brometo de etídio a 2%.

Resultados e discussão

Das 333 amostras analisadas, em 266 foram amplificadas a ORF2 de PCV2a, PCV2b ou PCV2d. Este estudo mostra que os genótipos de PCV2b e PCV2d foram encontrados em todos os estados das amostras analisadas, o que se assemelha com um estudo conduzido por Xu et al. (2022), onde esses dois genótipos foram encontrados em todas as províncias da China analisadas. Este resultado corrobora também diversos estudos no mundo, os quais demonstram que PCV2b e PCV2d são atualmente os genótipos mais prevalentes (Zheng et al., 2020; He et al., 2022). Outras pesquisas mostram a importância do PCV2b e PCV2d em sua disseminação global nos anos recentes, sendo predominantes nas produções de suínos mundiais. O PCV2a não foi encontrado em nenhuma amostra clínica, o que também foi relatado por Eddicks et al. (2017). Sugere-se que isso se deve ao impacto da utilização das vacinas para PCV2, uma vez que a maioria das vacinas utilizadas são baseadas no genótipo de PCV2a. Todavia especula-se que a pressão de vacinação (Franzo et al., 2016; Silva e Castro, 2022), favorece o surgimento e seleção de novos genótipos, principalmente o PCV2b e PCV2d (Weissenbacher-Lang et al., 2020), o que ainda deve ser investigado.

A infecção pelo PCV2 causa um impacto significativo na cadeia suinícola, levando a diversos prejuízos para os produtores e sendo de suma importância a doença subclínica (Opriessnig et al., 2006). Este estudo demonstrou que PCV2b foi o mais prevalente, sendo detectado em 151 das 266 amostras analisadas. Vários estudos indicaram os mesmos resultados, como uma pesquisa realizada na Austrália em que PCV2b foi detectado em 7 de 17 amostras analisadas (Mone et al., 2020). Em um relato retrospectivo, de 2002 a 2017, realizado na Áustria, o PCV2b foi encontrado em todos os anos estudados e demonstrou-se maior prevalência de PCV2b m (Weissenbacher-Lang et al., 2020). Em estudo retrospectivo dos anos 2015 até 2018, na China,

também identificou-se PCV2b em todos os anos (Zheng et al., 2020). A presença de coinfeções entre os genótipos (PCV2b e PCV2d) vem se tornando frequente, fato este que foi observado em 27 amostras deste estudo, sendo também encontrado por Rudova et al. (2022). Em um total de 26 amostras do presente estudo foi possível detectar uma coinfeção com PCV3. Novamente, este resultado se relaciona com outros estudos pelo mundo, nos quais também foi possível identificar coinfeção entre os genótipos de PCV2 e PCV3 (Xu et al., 2022; Yang et al., 2022), porém nenhum deles relaciona qual genótipo de PCV2 foi o mais prevalente em coinfeções com o PCV3. Com relação à fase de produção, o PCV2b foi o gen-tipo mais encontrado na fase de creche, em um total de 51 amostras. Já o PCV2d foi o genótipo mais frequente na terminação, totalizando 57 amostras positivas. Este resultado corrobora um estudo realizado na Coreia do Sul, no qual Park e Chae (2021) encontraram maior prevalência de PCV2d em linfonodos de suínos ao abate. A terminação foi a fase em que mais se obteve amostras positivas para PCV2 e que puderam ser genotipadas. Provavelmente isso se deva à queda na imunidade vacinal; assim, os suínos ficam mais suscetíveis às infecções por PCV2 (Park e Chae, 2021).

Conclusão

Os resultados deste trabalho demonstraram que PCV2b continua muito presente em rebanhos suínos no Brasil, mas também foi possível observar um aumento da detecção de PCV2d nas amostras avaliadas. É importante observar a existência de coinfeções entre os genótipos, inclusive a coinfeção com o PCV3. Baseado nestes dados, deve-se atentar para a monitoria da eficácia das vacinas e do aparecimento de circovirose clínica. Desta forma, é importante estudar a evolução do PCV2 para diferentes genótipos e avaliar a atualização das vacinas existentes no mercado, tendo em vista a alta taxa de mutação apresentada pelo vírus. O controle da circovirose deve aliar o uso adequado de vacinas com medidas de biossegurança e manejo sanitário, buscando assim a melhora da sanidade do rebanho.

Referências

- DUPONT, K. et al. Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time. *Veterinary Microbiology*, v. 128, n. 1-2, p. 56-64, 2008.
- FRANZO, G.; SEGALÉS, J. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *Plos One*, 2018.

- FRANZO, G. et al. Porcine circovirus type 2 (PCV2) evolution before and after the vaccination introduction: A large scale epidemiological study. *Scientific Reports*, v. 6, 2016.
- HE, W. T. et al. Virome characterization of game animals in China reveals a spectrum of emerging pathogens. *Cell*, v. 185, n. 7, p. 1117- 1129.e8, 2022.
- LV, Q. et al. Genomic analysis of porcine circovirus type 2 from southern China. *Veterinary Medicine and Science*, v. 6, n. 4, p. 875-889, 2020.
- MANKERTZ, A. et al. Mapping and Characterization of the Origin of DNA Replication of Porcine Circovirus. *Journal Of Virology*. v.71. n. 3. p.2562-2566, 1997.
- MONE, N. K. et al. Genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) in Queensland, Australia. *Australian Veterinary Journal*. v.98. p.388-395.2020.
- OPRIESSNIG, T. et al. Porcine circovirus type 2 infection decreases the efficacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 13, n. 8, p. 923-929, 2006.
- PARK, K. H.; CHAE, C. The prevalence of porcine circovirus type 2e (PCV2e) in Korean slaughter pig lymph nodes when compared with other PCV2 genotypes. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 68, n. 6, p. 3043-3047, 2021.
- RAJKHOWA, T. K. et al. Emergence of porcine circovirus 2g (PCV2g) and evidence for recombination between genotypes 2g, 2b and 2d among field isolates from non-vaccinated pigs in Mizoram, India. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 90, p. 104775, 2021.
- RUDOVA, N. et al. Genetic Diversity of Porcine Circovirus 2 in Wild Boar and Domestic Pigs in Ukraine. *Viruses*. 2022.
- SEGALÉS, J. Best practice and future challenges for vaccination against porcine circovirus type 2. *Expert Review of Vaccines*Expert Reviews Ltd., 2015.
- SILVA, R. R. ; CASTRO, A. M. M. G. Porcine circovirus 2: Status atual e seus desafios. *Pubvet*, v. 16, n. 4, p. 1-14, 2022.
- WEISSENBACHER-LANG, C. et al. Porcine circovirus type 2 (PCV2) genotyping in Austrian pigs in the years 2002 to 2017. *BMC Veterinary Research*, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2020.
- XU, Q. et al. Epidemiology and genetic diversity of PCV2 reveals that PCV2e is an emerging genotype in Southern China: A Preliminary Study. *Viruses*, v. 14, n. 4, 2022.
- YANG, Y. et al. Prevalence and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) and type 3 (PCV3) in the Southwest of China during 2020-2022. *Frontiers in Veterinary Science*, 9:1042792, 2022.
- ZANELLA, J. R. C. et al. Principais ameaças sanitárias endêmicas da cadeia produtiva de suínos no Brasil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 51, n. 5, p. 443-453, 2016.
- ZHAI, S. L. et al. Reservoirs of porcine circoviruses: a mini review. *Frontiers in Veterinary Science*, 6:319, 2019.
- ZHANG, D. et al. Establishment of an SYBR Green-based real-time PCR assay for porcine circovirus type 4 detection. *Journal of Virological Methods*, v. 285, 2020.
- ZHENG, G. et al. Phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) between 2015 and 2018 in Henan Province, China. *BMC Veterinary Research*, v. 16, n. 1, 2020.

Diferentes perfis de qualidade de água em uma mesma propriedade

Different water quality profiles in a same property

Fernando Retamal^{1*}
Daiane Carvalho¹
Michele Fangmeier¹
Luana Specht¹
Fernanda Richter¹
Ana Luísa da Costa²

¹ American Nutrients do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Teutônia, Brasil

² Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil

*Correspondência: retamal72@gmail.com

Palavras-chave: Água. Contaminação microbiológica. Suínos.

Introdução

Na suinocultura, a utilização de água de qualidade como nutriente assume um papel fundamental na manutenção dos índices produtivos (Nyachoti e Kiarie, 2010). É o nutriente mais consumido pelos animais e uma das principais fontes de transmissão de contaminação dos lotes (Palhares e Kunz, 2011). Em paralelo, a suinocultura gera grandes volumes de dejetos, comumente utilizados como fertirrigação, podendo ser uma fonte de poluição ambiental e possibilitando a eutrofização das águas superficiais (Nyachoti e Kiarie, 2010). Estes dejetos contêm nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, sódio, magnésio e demais componentes orgânicos, bem como patógenos, que quando em contato com a água podem interferir na sua composição (Coelho, 2006; Souza et al., 2009; Carboni et al., 2012; Tiecher, 2017). Sendo assim, a avaliação da contaminação microbiana de águas subterrâneas é imprescindível para determinar as características do aquífero e a probabilidade de ocorrência de doenças (Pahl et al., 2018). Este trabalho teve por objetivo avaliar o perfil de qualidade microbiológica e físico-química de três fontes de água situadas em uma mesma propriedade produtora de suínos ao longo de seis meses.

Material e métodos

As amostras de água foram coletadas em três fontes distintas (P1, P2 e P3) situadas em uma mesma propriedade rural produtora de suínos no município de Céu Azul, Paraná, com distanciamento entre elas de 600m. Ocorreram coletas mensais em cada ponto durante o período semestral, entre agosto de 2022 e janeiro de 2023. As seguintes análises físico-químicas foram realizadas: pH (pHmetro portátil, marca Akso), ferro (SMWW 3500 Fe B), magnésio (SMWW 3500 Mg B), cálcio (SMWW 3500-Ca B), nitritos (SMWW 4500-NO₂ B), nitratos (SMWW 4500-NO₃ B). Foram avaliadas, também, *Salmonella* spp. (ISO 9308-1:2014), coliformes totais e *Escherichia coli* (ISO 19250:2010).

Resultados e discussão

As amostras P1 e P3 são oriundas de águas de poços artesianos com profundidade de 250 e 230m, respectivamente, ambos com dois anos de perfuração, e a P2 origina-se de nascente. O índice pluviométrico variou de 39,6 a 431,6 (INMET, 2023). O pH das águas variou de 6,3 a 10,3, mesmo sendo de fontes de água da mesma propriedade. Conforme a Portaria nº 888/2021 (Brasil, 2021), permite-se no máximo 0,3 mg/L de ferro na água. Observaram-se concentrações de ferro acima do limite para as três amostras de água no mês de novembro/2022, podendo este resultado estar atrelado ao índice pluviométrico expressivo (431,6 mm) observado no mês anterior (outubro/2022).

O magnésio variou de 1,0 a 59,1 mg/L, o cálcio variou de 1,0 a 69,08 mg/L e não há parâmetro estipulado para estes minerais (Brasil, 2021). A legislação permite até 10 mg/L de nitrato e até 1 mg/L de nitrito, sendo os nitritos dez vezes mais tóxicos aos animais do que os nitratos, e a presença de ambos na água pode causar alterações na frequência respiratória, aumento de incidência de diarreias, abortos, entre outras complicações (Nyachoti e Kiarie, 2010). De acordo com a Tabela 1, todas as amostras apresentaram contaminação por nitrato e em P3 evidenciou-se nitrito fora do padrão. A presença de nitratos e nitritos na água está relacionada à aplicação de fertilizantes, degradação de matérias orgânicas ou dejetos de animais no solo (Nyachoti e Kiarie, 2010). A contaminação microbiológica prejudica a saúde dos animais, predispondo a doenças, aumento de custos com medicação e comprometendo o desempenho e bem-estar dos mesmos. A identificação de coliformes totais na água, por sua patogenicidade, é uma evidência de contaminação por infiltração de águas superficiais (Nyachoti e Kiarie, 2010; Padilha et al., 2013; Pahl et al., 2018). Nenhuma das águas avaliadas apresentou

contaminação por *Salmonella* spp. A fonte de água P1 também não apresentou contaminação microbiológica ao longo do período de avaliação. Ao longo dos seis meses, a fonte P2 apresentou contaminação em cinco deles, enquanto P3 em 3 meses.

Conclusão

Neste trabalho, comprovou-se a variabilidade físico-química e microbiológica de águas de fontes distintas em uma mesma propriedade ao longo de seis meses. Este estudo terá continuidade e será avaliado durante doze meses. Os resultados reforçam a necessidade de avaliações com periodicidade menor das fontes de água, especialmente quando os animais apresentem um desafio sanitário ou zootécnico, pois a água é o nutriente mais consumido pelos animais e umas das principais fontes de propagação de doenças. Além disso, estes resultados reforçam a necessidade de implantação de sistemas de cloração que assegurem a potabilidade da água isenta de contaminação.

Tabela 1 - Resultados das análises físico-químicas e microbiológicas dos pontos de coleta

Mês/ano	Ponto	IP	pH	Fe	Mg	Ca	Nitritos	Nitratos	CT	EC
Ago/2022	P1	160,4	10,0	0,0	1,0	<1,0	0,1	3,5	Aus.	Aus.
	P2		6,8	0,0	7,0	23,9	0,1	13,7	160	30
	P3		7,8	0,0	18,0	65,8	1,4	3,0	50	Aus.
Set/2022	P1	258,8	10,0	0,2	2,9	1,0	0,1	6,0	Aus.	Aus.
	P2		6,8	0,6	22,8	31,4	0,1	58,5	260	54
	P3		7,8	0,0	22,0	59,8	<0,07	12,3	Aus.	Aus.
Out/2022	P1	431,6	10,0	0,0	19,8	7,1	0,2	6,2	Aus.	Aus.
	P2		6,6	0,0	10,8	30,2	0,2	37,8	160	26
	P3		7,4	0,0	59,1	68,6	0,2	14,4	4	Aus.
Nov/2022	P1	69,4	10,1	1,2	22,2	1,0	0,2	14,7	Aus.	Aus.
	P2		6,3	4,8	42,3	24,2	0,1	30,6	Aus.	Aus.
	P3		6,9	3,6	51,8	56,5	0,1	24,5	110	Aus.
Dez/2022	P1	39,6	10,2	0,2	3,0	3,0	0,2	6,3	Aus.	Aus.
	P2		6,9	0,5	9,0	16,8	0,2	10,6	80	10
	P3		7,9	0,3	23,2	69,1	0,1	11,8	Aus.	Aus.
Jan/2023	P1	159,6	10,3	0,0	54,0	42,1	0,2	17,0	Aus.	Aus.
	P2		6,6	0,0	20,1	12,0	0,2	8,3	210	38
	P3		7,8	0,0	44,1	44,1	0,1	18,3	Aus.	Aus.

Nota: IP = índice pluviométrico (mm), dados da estação meteorológica de Marechal Cândido Rondon, Paraná; Fe = ferro (mg/mL); Mg = magnésio (mg/mL); Ca = cálcio (mg/mL); CT = coliformes totais (UFC/mL); EC = *Escherichia coli* (UFC/mL).

Referências

- BRASIL. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
- CARBONARI, J. et al. Diagnóstico das unidades de produção de avicultura e suinocultura do município de Relvado, Vale do Taquari, RS, Brasil. *Ambiência Guarapuava*, v.8, n.3, p.941-959, 2012.
- COELHO, M.F. Percepção dos impactos ambientais causados pelos dejetos da suinocultura na área do Centro Federal de Educação Tecnológica (CEFET) Rio Pomba/MG [dissertação]. Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006.
- INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Banco de dados meteorológicos, 2023. [Link](#)
- NYACHOTI, M.; KIARIE, E. Water in swine production: a review of its significance and conservation strategies. 24th Manitoba Swine Seminar; 3 - 4 fev 2010; Manitoba, CA, 2010.
- PADILHA, A.C.M. et al. Análise do uso de água tratada na produção de suínos. *Agrotec*, v.34, n.1, p.50-60, 2013.
- PAHL, C.B.C. et al. Microbial contamination of groundwater in a swine fertigation area. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v.23, n.42, p.1-12, 2018.
- PALHARES, J.C.P.; KUNZ, A. Manejo ambiental na avicultura. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. 221 p.
- SOUZA, J.A.R. et al. Variação de nitrogênio e fósforo em solo fertirrigado com efluente do tratamento primário da água residuária da suinocultura. *Ambi-Água*, v.4, n.3, p.111-122, 2009.
- TIECHER, T. (Ed). Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais do Sul do Brasil: Impacto das atividades agropecuárias na contaminação do solo e da água. 1ed. Frederico Westphalen: URI, p.93-106.

Estudo da eficácia da cafeína (metilxantina) em leitões de maternidade avaliada pelo ganho de peso e pelas taxas de mortalidade e de diarreia

Masaio Mizuno Ishizuka*

Study of the efficacy of caffeine (methylxanthine) in farrowing piglets evaluated by weight gain and mortality and diarrhea rates

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

*Correspondência: mizuno@usp.br

Palavras-chave: Cafeína. Ganho de peso. Leitões. Maternidade. Mortalidade.

Introdução

O uso intensivo de antibióticos e o rápido surgimento de microrganismos resistentes a antimicrobianos estão se tornando importantes questões de saúde pública global. Muitas soluções para esses problemas foram propostas, incluindo o desenvolvimento de compostos alternativos como a cafeína (metilxantina), com atividades antimicrobianas (Cowan, 199; Almeida et al., 2006), antivirais (Seo et al., 2021), antifúngicos (Singh, 2018), contra protozoário (Farani et al., 2022), propriedades

antioxidantes (Lee, 2000; Krisko et al., 2005) e imunomodulatório via imunidade inata e adquirida (Van Furth et al., 1995; Labro, 1998; Horrigan et al., 2006; Kovács et al., 2021). Plantas como erva-mate, café e cacau são comprovadamente produtoras de substâncias biologicamente ativas que são metabólitos secundários, entre elas a cafeína (Ma et al., 2018). A cafeína afeta a produção de citocinas, radicais livres e anticorpos, a concentração de leucócitos, o peso dos órgãos do sistema imune, a quimiotaxia de leucócitos, função *natural killer*, liberação de histamina, produção de mieloperoxidase, hipersensibilidade *in vivo* e a apoptose celular (Horrigan et al., 2006). Resultados pioneiros sobre a farmacocinética da cafeína em modelo clínico de cafeína administrada por via oral mostraram níveis plasmáticos 24 horas após o tratamento de $13,77 \pm 0,97 \mu\text{g/mL}$ (Menozzi et al., 2015).

Os objetivos desta pesquisa foram: avaliar a dose eficaz de metilxantina aplicada em reprodutoras imediatamente antes do dia previsto do parto e nos leitões no primeiro dia de vida no controle de diarreia em leitões na fase de maternidade, avaliada pela mortalidade por diarreia; avaliar, em leitões, o peso de leitões na saída da maternidade, mortalidade geral e mortalidade por diarreia na saída da maternidade.

Material e métodos

Para avaliar a dose eficaz de metilxantina aplicada em reprodutoras imediatamente antes do dia previsto do parto e nos leitões no primeiro dia de vida no controle de diarreia em leitões na fase de maternidade, avaliada pela mortalidade por diarreia, cinquenta e duas reprodutoras oriundas de granja GRSC de Santa Catarina e seus respectivos 396 leitões foram divididos em três grupos segundo a dose de metilxantina: A (50 g), B (100 g) e C (150 g). Para cada reprodutora foi administrada a dose de cafeína correspondente ao grupo, por via oral, imediatamente antes da data prevista do parto. Para os leitões, foi administrada cafeína na dose de 1,0 ml por via oral no primeiro dia de vida. Nos leitões foram avaliados o peso na saída da maternidade, mortalidade geral e mortalidade por diarreia na saída da maternidade. As 412 reprodutoras são oriundas de três granjas GRSC que abastecem a maternidade e 5.690 leitões foram divididos em 5 sucessivos lotes. Valores de referência de peso de leitões ao desmame e mortalidade geral foram respectivamente iguais a 5,6 kg e 8,1%, estimados no período de janeiro de 2019 a junho de 2022 na maternidade em estudo. Para cada reprodutora foi

administrada 100g de cafeína, por via oral, imediatamente antes da data prevista do parto. Para leitões, administrou-se 1,0 ml de cafeína por via oral no 1º dia de vida.

Resultados e discussão

Quanto à avaliação da dose eficaz de cafeína em reprodutoras e em leitões recém-nascidos pela mortalidade por diarreia, observou-se mortalidade de 1,6% para o grupo A, 1,55% para o grupo B e 1,5% para o grupo C (Tabela 1). Uma vez que estes resultados se referem à diarreia sem especificação de agente etiológico, é lícito concluir sobre o efeito imunomodulador da metilxantina como referido por Labro (1998).

Quanto aos leitões oriundos de reprodutoras tratadas com 100g de metilxantina por via oral, o peso de leitões na saída da maternidade, mortalidade geral e mortalidade por diarreia na saída da maternidade estão reunidos na Tabela 2. Este resultado permite inferir acerca da eficácia da metilxantina administrada em reprodutoras por via oral na dose de 100g/animal e administrada em leitões recém-nascidos por via oral na dose de 1,0 ml/animal, reduzindo significativamente a taxa de mortalidade por diarreia.

Tabela 1 - Avaliação da dose eficaz de metilxantina aplicada em reprodutoras e em leitões

Grupo experimental	Número de reprodutoras	Número de leitões	Mortalidade por diarreia (%)
A - 50 g/reprodutora e 1 ml/leitão	14	186	1,6 ^b
B - 100 g/reprodutora e 1 ml/leitão	14	178	1,5 ^b
C - 150 g/reprodutora e 1 ml/leitão	14	184	1,5 ^b
Controle (sem metilxantina)	52	750	6,7 ^a

Nota: Letras minúsculas iguais em sobrescrito são estatisticamente iguais e para letras diferentes tem-se $a > b$ ($\alpha = 0,05$).

Tabela 2 - Indicadores de saúde e de produtividade em leitões de maternidade oriundos de reprodutoras tratadas com 100 g de metilxantina segundo a administração de cafeína

Lote N°	Matrizes (n)	Leitões (n)	Indicadores		
			Peso ao desmame (kg)	Mortalidade geral (%)	Mortalidade por diarreia (%)
1	55	722	6,0 ^A ± 1,43	6,1 ^{Ca} ± 0,90	0,4 ^a ± 0,002
2	83	1137	5,9 ^A ± 1,38	8,2 ^{Da} ± 0,81	0,1 ^a ± 0,001
3	95	1357	5,8 ^A ± 1,40	6,1 ^{Ca} ± 0,65	0,2 ^a ± 0,001
4	83	1132	6,0 ^A ± 1,84	6,6 ^{Ba} ± 0,74	0,2 ^a ± 0,002
5	96	1343	6,3 ^A ± 1,55	7,8 ^{Cb} ± 0,73	0,1 ^a ± 0,001
Total	412	5.691	6,0 ^A ± 1,42	7,0 ± 0,77	0,12 ± 0,004

Nota: Letras minúsculas iguais em sobrescrito são estatisticamente iguais e para letras diferentes tem-se $C < B < A$ para probabilidade de erro igual a 0,05 (α).

Nesse sentido, além de sua eficácia pela ação direta sobre o parasito, a cafeína também atua modulando a imunidade inata e adquirida com proliferação de linfócitos (Van Furth et al., 1995; Horrigan et al., 2006; Kovács et al., 2021) e melhorando a microcirculação do órgão afetado (Shekunov et al., 2021). Conseqüentemente, a administração de cafeína por via oral em porcas no dia anterior ao parto foi capaz de melhorar a vitalidade de leitões recém-nascidos (Menozzi et al., 2015) e a administração em leitões apresentou melhores resultados no fisiometabolismo, aumentando ganho de peso ao desmame (Orozco-Gregorio, 2011).

Conclusão

A administração por via oral de metilxantina em reprodutoras no dia que antecede o parto e em leitões no dia do nascimento promoveu aumento do ganho de peso em 22% dos leitões na fase de maternidade, reduziu a mortalidade geral em 14% e a mortalidade decorrente de diarreia foi igual a 0,12%. Estes resultados permitem recomendar o emprego de metilxantina em reprodutoras na forma de pó misturada à ração e em leitões recém-nascidos na forma líquida por via oral.

Referências

ALMEIDA, A.A.L.P. et al. Antibacterial activity of coffee extra extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria. *J. Agric. Food Chem.* v. 54, p. 8738–8743, 2006.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* v. 12, p. 564–582, 1999.

FARANI, P.S.G. et al. A modulação dos níveis de miR-145-5p e miR-146b-5p está ligada à redução da carga parasitária em cardiomioblastos infectados pelo H9C2 *Trypanosoma cruzi*. *Scientific reports*, v. 1, n. 1436, 2022.

HORRIGAN, L.A. et al. Immunomodulatory effects of caffeine: Friend or foe? *Pharmacology & Therapeutics*, v.111, 877-892, 2006.

KOVÁCS, E.G. et al. Caffeine has different immunomodulatory effect on the cytokine expression and NLRP3 inflammasome function in various human macrophage subpopulations. *Nutrients*, v. 13, n. 7, p. 2409, 2021.

KRISKO, A. et al. Effect of caffeine on oxidation susceptibility of human plasma low density lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, v. 355, p. 4753, 2005.

LABRO, M.T. Antibacterial agentes-phagocytes: new concepts for old in immunomodulation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.10, p.11–21, 1998 .

LEE, C. Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. *Clinica Chimica Acta*, v. 295, p. 141-154, 2000.

MA, Y.X. et al. Different catabolism pathways triggered by various methylxanthines in caffeine-tolerant bacterium *Pseudomonas putida* CT25 isolated from tea garden soil. *J. Microbiol. Biotechnol.* v. 28, n. 7, p. 1147-1155, 2018.

MENOZZI, A. et al. Farmacocinética da cafeína oral em porcas: um estudo piloto. *Avaliação de Animais de Grande Porte*, v. 21, n. 5, p. 207-210, 2015.

OROZCO-GREGORIO, H. et al. Efeitos da administração subcutânea de cafeína no perfil fisiometabólico de leitões neonatos de baixo peso. *Animal Production Science*, v. 52, n. 11, p, 981-990, 2011.

SEO, M.H. et al. Efeitos imunomoduladores da pentoxifilina: perfis de dados com base na sinalização celular RAW 2. *Appl. Ciência*, v. 11, n. 17, 2021.

SHEKUNOV, E.V. et al. Plant alkaloids inhibit membrane fusion mediated by calcium and fragments of MERS-CoV and SARS-CoV/SARS-CoV-2 fusion peptides. *Biomedicines*. v. 9, p. 143, 2021.

SINGH. N.K. Estudos in silico de alguns antifúngicos naturais, sintéticos e semi-sintéticos por sua natureza de múltiplos direcionamentos/ in-silico studies of some natural, synthetic and semi-synthetic antifungal drugs for their multi-targeting nature. *J. of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, v. 8, n.1, p.711-716, 2018.

VAN FURTH, A. M. et al. Effect of xanthine derivatives and dexamethasone on *Streptococcus pneumoniae*-stimulated production of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 β and IL-10 by human leukocytes. *Clin Diagn Lab Immunol* 2, 689-692, 1995.

VIEIRA, S. *Bioestatística. Tópicos avançados*. 3 ed. Editora Elsevier, 278 p, 2010.

Resultados sorológicos de suínos vacinados com vacina autógena contra *Streptococcus suis* 9

Mayara de Souza Costa Tamanini*
Ana Paula Mori
Mônica Elizabeth Piranha
Rogério Petri

Serological results of pigs vaccinated with autogenous vaccine against Streptococcus suis 9

Vaxxinova do Brasil, Vargem Grande Paulista, Brasil

*Correspondência: mayara.tamanini@vaxxinova.com.br

Palavras-chave: Leitões. Sorologia. *Streptococcus suis*. Vacinação.

Introdução

Doenças causadas pelo *Streptococcus suis* geram impactos econômicos, sanitários e de bem-estar em suínos (Hatrongjit et al., 2020). São descritos 29 sorotipos de *S. suis* e as cepas mais patogênicas são classificadas nos sorotipos 1 a 9 (Estrada et al., 2019). No Brasil, surtos de infecções por *S. suis* sorotipo 9 são descritos com sinais clínicos que iniciam em torno de 10 dias após o desmame e caracterizados por sinais nervosos e locomotores agudos, com mortalidade de até 18% (Hammerschmitt et al., 2020). Com o desenvolvimento de técnicas de genotipagem, a ampla variedade genética dentro dos sorotipos é clara (Estrada et al., 2019) e a utilização de vacinas autógenas torna-se uma ferramenta interessante para o controle e prevenção de surtos causados pela cepa presente na granja. O objetivo do presente estudo, portanto, foi avaliar a potência sorológica da vacina autógena contra *S. suis* sorotipo 9 a campo.

Material e métodos

Foram avaliados 15 leitões de uma granja comercial, vacinados aos 21 (D0) e 35 dias (D14) de idade, conforme protocolo estabelecido pelo laboratório de vacina autógena. As coletas de sangue ocorreram nos dias 21 (D0), 35 (D14), 49 (D28), 63 (D42) e 77 (D56) dias de idade. Todas as amostras foram enviadas refrigeradas para o laboratório de análises e submetidas à análise sorológica. A detecção do anti-*S.suis* sorotipo 9 (cepa homóloga da vacina) foi realizada por ELISA quantitativo indireto *in house*, conforme protocolo descrito por Guizzo (2022). O ponto de corte do ELISA foi estabelecido como duas vezes o valor médio das densidades ópticas dos controles negativos. A comparação estatística foi realizada por meio do teste ANOVA two-way ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

Os resultados sorológicos mostraram que no D0 os animais apresentavam média de título de IgG de 1:300 contra *S. suis* sorotipo 9. No D14, é possível observar o efeito da primeira dose de vacinação com leve aumento do título de IgG. Os resultados do D28 demonstram que a segunda dose da vacina autógena (reforço - aplicada no D14) gerou um título médio de IgG anti-*S.suis* sorotipo 9 de 1:2300, com diferença significativa em relação ao D0 ($p \leq 0,0084$). Após 14 dias da segunda dose, no D42, é possível notar que o título de IgG continua elevado ($p \leq 0,0126$). Ao final do protocolo de avaliação (D56), nota-se que a média de IgG anti-*S. suis*

sorotipo 9 ainda se mantém em níveis satisfatórios e protetores (Figura 1). A presença de fatores predisponentes contribui para a queda da imunidade e ocorrência de doenças, que normalmente afetam os leitões uma semana após o desmame, quando a imunidade materna passiva declina (Gottschalk e Segura, 2019). A interferência da imunidade passiva pode ser um problema na vacinação de leitões muito jovens, com potencial efeito inibitório dos anticorpos vacinais pelos anticorpos maternos (Gottschalk e Segura, 2019). Estudos demonstram que os títulos de IgG por imunidade passiva são elevados aos sete dias de idade do animal, mas que a partir dos 18 dias de idade há um rápido declínio (Corsaut et al., 2021).

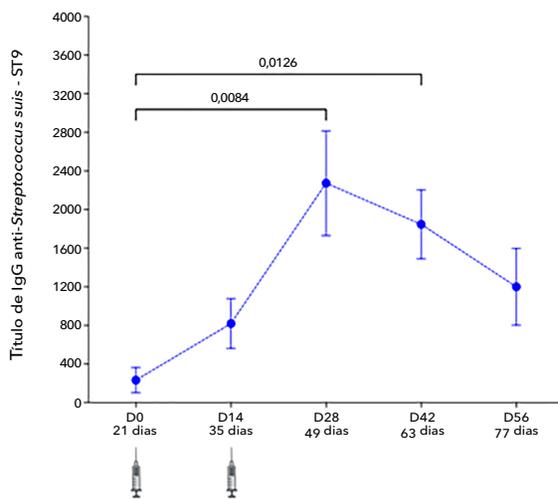


Figura 1 - Título de IgG anti-*Streptococcus suis* sorotipo 9 aos 21 (D0), 35 (D14), 49 (D28), 63 (D42) e 77 dias de idade (D56) com aplicação de vacina autógena aos 21 (D0) e 35 dias de idade (D14).

Conclusão

No presente estudo, a vacinação de leitões aos 21 e 35 dias de idade com vacinas autógenas contra *S. suis* sorotipo 9 gera níveis protetores satisfatórios para o desafio durante o período de creche.

Referências

- CORSAUT, L. et al. Immunogenicity study of a *Streptococcus suis* autogenous vaccine in preparturient sows and evaluation of passive maternal immunity in piglets. *BMC Veterinary Research*, v. 72, 2021.
- ESTRADA, A.A. et al. Serotype and genotype (multilocus sequence type) of *Streptococcus suis* isolates from the United States serve as predictors of pathotype. *Journal of clinical Microbiology*, vol. 57, p. 77, 2019.
- GOTTSCHALK, M.; SEGURA, M. Streptococcosis. In: Zimmermann, J.J.; Karriker, L.A.; Ramirez A.; Schwartz, K.J.; Stevenson, G.W.; Zhang J. (Eds). *Diseases of Swine*. 11 ed. Wiley-Blackwell, Hoboken, p.934-950, 2019.
- GUIZZO, J.A. *Streptococcus equi* subespécie equi: desenvolvimento de um ELISA indireto e avaliação da influência do processamento do antígeno na capacidade protetora de bacterinas [tese]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2022.
- HAMMERSCHMITT, M.E. et al. Clinical and pathological aspects of an outbreak of *Streptococcus suis* serotype 9 infection in pigs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 42, e07004 2020.
- HATRONGJIT, R. et al. Tools for molecular epidemiology of *Streptococcus suis*. *Pathogens*, v.81, p. 2-10, 2020.

Resistência antimicrobiana em isolados clínicos: 10 anos de diagnóstico no Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal

Caroline Pissetti¹
Suzana Satomi Kuchiishi^{1*}
Jalusa Deon Kich²
Lauren Ventura¹

Antimicrobial resistance in clinical isolates: 10-years of diagnostic from Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal

¹ Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal, Concórdia, Brasil

² Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

*Correspondência: suzana@cedisa.org.br

Palavras-chave: Antibiograma. Monitoramento. Suinocultura.

Introdução

O uso de antimicrobianos em animais de produção pode contribuir para a resistência antimicrobiana, representando riscos diretos à saúde, bem-estar animal e, conseqüentemente, à produtividade, uma vez que podem comprometer a eficiência de tratamentos contra infecções bacterianas (ABCS, 2022). Para mitigar estes riscos, recomenda-se a solicitação do teste de suscetibilidade antimicrobiana (TSA), já que a técnica consiste na determinação da eficácia *in vitro* de antimicrobianos frente a uma bactéria isolada a partir da amostra clínica do animal doente. Desta maneira, o objetivo deste trabalho é descrever a frequência de resistência antimicrobiana encontrada em isolados

clínicos entéricos e respiratórios, provenientes do Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal (CEDISA), durante 10 anos, frente aos principais antimicrobianos utilizados na suinocultura.

Material e métodos

Os dados são provenientes da rotina de diagnóstico clínico realizado pelo CEDISA. Foram compilados casos enviados ao setor de microbiologia que apresentaram isolamento de *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App), *Glaesserella parasuis* (Gps), *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* β hemolítica e não hemolítica, e *Salmonella enterica*, e que foram submetidos ao TSA entre os anos 2012 e 2022. Os procedimentos microbiológicos de isolamento e identificação em nível de espécie bacteriana foram realizados usando protocolos internos do laboratório. O TSA foi realizado usando o método de disco-difusão, seguindo os documentos do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018) e *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). A escolha dos antimicrobianos testados ocorreu de acordo com a solicitação do médico veterinário. Os resultados do TSA foram agrupados em três categorias: suscetível, intermediário e resistente, usando pontos de corte clínicos estabelecidos pelo CLSI e EUCAST, sendo reportado neste trabalho apenas os resultados de resistência.

Resultados e discussão

Em relação aos agentes respiratórios, em nove antimicrobianos foi encontrado $\geq 50\%$ de isolados resistentes (Tabela 1). *P. multocida* foi o agente que apresentou as maiores frequências de suscetibilidade, sendo a resistência máxima observada de 22% para tetraciclina. Já Gps apresentou taxas maiores de resistências para as

fluoroquinolonas e sulfonamidas. App apresentou a maior resistência ao florfenicol. Isolados de *S. suis* apresentaram maiores percentuais de resistência perante as principais drogas utilizadas, demonstrando a importância do TSA para auxiliar na tomada de decisão do tratamento a campo. Já as bactérias relacionadas com o sistema entérico apresentaram frequências de resistência maiores, conforme Tabela 2.

Tabela 1 - Frequência de resistência antimicrobiana durante 10 anos em isolados clínicos no Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal (CEDISA) relacionados ao sistema respiratório de suínos

Classe	Antimicrobiano	App (%)	Gps (%)	<i>P. multocida</i> (%)	<i>S. suis</i> (%)
Anfenicois	Florfenicol	77	7	5	43
Cefalosporinas	Ceftiofur	7	15	1	8
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	10	75	2	42
	Enrofloxacina	16	48	4	49
	Norfloxacina	6	35	2	51
	Marbofloxacina	9	30	1	55
Macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas	Tilmicosina	22	13	4	78
	Tulatromicina	28	22	3	89
	Lincomicina + Espectinomícina	11	6	2	36
Penicilinas	Ampicilina	35	17	8	22
	Amoxicilina	34	14	10	23
	Amo + Ácido clavulânico	3	11	0	7
Sulfonamidas	Sulfa + trimetoprim	22	58	1	33
Tetracilinas	Doxiciclina	15	5	3	31
	Oxitetraciclina	46	5	22	88
	Tetraciclina	40	9	14	87

Nota: App = *Actinobacillus pleuropneumoniae* (n = 207); Gps = *Glaesserella parasuis* (n = 277); *Pasteurella multocida* (n = 514); *Streptococcus suis* (n = 753).

Tabela 2 - Frequência de resistência antimicrobiana durante 10 anos em isolados clínicos no Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal (CEDISA) relacionados ao sistema entérico de suínos

Classe	Antimicrobiano	<i>C. perfringens</i> (%)	<i>E. coli</i> β hemolítica (%)	<i>E. coli</i> não hemolítica (%)	<i>S. enterica</i> (%)
Aminoglicosídeos	Gentamicina	Resistência	31	19	58
	Neomicina	intrínseca	36	26	21
Anfenicois	Florfenicol	13	80	66	77
Cefalosporinas	Ceftiofur	15	7	11	5
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	73	46	36	22
	Enrofloxacina	77	57	51	36
	Norfloxacina	78	47	35	15
	Marbofloxacina	68	51	40	24
Sulfonamidas	Sulfa + trimetoprim	95	66	48	25
Tetracilinas	Oxitetraciclina	59	84	82	91
	Tetraciclina	27	84	81	90

Nota: *Clostridium perfringens* (n = 832); *Escherichia coli* β hemolítica (n = 1725) e não hemolítica (n = 3166); *Salmonella enterica* (n = 386).

A menor taxa encontrada foi para ceftiofur, variando entre 5 a 15%. *C. perfringens* e *E. coli* β hemolítica apresentaram altas taxas de resistência perante as fluoroquinolonas e sulfonamidas. Já para a classe de tetraciclina, as bactérias Gram negativas apresentaram uma variação de 81 a 91% de resistência. A resistência encontrada em apenas uma molécula de uma determinada classe também é de extrema importância, uma vez que os medicamentos pertencentes à mesma classe são quimicamente relacionados e estão sujeitos à resistência cruzada (Perichon et al., 2019).

Para evitar falhas no diagnóstico que possam levar ao tratamento incorreto e uso indevido de medicamentos, é de extrema importância a escolha de animais representativos do quadro clínico observado (ABCS, 2022). Apesar da resistência aos antimicrobianos ser um fenômeno natural, em decorrência de eventos genéticos, como mutações ou aquisição de genes de resistência, é comprovado que bactérias expostas ao uso de antibióticos acabam sendo selecionadas ou sofrendo adaptações de forma que as cepas mais resistentes permaneçam viáveis. Por isso, o uso de antimicrobianos na suinocultura baseado em testes, além de promover sua saúde e bem-estar, é essencial para o controle e prevenção da resistência dos microrganismos

aos antibióticos. Além disso, testes complementares para determinar se os agentes têm potencial patogênico devem ser solicitados, e a interpretação destes resultados deve ser em conjunto com o médico veterinário a campo e o laboratório.

Conclusão

Os resultados apresentados demonstram que há resistência nos agentes isolados a partir de amostras clínicas de animais doentes perante as drogas que podem ser utilizadas no tratamento, sendo importante o médico veterinário ter cautela na escolha do tratamento e no uso de antimicrobianos a campo.

Referências

- ABCS. Suinocultura: o uso prudente e eficaz de antibióticos na suinocultura: uma abordagem integrada. Brasília, DF, 2022.
- CLSI. VET01-A4, vol.38, n.13, 2018, and VET08, vol.38, n.14, 2018.
- PÉRICHON, B. et al. Antibiotic resistance. Encyclopedia of Microbiology, Academic Press; 2019. p.127-139.

Inquérito sorológico de patógenos de importância para suinocultura em javalis de vida livre

Serological survey on pathogens of importance for pig farming in free-range wild boar

Leonardo Teófilo Toledo¹
Júnio César Santos¹
André Sittoni Goelzer²
Fabiana Quoos Mayer³
Abelardo Silva-Júnior⁴
Fernanda Simone Marks^{1*}

¹ Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

² Centro Universitário Ritter dos Reis, Porto Alegre, Brasil

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

⁴ Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Brasil

*Correspondência: fernanda.marks@ufv.br

Palavras-chave: *Mycoplasma hyopneumonia*. *Senecavirus A*. Suínos asselvajados.

Introdução

Javalis (*Sus scrofa scrofa*) são considerados animais invasores que causam importantes consequências ecológicas e econômicas, de acordo com o *National Invasive Species Information Center* (NISIC, 2023). Segundo Fonseca et al. (2014), os javalis estão presentes em aproximadamente 20% do Brasil, incluindo os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás e Espírito Santo. Isto indica que esta espécie é encontrada em áreas de suinocultura intensiva, aumentando o risco da transmissão de doenças para os suínos domésticos. Os suínos asselvajados são hospedeiros amplificadores e reservatórios para a introdução e reintrodução de patógenos, o que representa um risco contínuo ao

controle e erradicação de algumas enfermidades (Meier e Ryser, 2018). Um estudo realizado no Rio Grande do Sul evidenciou a presença de suínos asselvajados em propriedades com suínos domésticos de subsistência, por meio de avistamentos, rastros e/ou ataques (Medeiros, 2016). Visto que o contato entre javalis e suínos domésticos é possível, a monitoria de anticorpos contra doenças de importância para suinocultura industrial nestes animais é de suma importância, pois pode evidenciar a circulação de patógenos no ambiente silvestre e sua possível disseminação para animais de produção.

Várias são as enfermidades de importância para suinocultura às quais os javalis são suscetíveis e muitas vezes portadores assintomáticos. Entre elas, podemos destacar *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhyo) e *Senecavirus A* (SVA). Mhyo é um patógeno de distribuição mundial e específico de suínos (*Sus scrofa domesticus*) e javalis (Maes et al., 2008). É o principal agente causador da pneumonia enzoótica suína, doença crônica caracterizada por broncopneumonia que clinicamente se manifesta por tosse seca, atraso no ganho de peso, alta morbidade e baixa mortalidade (Maes et al., 2017), sendo endêmica em rebanhos do Brasil e do mundo. Já SVA está associado a uma doença vesicular de notificação obrigatória, que acomete

suínos de diferentes idades. Não há relatos ou detecção deste agente (ou anticorpos) em suínos asselvajados até o momento. Sua importância, contudo, destaca-se por ser um vírus emergente pertencente à mesma família do vírus da febre aftosa, *Picornaviridae*, que causa lesões vesiculares localizadas em região de focinho, cavidade oral, patas e banda coronária dos suínos (Joshi et al., 2016). Neste contexto, este trabalho tem como objetivo realizar um inquérito sorológico de Mhyo e SVA, dois patógenos de importância para a suinocultura, em javalis de vida livre do Rio Grande do Sul.

Material e métodos

A coleta dos animais deste estudo foi realizada no município de Tupanciretã, estado do Rio Grande do Sul. O abate dos javalis foi realizado por controladores cadastrados e autorizados pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Foram coletadas 50 amostras de sangue em tubo sem anticoagulante. O soro foi separado e congelado para posterior análise. Os animais foram pesados e classificados quanto à idade e sexo. Anticorpos anti-Mhyo (IgG) foram detectados utilizando um kit comercial de ELISA indireto (IDEXX, EUA), com 99,6% de especificidade e 89,4% de sensibilidade. O teste e o cálculo de S/P foram realizados de acordo com as instruções do fabricante, sendo que as amostras com valores de S/P acima de 0,3 foram consideradas positivas. Para a detecção de anticorpos anti-SVA utilizou-se o teste de soroneutralização com células da linhagem NCI-H1299 (carcinoma de pulmão humano) e nas diluições do soro de 1:4 a 1:4096 para titulação. O teste exato de Fisher e a associação com odds ratio (OR), com intervalo de confiança de 95%, foram utilizados para avaliar as diferenças nas variáveis qualitativas entre os grupos (sexo e idade). O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/IPVDF nº 10/13).

Resultados e discussão

Dos 50 animais coletados, 29 eram machos e 21 eram fêmeas, sendo que nove destas estavam prenhas, com número de fetos variando de três a sete. Além disso, 15 foram classificados como jovens e 35 como adultos. Quanto ao peso, os animais tinham entre 12 e 220 kg, sendo uma média de 77,4 kg. Em relação à detecção de anticorpos anti-Mhyo, foi possível observar uma frequência de 28% (14 animais) soropositivos. Já para SVA, somente um animal (macho adulto) apresentou anticorpos contra o vírus, com um título de 16. Quando avaliadas as características dos animais (sexo e idade) como possíveis fatores de risco, observou-se relação significativa entre a idade (adultos) e a

presença de anticorpos contra Mhyo (OR = 9,1; p = 0,03905). Já em relação ao sexo, não houve diferença significativa entre os grupos. A detecção de Mhyo ou de anticorpos contra este agente já foi visualizada em inquéritos realizados no Brasil e em outros países. No Paraná, detectou-se uma soropositividade de 65,9% de javalis de vida livre (Souza et al., 2021). Além disso, pulmões de animais apresentando broncopneumonia foram positivos para Mhyo, demonstrando a presença de lesões associadas à detecção do agente. Já em Santa Catarina, a soroprevalência em animais de vida livre foi menor, 19,7% (Severo et al., 2021). Estudos realizados em outros países também demonstraram a circulação de anticorpos contra Mhyo em javalis, em uma proporção de 19,7% nos EUA (Baroch et al., 2015), 21% na Eslovênia (Vengust et al., 2006) e 30% na Itália (Chiari et al., 2014).

Em suínos domésticos, Baraldi et al. (2019) e Galdeano et al. (2019) demonstraram um aumento da soroprevalência de Mhyo ao longo das fases de produção. Além disso, sabe-se que os anticorpos vacinais alcançam seu pico após a vacinação (desmame) e decrescem ao longo do tempo (Maes et al., 1999), possibilitando inferir que o aumento de soropositivos com a idade está relacionado a infecções naturais. Diante disto, é possível comparar este perfil observado nas criações de suínos com os resultados de maior soropositividade em javalis adultos encontrados no presente estudo. Esta mesma associação com a idade foi observada no estudo de Severo et al. (2021) em javalis de vida livre em Santa Catarina.

Conclusão

Observou-se uma alta frequência de javalis soropositivos para Mhyo, evidenciando uma transmissão ativa deste agente no ciclo silvestre. Além disso, este trabalho investiga de forma inovadora a presença de anticorpos contra SVA em javalis, demonstrando que esses animais também podem atuar como reservatórios desse vírus de importância para suinocultura. Esses achados evidenciam a exposição dos javalis de vida livre ao Mhyo e ao SVA, destacando a importância dessa espécie animal na disseminação desses agentes e na possível contaminação de animais de produção.

Referências

BARALDI, T.G. et al. Antibodies against *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and influenza virus and their relationships with risk factors, clinical signs and lung lesions in pig farms with one-site production systems in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, v.171, p.104748, 2019.

- BAROCH, J.A. et al. Exposure of feral swine (*Sus scrofa*) in the United States to selected pathogens. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v.79, p.74-78, 2015.
- CHIARI, M. et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* temporal trends of infection and pathological effects in wild boar populations. *European Journal of Wildlife Research*, p.60, n.2, p.187-192, 2014.
- FONSECA, C. et al. The wild expansion in Brazil: current status, problems and future perspectives. 10th International Symposium on Wild Boar and other Suids. Velenje, SI, 2014.
- GALDEANO, J.V.B. et al. Cross-sectional study of seropositivity, lung lesions and associated risk factors of the main pathogens of Porcine Respiratory Diseases Complex (PRDC) in Goiás, Brazil. *Porcine Health Management*, v.5, n.1, p.1-10, 2019.
- JOSHI, L.R. et al. Pathogenesis of *Senecavirus A* infection in finishing pigs. *Journal of General Virology*, v.97, p.3267-3279, 2016.
- MAES, D. et al. Effect of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pig herds with an all-in/all-out production system. *Vaccine*, v.17, p.1024-1034, 1999.
- MAES, D. et al. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Veterinary Microbiology*, v.126, n.4, p.297-309, 2008.
- MAES, D. et al. Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: knowledge gaps for improved disease control. *transboundary and emerging diseases*, v.65, p.110-124, 2017.
- MEDEIROS, A.A.R. Distribuição espacial e fatores associados ao contato entre javalis e suínos de subsistência no Rio Grande do Sul [dissertação]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.
- MEIER, R.; RYSER, M.D. Wild boar and infectious diseases: evaluation of the current risk to human and domestic animal health in Switzerland: A review. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, v.160, n.7-8, p.443-460, 2018.
- NISIC - National Invasive Species Information Center [Internet]. 2023. [Link](#)
- SEVERO, D.R.T. et al. Health profile of free-range wild boar (*Sus scrofa*) subpopulations hunted in Santa Catarina State, Brazil. *Transbound Emerging Diseases*, v.68, p.857-869, 2021.
- SOUZA, T.C.G.D. et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* in free-living wild boars in Paraná, Brazil. *Brazilian Journal Microbiology*, v.52, p.1581-1587, 2021.
- VENGUST, G. et al. A serological survey of selected pathogens in wild boar in Slovenia. *Journal of Veterinary Medicine*, v.53, n.1, p.24-27, 2006.

Subtipos e linhagens do vírus Influenza A detectados em suínos no Brasil entre 2009 e 2021

Influenza A virus subtypes and lineages detected in swine in Brazil between 2009 and 2021

Caroline Tochetto¹
Vanessa Haach¹
Danielle Gava¹
Matheus Reis²
Suzana S. Kuchiishi³
Rejane Schaefer^{1*}

¹ Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

² INATA - Laudo Laboratório Avícola LTDA, Uberlândia, Brasil

³ Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal, Concórdia, Brasil

*Correspondência: rejane.schaefer@embrapa.br

Palavras-chave: Diversidade genética. Influenza. RT-qPCR.

Introdução

Surtos de doença respiratória aguda em suínos causados pelo vírus Influenza A (IAV) tornaram-se frequentes no Brasil desde o surgimento do vírus pandêmico H1N1 (pH1N1) em 2009 (Schaefer et al., 2011). Atualmente, uma grande diversidade genética tem sido observada em IAVs de suínos dos subtipos H1N1, H1N2 e H3N2 (Nelson et al., 2015; Tochetto et al., 2023). A caracterização genética dos IAVs é realizada pelo sequenciamento dos genes que codificam as glicoproteínas de superfície, hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA). Recentemente, desenvolveu-se uma RT-qPCR *multiplex* que identifica os diferentes subtipos e linhagens dos IAVs de suínos que circulam no Brasil (Haach et al., 2019). Este trabalho teve como objetivo avaliar a frequência e distribuição dos subtipos e linhagens de IAV em amostras biológicas colhidas de suínos entre 2009 e 2021.

Material e métodos

No período entre 2009 e 2021, o laboratório de Virologia da Embrapa Suínos e Aves recebeu 2.665 amostras de secreção nasal e pulmão ou isolados virais de suínos de granjas comerciais localizadas em oito estados brasileiros (Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Mato Grosso e Espírito Santo). A triagem das amostras positivas para IAV foi realizada por RT-qPCR, que tem como alvo o gene da matriz (Zhang e Harmon, 2020). Em seguida, as amostras positivas por RT-qPCR foram inoculadas em ovos SPF ou em células MDCK (Zhang e Gauger, 2020). Os isolados virais foram avaliados por RT-qPCR para identificação dos subtipos e linhagens de IAV (Haach et al., 2019) e/ou sequenciamento dos genes HA e NA (Junqueira et al., 2023; Tochetto et al., 2023).

Resultados e discussão

Das amostras recebidas, 778 foram positivas para IAV por RT-qPCR e 460 isolados virais foram obtidos. A análise de 353 IAVs identificou os seguintes subtipos e linhagens virais: pH1N1 (34,8%), *human-like* (hu) H3N2 (21,8%), huH1N2 (21,2%) e huH1N1 (1,1%) (Figura 1).

Em 1,1% e 5,1% das amostras foram identificados vírus que sofreram rearranjo gênico, huH1pN1 (N1-pdm) e pH1N2 (H1-pdm), respectivamente. Infecções mistas, isto é, com dois subtipos virais detectados na mesma amostra, foram identificados em 2,8% dos casos a partir de 2010. Em 11,9% das amostras apenas um dos genes foi identificado (HA ou NA). O alto número de amostras com subtipagem parcial em 2020 (23 amostras HxN1 ou HxN2 e 7 amostras H1Nx ou H3Nx) pode estar relacionado com a ocorrência de mutação nos genes HA e NA, o que sugere a necessidade de atualização dos *primers* da RT-qPCR. De 2009 a 2016, o número de amostras subtipadas foi menor (n = 108) e o pH1N1 foi a linhagem viral predominante. A partir de 2017, houve um aumento no número de amostras recebidas das regiões Centro-Oeste e Sudeste em decorrência da ampliação das colheitas realizadas nessas regiões. No mesmo período observou-se um aumento na frequência de detecção das linhagens huH1N2 e huH3N2.

A distribuição das amostras (colhidas de suínos ou recebidas de laboratórios parceiros) por estado e por ano não foi homogênea, o que impede definir a prevalência dos subtipos e linhagens virais (Tabela 1). Os resultados da subtipagem foram confirmados pelo sequenciamento dos isolados virais (Junqueira et al., 2023; Tochetto et al., 2023).

Conclusão

Foram detectados diferentes subtipos e linhagens de IAV (pH1N1, huH1N1, huH1N2 e huH3N2) em suínos de granjas localizadas nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste desde 2009. Após a emergência do vírus pH1N1, houve um aumento da diversidade genética dos IAVs de suínos; novas linhagens virais surgiram, bem como começaram a ser detectados vírus que sofreram rearranjo gênico e a ocorrência de infecções mistas com identificação de dois vírus distintos na mesma amostra.

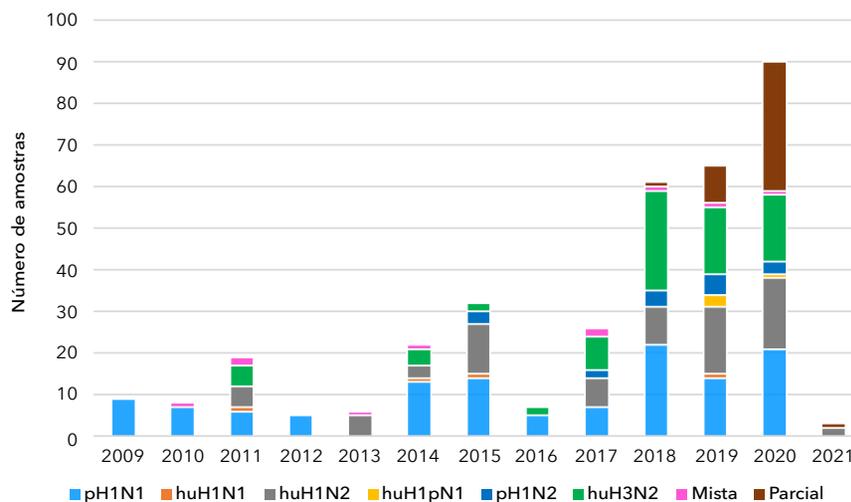


Figura 1 - Subtipos e linhagens de vírus influenza A detectadas em suínos no Brasil entre 2009 e 2021.

Tabela 1 - Subtipos e linhagens de vírus influenza A detectadas em suínos em oito estados brasileiros entre 2009 e 2021

Estado	pH1N1	huH3N2	huH1N2	pH1N2	huH1N1	huH1pN1	Parcial	Mista	Total
Santa Catarina	77	52	43	14	2	1	22	7	218
Paraná	13	8	12	3	1	2	10	1	50
Rio Grande do Sul	25	8	5	1	1	0	2	2	44
Minas Gerais	5	4	11	0	0	1	3	0	24
Mato Grosso do Sul	0	2	3	0	0	0	4	0	9
São Paulo	1	2	1	0	0	0	0	0	4
Mato Grosso	2	1	0	0	0	0	0	0	3

Nota: p = *pandemic*; hu = *human-like*.

Referências

- HAACH, V. et al. One-Step multiplex RT-qPCR for the detection and subtyping of Influenza A virus in swine in Brazil. *Journal of Virological Methods*, v.269, p.43-48, 2019.
- JUNQUEIRA, D.M. et al. Human-to-swine spillover and onward transmission of H1N1pdm09 in Brazil; Embrapa Suínos e Aves: Concórdia, SC, Brasil, 2023; manuscript submitted for publication.
- NELSON, M.I. et al. Influenza A viruses of human origin in swine, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v.21, p.1339-1347, 2015.
- SCHAEFER, R. et al. Isolation and characterization of a pandemic H1N1 influenza virus in pigs in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, p.761-767, 2011.
- TOCHETTO, C. et al. Introductions of human-origin seasonal H3N2, H1N2 and pre-2009 H1N1 influenza viruses to swine in Brazil. *Viruses*, 15, 576, 2023.
- ZHANG, J.; HARMON, K.M. RNA extraction from swine samples and detection of influenza A virus in swine by real-time RT-PCR. *Methods in Molecular Biology*, v. 2123, p. 295-310, 2020.
- ZHANG, J.; GAUGER, P.C. Isolation of swine influenza A virus in cell cultures and embryonated chicken eggs. *Methods in Molecular Biology*, v. 2123, p. 281-294, 2020.

Diversidade do perfil de anticorpos para Influenza A em suínos na fase de creche, crescimento e terminação

Dener Paulo Tres*
Dalvan Carlo Veit
Erico Granado Franco
Kairon Adam Franz
Luiz Henrique Debortoli
Vinicius Fernandes

Diversity of the antibodies profile against Swine Influenza A in pigs in the nursery, growth and finishing phase

Zoetis Inc - Brasil, São Paulo, Brasil

*Correspondência: dener.tres@zoetis.com

Palavras-chave: Pneumonia. Sorologia. Suinocultura.

Introdução

As doenças respiratórias dos suínos são cada vez mais relevantes dentro do sistema de produção, levando à queda no desempenho zootécnico e perdas econômicas (Brombilla et al., 2019). Entre elas, a influenza suína possui grande relevância, principalmente devido ao seu caráter endêmico e de difícil controle. O vírus responsável pela doença clínica nos suínos é o Influenza vírus tipo A, onde seus subtipos virais são classificados de acordo com a combinação de duas glicoproteínas que compõem o envelope viral lipídico, sendo elas a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA), e na atualidade são descritas 18 HA, e 11 NA (Rajão et al., 2019). Além disso, outro fator importante ligado ao vírus da influenza é a sua variabilidade genética, a qual ocorre pelos mecanismos conhecidos como *antigenic drift* e *antigenic shift*, podendo assim

gerar novas estirpes potencialmente patogênicas (Torremorell, 2012; Rajão et al., 2019). Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo determinar o perfil de anticorpos neutralizantes em relação aos diferentes subtipos virais que circulam no Brasil (H1N1 pdm09, H3N2 e H1 delta) em suínos na fase de creche, crescimento e terminação, com foco em enriquecer o nível de informações sobre este constante desafio da suinocultura mundial.

Material e métodos

O trabalho foi realizado durante os anos de 2021 e 2022, onde 87 granjas, de 11 diferentes sistemas de produção localizados nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, que não possuíam em seu protocolo vacinal a imunização contra a influenza, foram selecionadas aleatoriamente para a realização das coletas. Um total de 1.361 suínos foram amostrados por meio de coleta de sangue, sendo 643 na fase de creche e 718 durante a fase de terminação. Após a obtenção do soro das amostras por meio de centrifugação, elas foram encaminhadas ao laboratório sob refrigeração para realização do teste sorológico de inibição da hemaglutinação (HI), segundo a metodologia descrita por Who (2022), para os subtipos H1N1pdm09, H3N2 e H1 delta, sendo os soros que apresentassem títulos ≥ 40 considerados positivos.

Resultados e discussão

Das 87 granjas avaliadas, 86 (98,85%) apresentaram anticorpos para ao menos um subtipo de influenza, demonstrando, portanto, a ampla circulação do vírus em diferentes planteis e diferentes fases. Em um trabalho semelhante avaliando 50 granjas em diferentes estados produtores de suínos no Brasil, também observou-se alta prevalência de anticorpos para influenza, tendo positividade de 94% das granjas avaliadas (Fraíha et al., 2017). Esta alta taxa de rebanhos positivos para influenza suína se deve principalmente a uma das principais características da doença, que é a alta morbidade. Allerson et al. (2013), em um estudo americano avaliando a transmissão do patógeno entre suínos, observou uma taxa de transmissão R0 de 10,4 em animais não imunizados, R0 de 7,1 em suínos vacinados com vacina heteróloga, e R0 de 0,8 nos vacinados com vacina homóloga, mostrando que em rebanhos suscetíveis a influenza apresenta uma alta taxa de transmissão. Em relação à heterogeneidade de anticorpos de acordo com as linhagens virais pesquisadas, é possível observar uma grande variabilidade na ocorrência (Tabela 1), onde em 2021 o principal subtipo envolvido foi o H1N1pdm, sendo encontrados anticorpos somente para este subtipo em 20,95% dos animais coletados em fase de creche, e em conjunto com anticorpos dos subtipos H3N2 e/ou H1N1 delta em 42,74% dos animais na mesma fase. Já na fase de terminação neste mesmo ano, observou-se uma maior positividade de coinfeções, sendo 29,15%

positivos para o H1N1pdm09 e H3N2 e 27,35% para todos os subtipos pesquisados. No ano de 2022, observou-se uma maior representatividade do subtipo H1 delta na fase de creche, com uma positividade de 27,37%, e em participação com os demais subtipos (47,37%). Quando na fase de terminação, observou-se uma maior quantidade de animais negativos quando comparado com o ano de 2021, destacando-se em positividade para anticorpos novamente provenientes do subtipo H1 delta, sendo observados anticorpos somente para este subtipo em 22,42%, e na presença de outros subtipos, 42,02% dos animais coletados. É válido ressaltar a presença significativa de animais com anticorpos para mais de um subtipo de influenza durante todo o período, resultado encontrado também em Chaves et al. (2022), onde por meio de coletas de animais provenientes do Sul e Sudeste brasileiro, a maior prevalência encontrada foi de animais apresentando os três subtipos pesquisados: H1N1pdm09, H3N2 e H1 delta. Outro fato relevante é a grande variabilidade de animais positivos entre fases de produção e subtipos envolvidos. Este achado pode ser explicado, principalmente, por meio dos resultados obtidos por Lara et al. (2020), onde avaliando leitões desde o desmame até o abate, observou-se que o vírus influenza circula de maneira bastante facilitada entre as fases produtivas, com alta variabilidade genética entre granjas, além de o mesmo suíno detectado positivo no RT-PCR por quatro vezes, desde o desmame até o abate, demonstrando que o suíno pode ser suscetível mesmo na presença de anticorpos.

Tabela 1 - Porcentagem de animais positivos no teste de inibição da hemaglutinação para os diferentes subtipos de influenza nas fases de creche, crescimento e terminação em 2021 e 2022

Subtipos virais	2021		2022	
	Creche	Cresc. Terminação	Creche	Cresc. Terminação
H1N1pdm09	20,95%	3,14%	14,74%	11,52%
H3N2	6,42%	3,59%	7,72%	3,84%
H1 delta	9,50%	13,00%	27,37%	22,42%
H1N1pdm09 + H3N2	18,72%	29,15%	11,93%	1,41%
H1N1 pdm09 + H1 delta	7,54%	8,52%	10,53%	6,06%
H3N2 + H1 delta	3,35%	5,38%	5,26%	6,87%
H1N1pdm09 + H3N2 + H1 delta	16,48%	27,35%	4,21%	6,67%
Negativo	17,04%	9,87%	18,25%	41,21%

Conclusão

Os resultados obtidos nos mostram como o vírus influenza está disseminado entre os planteis independente da fase pesquisada, em seus diferentes subtipos virais. Outro ponto importante é a não observação de um subtipo predominante, e sim uma distribuição da positividade entre

os diferentes subtipos, e a grande presença de animais positivos para mais de um subtipo de influenza, sugerindo coinfeções. Sendo assim, fica clara a grande relevância do patógeno na suinocultura, sendo necessário cada vez mais um melhor entendimento de sua dinâmica de infecção por meio de monitorias efetivas, bem como o estudo de medidas preventivas e de controle.

Referências

- ALLERSON, M. et al. The impact of maternally derived immunity on Influenza A virus transmission in neonatal pig populations. *Vaccine*, v.7, p. 500 - 505.
- BROMBILLA, T. et al. Effect of bacterial agents of porcine respiratory disease complex on productive indices and slaughter weight. *Ciência Animal Brasileira*, v.20, 1-11, 2019.
- CHAVES, M, V, P. et al. Occurrence of antibodies against Swine Influenza Virus subtypes in the South and Southeast regions of Brazil in 2021. IPVS 2022 - 26 International Pig Veterinary Society Congress 21 a 24 de junho. Rio de Janeiro - Brasil. 2022.
- FRAIHA, A.L.S et al. Estudos sorológicos dos subtipos do vírus Influenza A suíno circulantes nas regiões sul e sudeste do Brasil no período de 2014 a 2015. XVIII Congresso da Abraves 2017. 17 a 19 de outubro de 2017, Goiania - GO. 2017.
- LARA, A.C. Dinâmica de infecção e controle do vírus Influenza em Granjas de suínos. Tese. Porto Alegre - RS. UFRGS 2022.
- RAJÃO, D.S. et al. Adaptation of human Influenza viruses to swine. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 5, p.347, 2019.
- TORREMORELL, M. et al. Transmission of Influenza A virus in pigs, *transboundary and emerging diseases*, p.68-84, 2012.
- WHO. Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. 2 ed. Geneva: World Health Organization. 99p 2002.

Patotipos de *Escherichia coli* associados a quadros graves de enterite em leitões

Ana Karolina Panneitz¹

Carolina Reck²

Álvaro Menin^{2,3*}

Pathotypes of Escherichia coli associated with severe enteritis in piglets

¹ Laboratório de Medicina de Suínos, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, Brasil

² Departamento de Pesquisa e Inovação, VERTÀ Laboratórios, Curitiba, Brasil

³ Departamento Biociências e Saúde Única, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, Brasil

*Correspondência: alvaro.menin@ufsc.br

Palavras-chave: Adesinas. Toxinas. Virulência.

Introdução

Escherichia coli é o agente etiológico da colibacilose, infecção que cursa com diferentes quadros clínicos em suínos. Em leitões, pode causar diarreia neonatal, diarreia pós-desmame e doença do edema (Menin et al., 2008). As infecções por *E. coli* representam grande impacto econômico para suinocultura devido à alta taxa de morbidade, mortalidade, diminuição de ganho de peso e aumento dos custos tanto com tratamentos quanto com profilaxia (Luppi et al., 2017). A patogenicidade dos isolados pode ser determinada pela presença de fatores de virulência (fímbrias, adesinas e toxinas), que permitem classificar os isolados em patotipos, fundamentais para a compreensão epidemiológica da doença e direcionamento das medidas de controle e prevenção (Barros et al., 2023). Frequentemente, no Brasil, o diagnóstico de colibacilose em suínos ainda é baseado apenas no isolamento de *E. coli*, sem

determinar os fatores de virulência do isolado (Sato et al., 2016), entretanto, essa estratégia de diagnóstico não permite diferenciar isolados potencialmente patogênicos de apatogênicos (microbiota). Variações na frequência dos patotipos detectados, nos diferentes estudos, são comuns e podem estar relacionadas com a localização plasmidial dos genes de virulência, o que permite a fácil transferência desses plasmídeos entre as cepas e, conseqüentemente, a flutuação do padrão genotípico dos isolados ao longo do tempo (Vidotto et al., 2009). O objetivo deste estudo foi determinar os patotipos de *E. coli* associados com quadros graves de enterite em leitões de granjas do sul do Brasil, através da técnica de PCR.

Material e métodos

O processamento microbiológico e a genotipificação pela PCR foram realizadas no VERTÀ Laboratórios. Foram processadas 1.182 amostras de conteúdo intestinal de suínos de diferentes segmentos intestinais de leitões com histórico de quadros graves de enterite (cursando com mortalidade e/ou refugagem) durante o período de 2021- 2023. As amostras foram cultivadas em ágar sangue com 5% (v/v) de sangue ovino e em ágar MacConkey e incubadas 24 horas a 37°C. Posteriormente as colônias foram caracterizadas fenotipicamente e bioquimicamente e encaminhadas para genotipificação para definição do patotipo. A identificação dos patotipos foi realizada conforme descrito por Ngeleka et al. (2003). As amostras foram submetidas a termo extração e à detecção dos genes de virulência codificadores de fímbrias [F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P), F18, F41], adesinas [de aderência difusa (AIDA), intimina

enteroagregativa (EAE), intimina enteroagregativa (Paa)] e toxinas [enterotoxina A (STa) e B (STb), toxina com ação sistêmica vasoativa (Stx ou Shiga Like toxin 1 e 2e), enterotoxina termo-lábil (LT), enterotoxina 1 termoestável de *E. coli* enteroagregativa (EAST1)]. Os amplicons foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 1,5%.

Resultados e discussão

Dos casos graves de enterite em leitões, foram genotipificados 1.182 isolados de *E. coli*, sendo 467 (39,51%) isolados de leitões na fase de maternidade e 715 (60,49%) da fase de creche. Os patótipos mais frequentes foram F4 (K88): STa, STb, LT, EAST1 (30,6%; 143/467) e F4 (K88): STa, STb, EAST1 (23,1%; 108/467) na fase de maternidade e F18: STa, STb, STx2e (26,3%; (188/715) e F4 (K88): STa, STb, LT, EAST1 (22,7%; 162/715) na fase de creche. Os patótipos de acordo com a combinação dos fatores de virulência detectados através da PCR, conforme as fases de criação dos suínos, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Patótipos de *Escherichia coli* isolados (Is.) de casos graves de enterite em leitões nas fases de maternidade (M) e creche (C)

Fase	Patótipos caracterizados	%	Total Is.
M	F4 (K88): STa, STb, LT, EAST1	30,6	143
	F4 (K88): STa, STb, EAST1	23,1	108
	F41: STa	13,3	62
	F6 (987P): STa	9,9	46
	F5 (K99): STa	8,6	40
	AIDA: STa	7,3	34
	Outros patótipos	7,3	34
	Subtotal	100	467
C	F18: STa, STb, STx2e	26,3	188
	F4 (K88): STa, STb, LT, EAST1	22,7	162
	F18: STa, STb, STx2e	18,3	131
	F18: AIDA: STa, STb, LT, EAST1, STx2e	13	93
	F4 (K88): STb, LT, EAST1	10,5	75
	Outros patótipos	9,2	66
	Subtotal	100	715

Na fase de maternidade, a adesina mais prevalente foi o fator fimbrial F4 (K88) (53,7%; 251/467), seguido por F41 (13,3%; 62/467). Os genes codificadores de toxina mais frequentemente detectados nesta fase foram STa (92,8%; 433/467) e STb (53,75%; 251/467). Já na fase de creche, a fímbria mais detectada foi a F18 (57,62%; 412/715), seguida por F4 (K88) (33,15%; 237/715). Quanto às toxinas, o gene mais detectado foi o codificador de STb (90,77%; 649/715) e STa (80,28%; 574/715). O gene da toxina STx2e, ligado à doença do edema, não foi detectado em isolados oriundos

da fase de maternidade e teve prevalência de 57,62% (412/715) na fase de creche. No presente estudo, em casos graves de enterite, não detectou-se nenhum isolado com genes STX1, EAE e Paa. Em trabalho realizado por Sato et al. (2016), com isolados do sul do Brasil, os patótipos mais observados foram F18-STa, F4-LT-STa-STb, F4-STa. Já em trabalho conduzido por Luppi et al. (2017), com isolados europeus, o patótipo mais prevalente foi o F4, STb, LT. Os resultados deste trabalho refletem a importância do monitoramento epidemiológico dos fatores de virulência e a acurácia do diagnóstico, uma vez que possibilita o direcionamento das estratégias imunoprolifáticas, reduzindo assim custos com tratamento, perda de desempenho e morte dos animais, além de favorecer a redução do uso de antimicrobianos na suinocultura.

Conclusão

O presente estudo demonstrou os fatores de virulência detectados em *E. coli* isoladas de casos graves de enterite em leitões nas fases de maternidade e creche. Determinar os patótipos possui grande relevância prática, pois permite orientar as estratégias de profilaxia, o que impacta diretamente a saúde do rebanho e custos produtivos. O correto diagnóstico laboratorial da colibacilose, portanto, deve associar o isolamento e detecção dos fatores de virulência como estratégia de controle e prevenção de enterites graves em leitões.

Referências

- BARROS, M.M. et al. Swine Colibacillosis: global epidemiologic and antimicrobial scenario. *Antibiotics*, v. 12, n. 4, p. 1-19, 2023.
- LUPPI, A. et al. Swine enteric colibacillosis: diagnosis, therapy and antimicrobial resistance. *Porcine Health Manag*, v. 3, n. 16, p. 1 - 18, 2017.
- MENIN, A. 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.
- NGELEKA, M. Et al. Isolation and association of *Escherichia coli* AIDA-I/STb, rather than EAST1 pathotype, with diarrhea in piglets and antibiotic sensitivity of isolates. *J Vet Diagn Invest* v. 15 p. 42-52, 2003.
- SATO, J. P. H. et al. Virulence profiles of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from piglets with post-weaning diarrhea and classification according to fecal consistency. *Pesq. Vet. Bras*, v. 3, n. 4, p. 253-257, 2016.
- VIDOTTO, M.C. et al. Frequency of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from piglets with diarrhea in the North Parana State, Brazil. *Braz. J. Microbiol.* V. 40, p.199-204, 2009.

Imunogenicidade de uma vacina virossomal polivalente para Influenza A em suínos

Vanessa Haach¹
Ana Paula A. Bastos²
Danielle Gava²
Francisco Noé Fonseca²
Marcos A. Z. Morés²
Arlei Coldebella²
Ana Cláudia Franco¹
Rejane Schaefer^{2*}

Immunogenicity of a polyvalent virosomal vaccine for influenza A in swine

¹ Laboratório de Virologia, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

*Correspondência: rejane.schaefer@embrapa.br

Palavras-chave: Imunidade. Influenza. Vacinação.

Introdução

O vírus Influenza A (IAV) causa infecção em aves e mamíferos, incluindo suínos e humanos, e representa risco para a saúde pública devido ao seu potencial para causar pandemias (Vincent et al., 2020). Em suínos, a infecção pelo IAV causa uma doença respiratória aguda e os principais sinais clínicos observados são hipertermia, tosse e anorexia, resultando em redução na ingestão de ração e conseqüentemente redução do ganho de peso. Com isso, a presença do vírus em rebanhos suínos gera prejuízos econômicos pelas perdas diretas e indiretas pelo aumento dos custos com antimicrobianos para controlar as infecções bacterianas secundárias (Rajão et al., 2014). A influenza é endêmica em suínos e linhagens de vírus geneticamente distintas, dos subtipos H1N1, H1N2 e H3N2, circulam em diferentes regiões geográficas (Anderson et al., 2021). A vacinação é importante para o controle da doença em

suínos e para reduzir o risco de emergência de vírus com potencial pandêmico. Contudo a cocirculação de linhagens distintas do IAV, associada à rápida evolução viral, desafia o desenvolvimento de vacinas eficazes. O uso de plataformas vacinais como os virossomas, que são partículas semelhantes a vírus que simulam uma infecção viral, todavia sem conter material genético viral, estimulam a indução de resposta imune humoral e celular eficaz (Wilschut, 2009). Assim, avaliou-se a imunogenicidade de uma vacina para influenza baseada em virossoma contendo subunidades proteicas (hemaglutinina - HA e neuraminidase - NA) dos subtipos H1N1 pandêmico (pdm), H1N2 e H3N2 isolados de suínos.

Material e métodos

Uma vacina virossomal polivalente contendo glicoproteínas (HA e NA) dos vírus H1N1pdm, H1N2 e H3N2 foi desenvolvida e avaliada previamente em camundongos (Fonseca et al., 2023). No presente estudo, 43 suínos SPF com 40 dias de idade foram divididos em 2 grupos: G1 - não vacinados (n = 10), e G2 - vacinados (n = 33). Os suínos do grupo G2 foram vacinados com 1 ml da vacina virossomal por via intramuscular no D0 e D14. Os suínos foram avaliados por 28 dias, sendo que três suínos do grupo G2 permaneceram por 90 dias para avaliação da imunidade de memória. Amostras de sangue e secreção nasal foram colhidas no D0, D14 e D28, e no D60 e D90 dos três suínos remanescentes do grupo G2. A necropsia foi realizada no D28 para G1 e G2, e no D90 para os três suínos do G2, sendo colhidos

baço em meio RPMI, lavado broncoalveolar (BALF), sangue com anticoagulante e, colhidos em paraformaldeído a 4%, pulmão, linfonodo mediastínico, baço, fígado e rim. As amostras de secreção nasal foram avaliadas por RT-qPCR para IAV (Zhang e Harmon, 2020), a fim de garantir que os suínos permaneceram negativos durante o experimento. As amostras de tecidos foram analisadas por coloração de hematoxilina e eosina (H&E) e ensaio de TUNEL, para verificar possíveis lesões e quantificar células apoptóticas, respectivamente. Para a avaliação da imunidade humoral, as amostras de soro foram avaliadas por inibição da hemaglutinação (HI) (Kitikoon et al., 2014) e soroneutralização (SVN) (Gauger e Vincent, 2014), utilizando como antígenos os três vírus vacinais homólogos. O perfil celular (monócitos/macrófagos, granulócitos, células natural killer, linfócitos B e T) foi determinado por citometria de fluxo nas amostras de sangue a partir das células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) e do BALF a partir das células mononucleares do pulmão. Ainda, os esplenócitos obtidos do baço foram marcados com CFSE e estimulados *in vitro* com os três vírus vacinais para a avaliação das populações de macrófagos e de linfócitos B e T por citometria de fluxo. As diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste t de Student bilateral, utilizando o programa SAS, e os dados foram apresentados como *fold change*. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados e discussão

Todas as amostras de secreção nasal foram negativas para IAV, demonstrando que não houve circulação de IAV entre os suínos durante o experimento. Na coloração de H&E, observou-se hiperplasia linfoide folicular em 71,87% dos linfonodos mediastínicos dos suínos do G2, provavelmente devido à proliferação celular induzida pela vacina. Não houve diferença no número de células apoptóticas nos diferentes tecidos entre os suínos do G1 e G2 no ensaio de TUNEL, demonstrando que a vacina não causou citotoxicidade. Todas as amostras de soro dos suínos não vacinados (G1) foram negativas para IAV nos ensaios de HI e SVN. Anticorpos para os três vírus vacinais foram detectados no grupo vacinado (G2) pelo ensaio de HI: 18,75% para H1N1, 46,88% para H1N2 e 100% para H3N2. Anticorpos para H1N2 e H3N2 foram detectados em um dos três suínos vacinados amostrados no D90. Anticorpos neutralizantes foram detectados em todos os suínos (100%) vacinados (G2) pelo ensaio de SVN para H1N1, H1N2 e H3N2. No D90, um dos três suínos do G2 apresentou anticorpos para H1N1 e H1N2 e todos os três suínos apresentaram anticorpos para H3N2. Os anticorpos produzidos contra a HA estão correlacionados com proteção contra a doença clínica e são importantes

para bloquear a entrada do vírus nas células, evitando a infecção (Krammer, 2019). No ensaio de proliferação celular do baço, observou-se alta contagem celular no grupo vacinado (G2) em relação ao não vacinado (G1; $p \leq 0,05$) nos nove subconjuntos de células avaliados: monócitos/macrófagos (macrófago+), linfócitos B (CD79a+SWC7+), linfócitos T auxiliares (CD3e+CD4+), linfócitos T auxiliares efetores (CD3e+CD4+CD25+), linfócitos T auxiliares de memória central (CD3e+CD4+CD27+), linfócitos T citotóxicos (CD3e+CD8 α +), linfócitos T citotóxicos efetores (CD3e+CD8 α +CD25+), linfócitos T citotóxicos de memória central (CD3e+CD8 α +CD27+) e linfócitos T citotóxicos produtores de interferon- γ (CD3e+CD8 α +IFN γ +). Ainda, alta proliferação celular foi detectada nos suínos do grupo G2 no D90, especialmente para linfócitos B e linfócitos T CD4+ e CD8+ de memória central, indicando uma rápida e duradoura resposta celular contra infecções futuras de IAV. A persistência da resposta imune induzida pela vacina nos suínos até os 130 dias de idade foi extremamente relevante, com potencial de proteger os animais da creche até o abate. Nas PBMCs detectou-se alta contagem de monócitos/macrófagos (macrófago+), monócitos/macrófagos ativos (macrófago+SLAI1+), linfócitos B totais (CD79a+), células B convencionais (CD79a+SWC7+CD5+ e CD79a+SWC7+CD5-), linfócitos T citotóxicos (CD3e+CD8 α +), e linfócitos T auxiliares de memória central (CD4+CD27+CD45RA-) no G2 no D28 em comparação ao G1 ($p \leq 0,05$). Nas células do BALF, uma alta contagem de macrófagos alveolares ativos (CSF1R+SLAI1+), monócitos/macrófagos (CD14+CD16+) e células B convencionais (CD79a+CD5+) foi observada no grupo G2 no D28 em comparação ao G1 ($p \leq 0,05$), indicando uma resposta celular de mucosa, mesmo a vacina sendo administrada por via intramuscular. A resposta imune celular contribui para a eliminação do IAV das células infectadas, com as células T CD4+ e CD8+ desempenhando um papel significativo na proteção. As células T CD4+ promovem a produção de anticorpos pelas células B e produzem citocinas antivirais e pró-inflamatórias. As células T CD8+ são cruciais para o reconhecimento e eliminação de células infectadas por vírus (Thomas et al., 2006).

Conclusão

Suínos que receberam duas doses da vacina virossomal para IAV desenvolveram resposta imune humoral e celular robusta para os vírus H1N1pdm, H1N2 e H3N2. A vacina demonstrou potencial para conferir memória imunológica duradoura em suínos até a idade de abate, bem como provou ser segura. A utilização de vacinas virossomais permite flexibilidade para atualização dos antígenos vacinais a fim de refletir a diversidade genética e antigênica dos IAVs circulantes em suínos no Brasil.

Referências

- ANDERSON, T. K. et al. Swine influenza A viruses and the tangled relationship with humans. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 11, n. 3, p. a038737, 2021.
- FONSECA, F. et al. Immunological profile of mice immunized with a polyvalent virosome-based influenza vaccine. Preprint, 2023.
- GAUGER, P. C.; VINCENT, A. L. Serum virus neutralization assay for detection and quantitation of serum-neutralizing antibodies to influenza A virus in swine. *Methods in Molecular Biology*, v. 1161, p. 313-324, 2014.
- KITIKOON, P. et al. Hemagglutinin inhibition assay with swine sera. *Methods in Molecular Biology*, v. 1161, p. 295-301, 2014.
- KRAMMER, F. The human antibody response to influenza A virus infection and vaccination. *Nature Reviews Immunology*, v. 19, n. 6, p. 383-397, 2019.
- RAJÃO, D. S. et al. Pathogenesis and vaccination of influenza A virus in swine. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, v. 385, p. 307-326, 2014.
- THOMAS, P. G. et al. Cell-mediated protection in influenza infection. *Emerging Infectious Diseases*, v. 12, n. 1, p. 48-54, 2006.
- VINCENT, A. L. et al. A brief introduction to influenza A virus in swine. *Methods in Molecular Biology*, v. 2123, p. 249-271, 2020.
- WILSCHUT, J. Influenza vaccines: the virosome concept. *Immunology Letters*, v. 122, n. 2, p. 118-121, 2009.
- ZHANG, J.; HARMON, K. M. RNA extraction from swine samples and detection of influenza A virus in swine by real-time RT-PCR. *Methods in Molecular Biology*, v. 2123, p. 295-310, 2020.

Endocardite por *Streptococcus suis*: relato de caso

*Endocarditis by
Streptococcus suis:
case report*

Nathasha Noronha Arechavaleta¹
Gabriela Merker Breyer¹
David Driemeier²
Franciele Maboni Siqueira^{1*}

¹ Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

*Correspondência: franciele.siqueira@ufrgs.br

Palavras-chave: Endocardite bacteriana. Suínos. Úlcera.

Introdução

A carne suína é a mais consumida no mundo e o Brasil se mantém como o 4º maior produtor mundial desta proteína, totalizando 4,98 milhões de toneladas produzidas em 2022 (ABPA, 2023). O aumento da demanda de exportação motiva a implementação de sistemas de produção cada vez mais intensivos, caracterizada pela alta densidade de animais. Em consequência da superpopulação de animais, associada a fatores de estresse, tem-se um aumento da disseminação de afecções causada por micro-organismos patogênicos (Piva et al., 2020), sendo as doenças bacterianas as principais causas de morte ou de eutanásia na suinocultura (Brum et al., 2013). Entre os microrganismos patogênicos, o *Streptococcus suis* está entre os dez principais de importância clínica em suínos (VanderWaal e Deen, 2018). É uma bactéria cocobacilo, gram-positiva, hemolítica e anaeróbica fa-cultativa, que habita o trato respiratório superior e intestino de suínos e pode causar broncopneumonia, meningite, artrite, pericardite, endocardite, poliserosite fibrinosa, rinite, aborto e septicemia. Em humanos, pode causar meningite e choque séptico, sendo considerado um risco a saúde pública (Gottschalk et al., 2001; Pagnani

et al., 2002; Magalhães et al., 2021). Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo descrever um caso de suíno em fase de terminação que apresentava lesões compatíveis com úlcera gástrica e endocardite bacteriana.

Material e métodos

Um suíno sem raça definida, macho, em terminação, representando um rebanho com ocorrência de úlceras gástricas foi eutanasiado e necropsiado. Durante a necropsia foram observadas lesões macroscópicas em diversos órgãos, incluindo lesões de úlceras gástricas e endocardite, e foram coletadas amostras do coração, estômago, fígado, linfonodo e outros órgãos. Os fragmentos foram fixados em solução de formalina a 10% e, posteriormente, as lâminas histológicas foram preparadas e coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). A amostra de tecido cardíaco colhida assepticamente foi encaminhada para análise microbiológica. A amostra foi preparada e semeada por esgotamento em ágar MacConkey e em ágar sangue ovino 5%. Os cultivos foram incubados em aerobiose, a 37°C, por 48h. Outros testes foram realizados, como coloração de Gram, teste de catalase, cultivo em meio seletivo ágar bile esculina. Posteriormente, a identificação do agente etiológico foi confirmada por espectrometria de massa, pelo método MALDI-TOF. O diagnóstico foi concluído a partir das observações das lesões macroscópicas e microscópicas e identificação microbiológica.

Resultados e discussão

No exame macroscópico, o coração apresentou formação nodular vegetante amarelada em valva. No estômago foram observadas áreas focalmente extensas de erosão da mucosa, em quadrilátero esofágico. Na análise histológica, os tecidos valvular e miocárdio apresentaram proliferação do tecido conjuntivo fibrovascular, marcado por infiltrado de neutrófilos, deposição de fibrina, hemorragia, restos celulares e numerosos agregados bacterianos cocoides. No quadrilátero esofágico, observou-se área focalmente extensa de ulceração da mucosa, acometendo a porção aglandular do estômago até a submucosa, com abundante infiltrado inflamatório composto por neutrófilos, eosinófilos, histiócitos e debris celulares. No fígado, em regiões centrolobulares, observou-se leve congestão multifocal. O cultivo bacteriológico do fragmento cardíaco evidenciou crescimento bacteriano, em ágar sangue, de colônias pequenas e acinzentadas, textura cremosa e não hemolíticas; cocos gram-negativas, catalase negativa. No meio ágar MacConkey, não houve crescimento. No crescimento em ágar bile esculina, não houve alteração de coloração do meio, caracterizando resultado negativo para *Streptococcus* grupo D e *Enterococcus*. A bactéria foi identificada como *Streptococcus suis* por MALDI-TOF. As lesões macroscópicas observadas em necropsia e histopatologia são compatíveis com diagnóstico de endocardite bacteriana e gastrite ulcerativa necrosante.

Conclusão

A realização de diagnóstico laboratorial para detecção de doenças em animais de produção é de grande importância, tendo em vista que infecções como as causadas por *S. suis* possuem potencial zoonótico, implicando em risco à saúde pública. Destaca-se que, além disso, a identificação do agente etiológico possibilita eficaz controle e prevenção a nível de rebanho.

Referências

- ABPA. Relatório anual 2023. Associação Brasileira de Proteína Animal, p. 70-89, 2023.
- BRUM, J.S. et al. Características e frequência das doenças de suínos na Região Central do Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, p.1208-1214, 2013.
- GOTTSCHALK, M. et al. L'infection à *Streptococcus suis* chez le porc. Journée de la recherche porcine en France, v. 33, p.269-276, 2001.
- MAGALHÃES, M.I. et al. Orquite por *Streptococcus suis* em suíno - relato de caso. Revista Unimar Ciência, 2021.
- PAGNANI, K.J. et al. Sorotipagem de amostras de *Streptococcus suis* isoladas de suínos em granjas dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 22, p. 1-5, 2002.
- PIVA, M.M. et al. Causas da morte de suínos de crescimento e terminação em duas granjas tecnificadas no Sul do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.40, n. 10, p. 758-775, 2020.
- VANDERWAAL, K; DEEN, J. Global trends in infectious diseases of swine. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, p. 115, 2018.

Perfil do bacterioma pulmonar de suínos ao abate

Swine lung bacteriome at slaughter

Luiza de Campos Menetrier¹

Karine Ludwig Takeuti²

Gabriela Merker Breyer¹

Larissa Caló Zitelli¹

Franciele Maboni Siqueira^{1*}

¹ Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Faculdade de Veterinária, Universidade Feevale, Campo Bom, Brasil

*Correspondência: franciele.siqueira@ufrgs.br

Palavras-chave: Bacterioma. Diversidade bacteriana. Lesões pulmonares. Trato respiratório.

há evidências de que infecções respiratórias levam a uma modificação, que pode ser permanente ou temporária, na diversidade e composição da microbiota respiratória em suínos. O papel do bacterioma do trato respiratório de suínos, bem como as influências da doença respiratória sobre ele, ainda não foi estabelecido. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil do bacterioma em pulmões de suínos de acordo com a presença ou ausência macroscópica de lesão pulmonar ao abate.

Introdução

O Brasil é o quarto maior produtor de carne suína do mundo. No ano de 2022 atingiu índice de 12% do volume de exportações de carne suína, e as projeções são que este número cresça ainda mais em 2023 (Miele e Martins, 2022). Neste contexto de expansão, um dos maiores obstáculos para suinocultura é a ocorrência de doenças respiratórias, que levam a grandes perdas econômicas (Siqueira et al., 2017). A doença respiratória em suínos pode ser causada por vírus e bactérias, e sua etiologia é complexa, pois está também relacionada a questões imunológicas, ambientais e do próprio indivíduo. Alguns agentes bacterianos são reconhecidos como causadores desta patologia, porém espera-se que muitos agentes ainda não identificados pelos métodos convencionais estejam também envolvidos nestes quadros (Zang et al., 2020).

Com o intuito de aumentar o entendimento sobre a patogenia de doenças respiratórias e revelar novas formas de prevenção, a microbiota suína é cada vez mais estudada. É sabido que a microbiota influencia o sistema imune do hospedeiro, tanto de forma local como sistêmica (Sonalio et al., 2022). Além disso,

Material e métodos

Pulmões de suínos com idade entre 174 e 184 dias de vida, com presença de lesões macroscópicas de pneumonia (4 animais) e pulmões sem lesões visíveis (4 animais), foram selecionados em um frigorífico de inspeção federal. Os fragmentos pulmonares foram refrigerados e tiveram o DNA bacteriano total extraído através de kit comercial (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit). A concentração e a qualidade do DNA foram medidas através de fluorômetro Qubit 2.0 (Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, EUA) e Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA), respectivamente. Posteriormente, a região V4 do DNA ribossomal 16S (rDNA) de cada amostra foi amplificada utilizando *primers* universais. O sequenciamento de cada *amplicon* gerado foi realizado na plataforma Illumina MiSeq. As *reads* geradas foram filtradas por qualidade de base através do software FastQC (versão 0.11.4), sendo a profundidade do sequenciamento avaliada usando curvas de rarefação no Quantitative Insights

into Microsoft R Bioconductor v. 2 (QIIME2), enquanto a atribuição de taxonomia foi realizada utilizando a base de dados SILVA-138-99-nb-classifier.qza (SILVA database 138 SSU). A análise dos dados foi realizada por meio do software R (versão 4.1.1). A diversidade alfa (índice de Shannon e Observed ASVs) foi estimada pelo teste de Wilcoxon e as diferenças multivariadas, de acordo com a presença e ausência de lesão pulmonar, foram comparadas através de análise de coordenadas principais (PCoA) pelo método de Bray Curtis.

Resultados e discussão

A alfa diversidade foi mapeada por meio dos testes de Shannon e Observed ASVs para avaliar a diversidade e riqueza de composição bacteriana em cada amostra. Entre as amostras testadas, não identificou-se diferença significativa entre a composição bacteriana do grupo com e sem lesão pulmonar, resultado que condiz com estudos prévios (Wang et al., 2018; Almeida et al., 2022; Rampelotto et al., 2022). Ademais, a análise de PCoA não demonstrou segregação entre os grupos com e sem lesão pulmonar, indicando que a composição bacteriana não é influenciada pela existência de lesões macroscópicas.

Entre todas as amostras, os filos Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidota foram os mais abundantes. Em relação aos gêneros bacterianos, os mais predominantes em animais com lesão no pulmão ao abate foram: *Mycoplasma*, *Actinobacillus*, *Kingella*, *Prevotella* e *Clostridium sensu stricto* 1. Entre os animais que não apresentaram lesão pulmonar, os gêneros mais predominantes foram: *Actinobacillus*, *Mycoplasma*, *Kingella*, *Clostridium sensu stricto* 1 e *Anaerovibrio*. No entanto não houve diferença significativa entre a abundância dos dez gêneros mais identificados em animais com e sem lesão pulmonar. Com base nos dados obtidos com as amostras testadas, pode-se inferir que a microbiota pulmonar dos animais testados, estabelecida durante o ciclo de vida do animal, mantém-se até o momento do abate, mesmo que com lesões pulmonares aparentes.

Conclusão

Os resultados obtidos com estas análises indicam que as lesões pulmonares macroscópicas, ao abate, parecem não alterar a microbiota pulmonar bacteriana dos suínos testados neste estudo. Destaca-se que os resultados podem estar sendo influenciados pelo baixo número amostral.

Referências

- ALMEIDA, H.M.S. et al. Experimental Infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* strain 232 in swine influences the lower respiratory microbiota. *Veterinary Sciences*, v.9, n.12, p.674, 2022.
- MIELE, M.; MARTINS, F. M. Anuário 2023 da Suinocultura Industrial, v. 309, n. 6, p. 20-27, 2022.
- RAMPELOTTO, P.H. et al. Comparative analysis of the upper respiratory bacterial communities of pigs with or without respiratory clinical signs: from weaning to finishing phase. *Biology*, v.1111, n.11, 2022.
- SIQUEIRA, F.M. et al. Microbiome overview in swine lungs. *PLoS ONE*, v.12, n.7, p.1-12, 2017.
- SONALIO, K. et al. Influence of *Mycoplasma hyopneumoniae* natural infection on the respiratory microbiome diversity of finishing pigs. *Veterinary Research*, v.53, n.23, p.1-12, 2022.
- WANG, Q. et al. Comparison of oropharyngeal microbiota in healthy piglets and piglets with respiratory disease. *Frontiers in Microbiology*, v.9, 2018.
- ZANG, J. et al. Effects of respiratory disease on Kele piglets lung microbiome, assessed through 16S rRNA sequencing. *Veterinary World*, v.13, n.9, 1970-1981, 2020.

Qual o impacto da infecção por *Mycoplasma hyopneumoniae* na performance reprodutiva de fêmeas suínas ao primeiro parto?

Luciano Brandalise^{1*}
Danielle Fermo¹
Ygor Nagano¹
Maria Clavijo^{2,3}
Gustavo Simão¹
Rudy Pigozzo¹
Kellem do Carmo¹
João Victor Fachini Rodrigues¹
Rosiel Cavalcante Filho¹
Karine Ludwig Takeuti⁴

What is the impact of Mycoplasma hyopneumoniae infection on the reproductive performance of sows at first farrowing?

¹ Agroceres PIC, Rio Claro, Brasil

² Iowa State University (ISU), Ames, USA

³ PIC North America, Hendersonville, USA

⁴ Universidade Feevale, Novo Hamburgo, Brasil

*Correspondência: luciano.brandalise@agroceres.com

Palavras-chave: Aclimação. PCR. Perdas reprodutivas.

Introdução

Mycoplasma hyopneumoniae é o agente etiológico da pneumonia enzoótica, a qual ocasiona importantes perdas econômicas na suinocultura mundial (Maes et al., 2018). Considerado um agente-chave no complexo de doenças respiratórias de suínos (CDRS), age predispondo e/ou potencializando a ação de agentes secundários (Thacker e Minion, 2012). A disseminação da bactéria ocorre principalmente através do contato

direto entre suínos infectados e suscetíveis (Fano et al., 2005). Nesse sentido, leitoas e matrizes de baixa ordem de parto atuam como fonte principal de manutenção do agente nos rebanhos através da transmissão para os leitões durante a lactação (Pieters et al., 2014). Portanto, para reduzir as subpopulações de animais suscetíveis no rebanho, protocolos de aclimação de leitoas podem ser realizados para minimizar a excreção do patógeno durante o período lactacional, reduzindo a possibilidade de transmissão para a progênie (Garza-Moreno et al., 2019). Embora diversos estudos elucidem a dinâmica de infecção de *M. hyopneumoniae* em planteis reprodutivos (Pieters et al., 2014; Takeuti et al., 2017a) e as perdas em índices produtivos devido à transmissão do agente para a progênie (Marois et al., 2021), são inexistentes as informações quanto ao impacto da infecção por *M. hyopneumoniae* sobre a performance reprodutiva de matrizes suínas. O objetivo deste trabalho, portanto, foi verificar se a detecção de *M. hyopneumoniae* por PCR no momento da cobertura de leitoas teria algum efeito sobre seu desempenho reprodutivo ao primeiro parto.

Material e métodos

O estudo foi conduzido em onze granjas comerciais de produção de leitões, distribuídas em cinco estados brasileiros. Nestas propriedades, a reposição de leitoas era realizada com animais de origem externa,

sorologicamente negativas para *M. hyopneumoniae* e com 150 dias de vida no momento do alojamento. Um total de 315 leitões foi selecionado no momento da primeira cobertura e suabe laríngeo foi coletado para detecção de *M. hyopneumoniae* por PCR. As amostras foram consideradas positivas quando $Ct \leq 38,5$, seguindo a metodologia descrita por Dubosson et al. (2004). O número de nascidos totais (NT) e nascidos vivos (NV) destas matrizes foi coletado ao primeiro parto e para comparação das médias utilizou-se o teste de Tukey-Kramer. Foram consideradas diferenças significativas se $p \leq 0,05$. Os resultados produtivos foram transcritos com exposição da média (LSmeans) \pm erro padrão, de acordo com o tipo de cada variável.

Resultados e discussão

Observou-se que leitões positivos para *M. hyopneumoniae* por PCR no momento da cobertura apresentaram redução de 1,2 NT e 1,0 NV ao primeiro parto (Tabela 1; $p = 0,03$ e $0,05$, respectivamente).

Tabela 1 - Nascidos vivos e totais de fêmeas detectadas negativas ou positivas para *Mycoplasma hyopneumoniae* por PCR no momento da cobertura

Item ¹	Detecção ²		Valor-p ³
	Negativa	Positiva	
Fêmeas, n	112	203	-
Nascidos totais, n ⁴	15,6 \pm 0,41	14,4 \pm 0,29	0,03
Nascidos vivos, n ⁴	14,6 \pm 0,40	13,6 \pm 0,29	0,05

Nota: ¹Item, número de fêmeas avaliadas, nascidos totais e nascidos vivos. ²Detecção, fêmeas positivas ou negativas para *Mycoplasma hyopneumoniae* por PCR. ³Análise com uso de software SAS v. SAS OnDemand for Academics, Procedimento GLIMMIX, modelo misto com status de contaminação como efeito fixo e granja como efeito aleatório. Distribuição Poisson, desconsiderou-se erro do tipo I para valores de $p < 0,05$. ⁴Erro padrão da média de LSmeans para cada grupo analisado.

Por ser um agente presente de forma endêmica na grande maioria das granjas brasileiras e mundiais, esse resultado é de extrema relevância para a suinocultura, visto que até o presente momento não haviam sido descritos os efeitos da infecção por esse agente respiratório sobre o desempenho reprodutivo. Perdas reprodutivas associadas a um agente respiratório viral foram relacionadas à sintomatologia de febre ocasionada em função do quadro infeccioso (Janke, 2000). Os achados reforçam ainda mais

a importância de protocolos efetivos de aclimação de leitões, devendo iniciar o mais rápido possível após o alojamento, reduzindo a probabilidade de apresentar um quadro infeccioso no momento da cobertura. Independente da origem das leitões, estas devem se adaptar à microbiota da granja de destino uma vez que as variantes de *M. hyopneumoniae* podem ser exclusivas de cada granja (Takeuti et al., 2017b), não havendo imunidade cruzada entre cepas de diferentes graus de patogenicidade (Villarreal et al., 2009). A vantagem na introdução de leitões de origem negativa é a garantia de que o plantel reprodutivo da granja de destino não irá se expor a alguma variante exótica, o que poderia desestabilizar sanitariamente a granja, comprometendo a saúde e a performance reprodutiva do plantel.

Conclusão

O presente estudo trouxe resultados significativos quanto aos efeitos da infecção por *M. hyopneumoniae*, uma vez que ainda não haviam sido descritos os impactos negativos que poderiam ser causados pela infecção pelo agente na performance reprodutiva de matrizes suínas. Como perspectivas futuras, faz-se necessário o estudo dos possíveis mecanismos de ação do patógeno do ponto de vista reprodutivo.

Referências

- FANO, E. et al. Dynamics and persistence of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 69, p. 223-228, 2005.
- GARZA-MORENO, L. et al. Comparison of vaccination protocols against *Mycoplasma hyopneumoniae* during the gilt acclimation period. *Veterinary Microbiology*, v. 229, p. 7-13, 2019.
- JANKE, B. H. Diagnosis of swine influenza. *Journal of Swine Health and Production*, v. 8, n. 2, p. 79-84, 2000.
- MAES, D. et al. Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: knowledge gaps for improved disease control. *Transbound Emerging Disease*, v. 65(Suppl.1), p. 110-124, 2018.
- MAROIS, C. et al. Interactions of *Mycoplasma hyopneumoniae* with other pathogens and economic impact. In: Maes, D. et al. (Eds.). *Mycoplasmosis in Swine*. Leuven, BE: Acco Publishers, cap. 7, p. 127 - 145, 2021.
- PIETERS, M. et al. Intra-farm risk factors for *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization at weaning age. *Veterinary Microbiology*, v. 172, p. 575-580, 2014.
- TAKEUTI, K.L. et al. Infection dynamics and genetic variability of *Mycoplasma hyopneumoniae* in self-replacement gilts. *Veterinary Microbiology*, v.208, p.18-24, 2017a.

TAKEUTI, K.L. et al. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in naturally infected gilts over time. *Veterinary Microbiology*, v. 203, 215-220, 2017b.

THACKER, E.L.; MINION, F.C. Mycoplasmosis. In: Zimmerman, J.J. et al. (Eds.). *Diseases of Swine*. Wiley-Blackwell Publishing, Ames, IA p. 1012, 2012.

VILLARREAL, I. et al. Infection with a low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolate does not protect piglets against subsequent infection with a highly virulent *M. hyopneumoniae* isolate. *Vaccine*, v. 27, p. 1875-1879, 2009.

Diagnóstico molecular e histopatológico de falhas reprodutivas

Daniela Bruna Ferrandin*
Tatiana Carolina G. Dutra de Souza

Molecular and histopathological diagnosis of reproductive failures

Hipra Saúde Animal, Porto Alegre, Brasil

*Correspondência: daniela.ferrandin@hipra.com

Palavras-chave: Aborto. Circovirose. Mumificado.

Introdução

Na suinocultura, aspectos relacionados à eficiência reprodutiva são fundamentais, pois determinam o desempenho econômico trazido pelo número de leitões desmamados ao ano. Entre os fatores reprodutivos que influenciam este indicador, destacam-se o número de ovulações, a taxa de fecundação e as perdas gestacionais (Gava e Wentz, 2012). As principais perdas gestacionais relacionadas à mortalidade embrionária e fetal são reabsorção embrionária, mumificação fetal, aborto e natimortalidade fetal pré-parto (Barcellos e Guedes, 2012). Agentes etiológicos como parvovírus suíno, leptospiras patogênicas para os suínos e circovírus suíno tipo 2 e 3 têm sido frequentemente associados a falhas reprodutivas (Kim et al., 2006; Molossi et al., 2022b; Segalés et al., 2022). Desta forma, o objetivo deste estudo foi diagnosticar e correlacionar as causas infecciosas de perdas reprodutivas acompanhadas pela equipe técnica da Hipra Saúde Animal.

Material e métodos

Foram analisados 151 fetos de perdas reprodutivas ocorridas entre julho de 2021 e abril de 2023 de 25 granjas brasileiras. O material foi inicialmente identifi-

cado de acordo com a perda reprodutiva observada, sendo aborto, fetos mumificados, natimortos ou leitões de baixa viabilidade com malformações caracterizados como “dumbos”. Posteriormente, foram enviados congelados ao Setor de Patologia Veterinária FAVET UFRGS (Porto Alegre) e individualmente necropsiados para análise histopatológica de lesões de circovírus suíno tipo 3. Durante a necropsia, coletou-se macerado de órgãos abdominais posteriormente submetidos à análise de PCR (reação em cadeia polimerase) no DIAGNOS (Porto Alegre, Brasil), sendo testados para *Leptospiras* spp., parvovírus suíno e circovírus suíno tipo 2. Os dados foram compilados e submetidos à análise descritiva e de correlação.

Resultados e discussão

As maiores causas de perdas reprodutivas analisadas foram mumificação (54%), natimortalidade (25%), aborto (20%) e malformação fetal (1%). A maior causa diagnosticada para mumificação fetal foi PCV3 (38%) associada ou não a PCV2 (34,5%), e apenas 2,5% dos fetos mumificados foram positivos para parvovírus suíno. Madson e Patterson (2009) também relatam o envolvimento de circovírus suíno tipo 2 e 3 como agentes etiológicos relevantes para a ocorrência de mumificação fetal. Ao analisar causas de natimortalidade, 55% dos fetos apresentaram lesão de PCV3 e 30% foram positivos para PCV2. Já nas causas de aborto, a maior prevalência foi associada ao PCV2 (67%), seguida por PCV3 (33%) e 3% apenas relacionado à leptospirose. Brunborg e Jonassen (2007) e Molossi et al. (2022b) associam o envolvimento de PCV2 e PCV3 em abortamentos tardios, mumificação fetal e natimortalidade.

Todos os leitões classificados como "Dumbo" apresentaram lesões de PCV3 e foram positivos para PCV2. Molossi et al. (2022a) encontraram as mesmas lesões de PCV3 em leitões com essas características, os quais apresentam mortalidade entre o 1º e 5º dia após o parto. Todas as amostras positivas para PCV2, independente da perda reprodutiva, apresentavam lesão de PCV3, e fetos que não apresentavam lesão de PCV3 também foram negativos para PCV2. Ao analisar a prevalência em plantel acometido com falhas reprodutivas, 100% das granjas apresentavam alguma falha associada a lesões de PCV3 e 56% foram positivas para PCV2. Ao considerar a ordem de parto, 78% das amostras positivas para PCV2 eram de primíparas, podendo estar associado ao fato de haver subpopulações de fêmeas mais jovens soronegativas para PCV2 (Togashi et al., 2011).

Conclusão

O presente trabalho confirma o envolvimento de PCV2 e PCV3, associados ou não, como importantes agentes etiológicos de perdas reprodutivas atuais. Deste modo é importante realizar o diagnóstico e buscar medidas de controle dessas enfermidades, posicionando-as com o objetivo de controlar problemas reprodutivos, principalmente focados na preparação de leitoas, pois as primíparas foram a categoria de fêmeas com maior incidência de falhas reprodutivas provocadas por esses agentes.

Referências

BARCELLOS, D.; GUEDES, R. Doenças de suínos. 3ª edição. Porto Alegre - RS. Gráfica HRosa. p. 627-663, 2022.

BRUNBORG, C. et al. Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case of study. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. v. 19, n. 4, p. 368-375, 2007.

GAVA, D.; WENTZ, I. Perfil imunológico do parvovírus suíno frente a diferentes desafios sanitários. VII SINSUI - Simpósio Internacional de Suinocultura; 15 a 18 de maio de 2012; Porto Alegre-RS; 2012.

KIM J., ET AL. Potentiation of porcine circovirus 2-induced postweaning multisystemic wasting syndrome by porcine parvovirus is associated with excessive production of tumor necrosis factor- α . *Veterinary pathology*. v. 43, n. 5, p. 718-725, 2006.

MADSON, A.R. et al. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Veterinary pathology*. v. 46, n. 4, p. 707-716, 2009.

MOLOSSI, F. A. et al. A putative PCV3-associated disease in piglets from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. v.53, p.491-498, 2022a.

Molossi, F. A. et al. PCV3-associated reproductive failure in pig herds in Brazil. *Tropical Animal Health and Production*. v.54, n.5, p.293, 2022b.

Segalés J.; Sibila, M. Revisiting porcine circovirus disease diagnostic criteria in the current porcine circovirus 2 epidemiological context. *Veterinary Sciences*. v. 9, n. 3, p. 110, 2022.

Togashi, T. et al. Reproductive losses associated with porcine circovirus type 2 in a Japanese herd of seronegative sows. *Journal of Veterinary Medical Science*. v. 73, n. 7, p. 941-944, 2011

Diversidade de fatores de virulência de cepas de *Pasteurella multocida* isoladas de suínos doentes provenientes de uma fazenda no estado de São Paulo

Manuela Maria Cavalcante Granja
Thaís Viana Fialho Martins
Jefferson Viktor de Paula B. Baêta
Gabriela Pereira Paschoalini
Luiz Gustavo Peroni
Lucas dos Santos
Daniel Lúcio dos Santos*
Walter Guimarães
José Lúcio dos Santos

Diversity of virulence factors of Pasteurella multocida strains isolated from diseased pigs from a farm in the state of São Paulo

MICROVET - Microbiologia Veterinária Especial, Viçosa, Brasil

*Correspondência: daniel@microvet.com.br

Palavras-chave: Pasteurelose. Patogenicidade. Suinocultura.

Introdução

Pasteurella multocida habita normalmente o trato respiratório de animais sadios (Furian et al., 2016); no entanto, é um patógeno que pode estar associado a diversas síndromes respiratórias que podem afetar uma variedade de espécies de hospedeiros (Wilkie et al., 2012). No caso de suínos, é observada a rinite atrófica progressiva e acredita-se que exerça um papel importante na pneumonia (Kim et al., 2019).

As cepas de *P. multocida* são classificadas em cinco sorogrupos capsulares (A, B, D, E e F), dependendo do tipo de antígenos lipopolissacarídicos (Rhoades et al., 1987). Os sorogrupos A, B e D têm sido identificados

em suínos, sendo mais recorrentes os sorogrupos A e D. A observação dos grupos capsulares nos isolados é definida pela presença de genes específicos. Além desses genes, os isolados apresentam uma variedade de genes de virulência, os quais estão associados com o perfil patogênico da bactéria. Esses genes podem ser classificados em categorias de acordo com a função que exercem na patogenicidade (Ewers et al., 2006). De modo geral, as categorias em que os genes estão associados são toxinas, modulação imune, aderência e metabolismo. A diversidade genética molda a evolução de uma nova infecção bacteriana (Ekroth et al., 2021). Os genes de virulência estão em constante adaptação e os isolados podem apresentar variações qualitativas de genes, bem como modular a sua expressão perante os estímulos ambientais na célula do hospedeiro. Diante do exposto, o presente trabalho avalia a distribuição de genes por categoria em cepas de *P. multocida* isoladas de suínos com sintomas de pasteurelose de uma fazenda no estado de São Paulo.

Material e métodos

Foram avaliados sete isolados de *P. multocida* oriundos de pulmão de suínos doentes processados na empresa MicroVet, em Viçosa, MG. Esses animais foram provenientes de uma granja no estado de São Paulo.

O DNA dos isolados de *P. multocida* foram extraídos por kit comercial seguindo o protocolo sugerido pelo fabricante, com modificações. Após a quantificação e análise da pureza, os DNAs foram sequenciados através de tecnologia NGS para verificação do perfil de fatores de virulência baseado no WGS dos sete isolados. As sequências dos isolados foram mapeadas e alinhadas com sequências de genes de virulência relevantes de *P. multocida* pelo programa Minimap2. Os genes foram categorizados para classificação quanto à patogenicidade e comparou-se o perfil de virulência dos isolados.

Resultados e discussão

As sequências dos isolados de *P. multocida* resultaram na confirmação do agente e os fatores de virulência puderam ser classificados em três categorias principais: modulação imune, aderência e metabolismo, não sendo observados genes para a categoria toxina. As três categorias foram observadas em 100% dos isolados de *P. multocida* avaliados. Em 71% deles, a categoria de modulação imune foi a mais representativa, seguida de aderência e metabolismo (Tabela 1). Os isolados avaliados apresentaram o mesmo número de genes categorizados em metabolismo, porém houve variação dos genes identificados (dados não mostrados). As proteínas de metabolismo de ferro são importantes na patogenicidade e apresentam alta prevalência em isolados de *P. multocida* oriundos de suínos no Brasil (Furian et al., 2016), o que foi corroborado no presente trabalho.

Tabela 1 - Número de genes por categoria identificados nos isolados de *Pasteurella multocida* provenientes de uma fazenda do estado de São Paulo

Categorias	Isolados						
	Am1	Am2	Am3	Am4	Am5	Am6	Am7
Mod. imune	7	8	9	8	6	8	9
Aderência	7	7	5	5	7	6	6
Metabolismo	5	5	5	5	5	5	5
Total	19	20	19	18	18	19	20

Nota: Mod. = modulação.

Genes relacionados à modulação imune foram mais observados nos isolados Am3 e Am7, enquanto a observação para a categoria aderência foi mais observada nos isolados Am1, Am2 e Am55 (Tabela 1). Um dos principais requisitos para a infecção bacteriana é a sua aderência à célula hospedeira, sendo, portanto, essa

categoria considerada uma das principais na virulência da bactéria (Vu-Khac et al., 2020). Os isolados Am2 e Am7 de *P. multocida* foram os que apresentaram maior quantidade de genes relevantes de virulência. A variação quantitativa do total de genes entre os sete isolados foi baixa. A identificação dos fatores de virulência entre os sete isolados de *P. multocida* provenientes de mesma fazenda foi variável, o que demonstra variabilidade genética na população bacteriana. Essa variação quantitativa pode refletir diferenças na adaptação desses isolados na célula do hospedeiro, influenciando a patogenicidade.

Conclusão

A tecnologia de NGS é uma forte aliada na identificação do perfil de virulência de isolados bacterianos. Através do sequenciamento foi possível caracterizar e diferenciar isolados de *P. multocida* de uma fazenda no estado de São Paulo. Com a análise, observou-se variabilidade genética entre os isolados, em relação aos genes de virulência, o que permite explorar as especificidades de cada cepa, auxiliando na tomada de decisão na seleção da amostra para vacinas autógenas com maior acurácia para a propriedade. A utilização de vacinas autógenas fornece mais eficiência ao tratamento e à prevenção de doenças nas granjas.

Referências

- EKROTH, A.K. et al. Host genotype and genetic diversity shape the evolution of a novel bacterial infection. *The ISME Journal*, v. 15, n. 7, p. 2146-2157, 2021.
- EWERS, C. et al. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Vet. Microbiol.* v. 114, n. 4, p. 304-317, 2006.
- FURIAN, T.Q. et al. Virulence genes and antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolated from poultry and swine. *Braz. J. Microbiol.* v. 47, n. 1, p. 210-216, 2016.
- KIM, J. et al. Characterisation of *Pasteurella multocida* isolates from pigs with pneumonia in Korea. *BMC Vet. Res.* v. 15, n. 1, p. 119, 2019.
- RHOADES, K.R; RIMLER R.B. Capsular groups of *Pasteurella multocida* isolated from avian hosts. *Avian Dis.* v. 31, n. 4, p. 895-898, 1987.
- VU-KHAC, H. et al. Prevalence of virulence factor, antibiotic resistance, and serotype genes of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs in Vietnam. *Veterinary world.* v. 13, n. 5, p. 896, 2020.
- WILKIE, I.W. et al. *Pasteurella multocida*: Diseases and pathogenesis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* v. 361, p. 1-22, 2012.

Diversidade do gene *pgi* em cepas de *Pasteurella multocida* obtidas do trato respiratório de suínos doentes

Manuela Maria Cavalcante Granja
Jefferson Viktor de Paula B. Baêta
Thaís Viana Fialho Martins
Lucas Fernando dos Santos
Daniel Lúcio dos Santos*
Walter Guimarães
José Lúcio dos Santos

Diversity of the pgi gene in Pasteurella multocida strains obtained from the respiratory tract of diseased pigs

MICROVET - Microbiologia Veterinária Especial, Viçosa, Brasil

*Correspondência: daniel@microvet.com.br

Palavras-chave: MLST. Pasteurelose. Suinocultura.

Introdução

Pasteurella multocida é o agente responsável por muitas manifestações que vão desde rinite atrófica, pneumonia e septicemia até a morte, o que representa um risco para a produção global de suínos (Peng et al., 2018). Trata-se de uma bactéria patogênica gram-negativa que apresenta variabilidade nos tipos capsulares (Townsend et al., 2001), nos genótipos de lipopolissacarídeos (LPS) e nos fatores de virulência, os quais contribuem para sua patogênese (Harper et al., 2015).

A análise de tipagem de sequência multilocus (MLST) tem emergido como uma ferramenta poderosa para a genotipagem de espécies bacterianas específicas. O MLST utiliza fragmentos internos de múltiplos *housekeeping genes* e a combinação de cada alelo define o tipo de sequência para cada isolado. Existe

uma grande variação dentro dos *housekeeping genes*, o que resulta em muitos alelos por locus, permitindo uma infinidade de perfis alélicos distintos. Em *P. multocida* são encontrados sete *housekeeping genes*: *adhA*, *aroA*, *deoD*, *gdhA*, *gópD*, *mdh* e *pgi*, os quais codificam proteínas que são constantemente exigidas pela célula. A variação genética nesses genes pode influenciar o processo de crescimento e, conseqüentemente, a colonização deste patógeno perante as pressões sofridas no ambiente celular do hospedeiro. O gene *pgi* exerce papel importante no metabolismo central bacteriano ao transcrever a enzima phosphoglucose isomerase, que catalisa a segunda etapa da glicólise. Em bactérias, a deleção do gene *pgi* pode influenciar significativamente a estrutura de sua rede metabólica, prejudicando o crescimento (Charusanti et al., 2010). O estudo de diversidade pode contribuir com informações sobre a adaptação da cepa na colonização no hospedeiro, como também permite a identificação e compreensão de um clone específico que está amplamente disseminado entre os organismos resistentes a drogas ou um clone-chave que é importante para a evolução do organismo (Matsumura, 2013). Diante do exposto, propôs-se a investigação da diversidade do gene *pgi* em amostras de isolados de *P. multocida* oriundos de diversas regiões de Brasil.

Material e métodos

Foram isoladas 33 amostras de *P. multocida* no Laboratório de Diagnóstico Veterinário da Microvet, Viçosa, MG, a partir de pulmão de suínos doentes. As

amostras foram provenientes de quatro regiões do Brasil, compreendendo amostras de Santa Catarina (n = 21), Rio Grande do Sul (n = 6), Paraná (n = 3), Minas Gerais (n = 1) e Mato Grosso (n = 1). DNA dos 33 isolados de *P. multocida* processados na empresa foi extraído por kit seguindo o protocolo sugerido pelo fabricante, com modificações. As amostras de DNA foram sequenciadas através da tecnologia NGS. A seleção do gene *pgi* foi baseada na diversidade genética dessa enzima, sendo relevante no metabolismo de *P. multocida*, como mostrado no estudo de Blackall et al. (1998).

Outras 27 sequências, obtidas da base de dados online do PubMLST, foram incluídas na análise, totalizando 60 isolados. As sequências dos 33 isolados foram mapeadas e alinhadas com as 27 sequências de *pgi* obtidas do banco de dados do PubMLST pelo programa Minimap2 e MEGA, respectivamente. Para definir a rede haplotípica, as sequências do gene *pgi* foram agrupadas em haplótipos, utilizando o software DNAsp v6 (Rosas et al., 2017). A partir disso, a rede haplotípica foi construída pelo software Network 4.6.1.0, utilizando o algoritmo *median joining algorithm* (Bandelt et al., 1999). A construção do dendrograma foi realizada pelo método *neighbour joining* com o auxílio do software MEGA.

Resultados e discussão

A análise da diversidade genética do gene *pgi* nos 60 isolados de *P. multocida* de diferentes regiões do Brasil revelou a formação de mutações entre as sequências, resultando em 36 haplótipos (Figura 1) com diversidade haplotípica (Hd) de 0,8913. O alto valor de diversidade observado demonstra que esse gene apresenta uma alta taxa de mutação que pode refletir na alta variabilidade genotípica dos isolados de *P. multocida*.

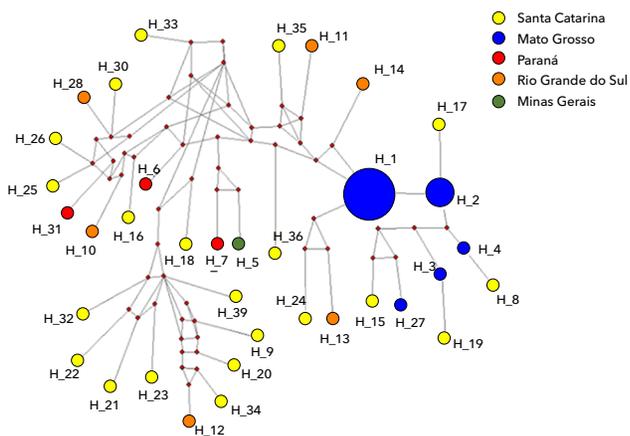


Figura 1 - Rede haplotípica do gene *pgi* de *Pasteurella multocida* isolada do trato respiratório de suínos doentes dos estados de SC, PR, RS, MT e MG, Brasil.

A maioria dos isolados do Mato Grosso, oriundos do banco PubMLST, foram agrupados em dois haplótipos (H_1 e H_2). O isolado de mesma região obtido por sequenciamento e outros dois isolados do PubMLST formaram haplótipos diferentes (H_27 e H_3; H_4, respectivamente), porém, existe uma relação genética mais próxima entre eles (Figura 1). Já em relação aos isolados provenientes de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, houve alta variabilidade do gene *pgi*, como pode ser observada a distância entre os haplótipos formados. Os isolados oriundos do Paraná também apresentaram alta variabilidade e mostraram-se mais próximos do isolado de Minas Gerais.

A região Sul lidera o abate de suínos no Brasil (IBGE, 2022) e essa elevada concentração de animais exige um maior aporte de antibióticos para controle sanitário. Diante disso, observou-se uma variabilidade genética acentuada dos isolados nessa região, que pode estar relacionada à pressão seletiva induzida pelo uso de fármacos. A pressão seletiva induz mutações que geram variabilidade, contribuindo para a evolução do patógeno. Nos isolados do Mato Grosso, observou-se maior similaridade entre as sequências, o que pode estar relacionada ao fato de os isolados do PubMLST serem de um mesmo depositário e de um único ano.

Conclusão

O gene *pgi* de *P. multocida* apresentou alta variabilidade genética em amostras de trato respiratório de animais doentes oriundos dos estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná. A variabilidade no gene *pgi* pode afetar o crescimento de *P. multocida*, o que impacta diretamente na sanidade do rebanho. A alta variabilidade observada no gene *pgi* pode estar associada ao emprego de antibióticos, e uma alternativa para a diminuição do uso de antibióticos na produção animal e prevenção de doenças é a utilização de vacinas autógenas.

Referências

BANDELT, H.J. et al. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, v.16, p.37-48, 1999.

BLACKALL, P.J. et al. Population structure and diversity of avian isolates of *Pasteurella multocida* from Australia. *Microbiology*, v.144, n. 2, p. 279-289, 1998.

CHARUSANTI, P. et al. Genetic basis of growth adaptation of *Escherichia coli* after deletion of *pgi*, a major metabolic gene. *PLoS genetics*, p. 6, n. 11, p. e1001186, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da produção pecuária. 2022.

HARPER, M. et al. Development of a rapid multiplex PCR assay to genotype *Pasteurella multocida* strains by use of the lipopolysaccharide outer core biosynthesis locus. *Journal of clinical microbiology*, v. 53, n. 2, p. 477-485, 2015.

MATSUMURA, Y. Multilocus sequence typing (MLST) analysis. *Rinsho byori. The Japanese Journal of Clinical Pathology*, v. 61, n. 12, p. 1116-1122, 2013.

PENG, Z. et al. A capsule/lipopolysaccharide/MLST genotype D/L6/ST11 of *Pasteurella multocida* is likely to be strongly associated with swine respiratory disease in China. *Archives of microbiology*. v. 200, n. 1, p. 107-118, 2018.

ROZAS, J. et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*. v. 34, n. 12, p. 3299-3302, 2017.

TOWNSEND, K.M. et al. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *Journal of clinical microbiology*. v. 39, n. 3, p. 924-929, 2001.

Mapeamento de genes de resistência a antimicrobianos em *Salmonella enterica* isolados de suínos de produção

Mapping of antimicrobial resistance genes in Salmonella enterica isolated from production pigs

Thaís Viana Fialho Martins
Manuela Maria Cavalcante Granja
Jefferson Viktor de Paula B. Baêta
Angélica Perdigão Martino
Bruno Broggio
Lucas Fernando dos Santos
Daniel Lúcio dos Santos*
Walter Guimarães
José Lúcio dos Santos

MICROVET - Microbiologia Veterinária Especial, Viçosa, Brasil

*Correspondência: daniel@microvet.com.br

Palavras-chave: Antibióticos. Bactérias multirresistentes. Suinocultura.

Introdução

Muitos patógenos bacterianos associados a doenças humanas e animais evoluíram para formas multirresistentes após o uso de antibióticos. Essas formas multirresistentes induzem a maior morbidade e mortalidade devido a múltiplas mutações que conferem altos níveis de resistência às classes de antibióticos. Em alguns casos, a resistência adquirida promove virulência e maior transmissibilidade (Davies e Davies, 2010).

Na cadeia produtiva de carne suína, especialmente em regimes de produção intensiva em larga escala, o uso não racional de antimicrobianos tornou-se parte integrante do sistema de produção, sendo usados para tratamento de animais clinicamente doentes, como também no gerenciamento de rotina para profilaxia e até promoção do crescimento (Aarestrup et al., 2008; Bosman et al., 2022).

Muitas cepas de *Salmonella* têm baixa patogenicidade em suínos e são mais importantes como uma preocupação em transmissões zoonóticas. No entanto, *S. enterica* Choleraesuis é altamente patogênica em suínos e está associada a surtos agudos de diarreia, septicemia e morte, especialmente em suínos de creche e terminação. *S. enterica* Typhimurium pode causar diarreia, perda de peso, septicemia e morte, com incidência aumentada em coinfeções virais. A suscetibilidade antimicrobiana entre *Salmonella* spp. é intensamente pesquisada devido à importância zoonótica desta bactéria (Aarestrup et al., 2008; Machado et al., 2016).

Diante desse fato, o presente trabalho objetivou avaliar o sequenciamento de genoma completo (WGS) como uma ferramenta para a vigilância da resistência antimicrobiana. Avaliou-se a presença de genes de resistência em cepas de *S. enterica* Choleraesuis e *S. enterica* Typhimurium isoladas de amostras de animais clinicamente doentes e confrontados com dados de antibiograma.

Material e métodos

Amostras de *S. enterica* Choleraesuis e Typhimurium foram isoladas de suínos doentes submetidos ao Laboratório de Diagnóstico Veterinário da Microvet, onde também foi realizada a caracterização das cepas. As amostras foram submetidas ao ensaio de antibiograma para verificação de resistência às seguintes drogas: (i) sulfa/trimetoprim (antagonista da via do folato); (ii) tilmicosina (macrolídeo); (iii) enrofloxacina e ciprofloxacina (quinolona); (iv) ceftiofur (cefalosporina de terceira geração); (v) gentamicina e neomicina (aminoglicosídeo); (vi) doxiciclina e tetraciclina (tetraciclina); (vii) penicilina, ampicilina e amoxicilina (beta-lactâmico); (viii) florfenicol (anfenicol); (ix) lincomicina (lincosamida); (x) norfloxacino e marbofloxacina (fluoroquinolona). Ao total, 10 isolados compreendendo amostra (AM) 1 a 6 de *S. enterica* Choleraesuis e AM 7 a 10 de *S. enterica* Typhimurium tiveram o seu DNA extraído e foram sequenciados através de tecnologia NGS, verificando o perfil de resistência baseado no WGS. As sequências dos dez isolados foram confrontadas com o banco de dados ResFinder 4.1, que captura genes de resistência antimicrobiana de conjuntos de dados de genomas completos depositados no BLAST. Os resultados do ResFinder foram comparados com os resultados dos testes fenotípicos de suscetibilidade antimicrobiana usando valores de corte epidemiológicos EUCAST.

Resultados e discussão

No perfil genotípico dos isolados de *S. enterica* pôde-se observar que todos os isolados sequenciados apresentaram genes de resistência a diferentes classes de antimicrobianos. Houve variação no número de genes de resistência encontrados na mesma amostra que apresentaram cobertura e identidade acima de 98%, quando comparados às sequências gênicas depositadas no BLAST. Entre as amostras do sorovar Choleraesuis, a AM1 apresentou gene de resistência para beta-lactâmicos, porém não se mostrou sensível para duas drogas desta classe, indicando que não pôde ser observada a expressão do gene apesar de sua presença. Para as demais drogas testadas no antibiograma foram observados fenótipos de resistência para esta amostra, porém os genes não foram encontrados nas análises *in silico*. Estes achados podem estar associados à cobertura do genoma que não foi alcançada para esta amostra, podendo não ter encontrado os genes relacionados. A AM2 apresentou genótipo resistente às classes antagonista da via do folato (AVF), aminoglicosídeo e tetraciclina, com dados fenotípicos corroborando os achados genotípicos. A AM3 apresentou genes de resistência para AVF e resultados do antibiograma

com resistência para drogas relacionadas a outras classes. A AM4 mostrou resistência para genes relacionados a AVF e anfenicol. Fenotipicamente foi resistente a anfenicol, beta-lactâmicos e tetraciclina. Já os genes encontrados para AM5 e AM6 não foram relacionados aos antibióticos testados no antibiograma. A AM7, de sorovar Typhimurium, apresentou genes de resistência relacionados a drogas das classes AVF e aminoglicosídeo, onde também foi encontrada resistência parcial no antibiograma. A AM8 apresentou achados genéticos relacionados à resistência para antibióticos das classes AVF, quinolona, aminoglicosídeo, tetraciclina, beta-lactâmico e anfenicol. Os dados do antibiograma corroboraram parcialmente os dados genotípicos desta amostra. A AM9 apresentou genes de resistência para beta-lactâmicos, sem encontrar resistência para as drogas dessa classe no ensaio de antibiograma. Finalmente, a AM10 apresentou resistência apenas no ensaio de antibiograma para as drogas das classes AVF, tetraciclina e aminoglicosídeo.

Em testes de sensibilidade a antimicrobianos, a resistência a 3 ou mais classes são requisitos para considerar formas multirresistentes, segundo critérios do *National Antimicrobial Resistance Monitoring System* (FDA, 2013). A frequência elevada de resistência à tetraciclina, seguida por ampicilina em suínos de produção, tem sido relatada na literatura (Hur et al., 2012), corroborando os dados observados no ensaio de antibiograma do presente estudo. Dos isolados de *S. enterica* Choleraesuis avaliados, 100% apresentaram resistência à ampicilina, 83% apresentaram resistência à tetraciclina e 66% à penicilina, enquanto que 50% dos isolados apresentaram resistência aos três antimicrobianos citados. Em isolados de sorovar Typhimurium, observou-se 100% de sensibilidade à ampicilina e 75% à tetraciclina. Para penicilina foi registrada resistência em 75% dos isolados. Uma preocupação relatada é o surgimento de resistência a antimicrobianos de espectro estendido, como Ceftiofur. Para os sorovares Typhimurium e Choleraesuis foram observadas resistências variáveis de 75% e 33%, respectivamente.

Os principais sorovares de *Salmonella* isolados em suínos de produção apresentam perfil de multirresistência, ou seja, contém genes de resistência que participam de mecanismos de inativação a diversas classes de fármacos (Hur et al., 2012). Os isolados de *S. enterica* Choleraesuis e *S. enterica* Typhimurium avaliados no presente trabalho apresentaram um perfil similar ao relatado na literatura.

Conclusão

A resistência antimicrobiana baseada em WGS fornece antibiogramas *in silico* e no presente estudo corroborou parcialmente os dados obtidos por testes fenotípicos

nos isolados de grande relevância para a saúde pública. Evidências acumuladas sugerem que o uso indevido e excessivo de antibióticos em animais de produção são os principais contribuintes para a resistência antimicrobiana. Vacinas autógenas são fortes fontes alternativas aos antimicrobianos e se tornam estratégia primordial para a promoção da indústria de criação animal.

Referências

- AARESTRUP, F.M. et al. Antimicrobial resistance in swine production. *Animal Health Research Reviews*, v. 9, n. 2, p. 135-148, 2008.
- BOSMAN, A.L. et al. Antimicrobial use in lactating sows, piglets, nursery, and grower-finisher pigs on swine farms in Ontario, Canada during 2017 and 2018. *Porc Health Manag*, v. 8, n. 17, 2022.
- DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, MMBR, v. 74, n.3, p. 417-33, 2010.
- FDA - Food and Drug Administration. Antimicrobial Resistance [Internet]. 2013. [Link](#)
- HUR, J. et al. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Research International*, v. 45, p. 819830, 2012.
- MACHADO, G.B. et al. Impacto da salmonelose na suinocultura e suas implicações em saúde pública. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 83, 2016.

Caracterização histopatológica de lesões pulmonares causadas por *Pasteurella multocida* e associação com os genes de virulência *pfhA* e *ompA*

Jefferson Baeta¹
Geísa Paes¹
Carlos Pereira²
Lucas dos Santos^{1*}
Larissa Martins¹
Guilherme Vasconcelos¹
Daniel dos Santos¹
Walter Guimarães¹
José Lúcio dos Santos¹

Histopathological characterization of pulmonary lesions caused by Pasteurella multocida and association with pfhA and ompA virulence genes

¹ MICROVET - Microbiologia Veterinária Especial, Viçosa, Brasil

² Setor de Patologia Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

*Correspondência: lucas@microvet.com.br

Palavras-chave: Gene de virulência. *Pasteurella multocida*. qPCR.

Introdução

A pasteurelose é uma das doenças economicamente mais importantes dos suínos, causada por *Pasteurella multocida* tipos capsulares A e D. Esses organismos são comensais e patógenos oportunistas do trato respiratório superior dos suínos, no entanto, já é comprovada a capacidade de *P. multocida* atuar como agente primário e ocasionar pleuropneumonia grave a partir de cepas virulentas (Pegu et al., 2022). Em virtude de sua variabilidade genética e patogênica,

P. multocida está associada a quadros de pleurites e também é descrita como causadora de rinite atrófica, pneumonias e septicemia (Klüger et al., 2022). Tendo em vista a severidade da presença do agente bacteriano no rebanho, a utilização de medidas profiláticas preventivas e métodos de controle eficientes como o uso de vacinação devem ser adotados. A análise epidemiológica do organismo, baseada na sorotipagem e tipagem de padrões de genes de virulência, permite a identificação de cepas associadas à predileção ou doença do hospedeiro e seleção de potenciais cepas vacinais. Assim, o objetivo deste trabalho foi fazer a caracterização das lesões patológicas em suínos e a associação com o padrão de tipagem de genes de virulência presentes em cepas de *P. multocida* isoladas no Brasil no ano de 2023.

Material e métodos

Foram selecionadas 319 cepas de *P. multocida* isoladas de abscesso, pleurisia e pulmão de animais doentes não imunossuprimidos, enviados ao laboratório de diagnóstico da Microvet no primeiro semestre de 2023. As cepas foram oriundas de seis estados brasileiros e foram submetidas à sorotipagem capsular por PCR multiplex. As amostras de pulmão dos animais foram coletadas para realização de exames histopatológicos e caracterização das lesões. Sete cepas isoladas de animais com lesões intensas causadas

por *P. multocida* foram selecionadas para estudo de associação com os genes de virulência *pfhA* e *ompA* utilizando a técnica de qPCR. A extração de DNA foi realizada usando o kit de extração DNA Wizard® Genomic DNA Purification (Promega) e para o ensaio de qPCR foi utilizado SYBR™ Green PCR Master Mix (Applied Biosystems™), ambos de acordo com as instruções do fabricante. Valores de Ct (*cycle threshold*) menores que 40 foram utilizados como referência para considerar as amostras portadoras dos genes avaliados.

Resultados e discussão

Os resultados demonstraram isolamento predominante de *P. multocida* tipo A (66,1%), no entanto, tipo A e D foram encontrados em amostras de pulmão (58%) e pleurisia (29,8%) predominantemente em animais na fase de terminação do sistema de produção de suínos (86,5%). As lesões microscópicas foram semelhantes

nas sete amostras selecionadas e consistiu em infiltrado inflamatório neutrofílico com *oat cells* e áreas de sequestro no parênquima pulmonar multifocal intenso (broncopneumonia necropurulenta com *oat cells* - Figura 1A) e infiltrado inflamatório neutrofílico associado à exsudação fibrinosa e hemorragia na superfície pleural intensa (pleurite fibrinopurulenta e hemorrágica - Figura 1B). Os aspectos patológicos (macro e microscópicos) são semelhantes aos observados em infecções por bactérias do gênero *Actinobacillus*, principalmente *A. pleuropneumoniae*, por isso a lesão é chamada de APP-like (Oliveira Filho et al., 2018) e, mais recentemente, tem-se observado lesões semelhantes em animais de recria e terminação causada também pelo *A. suis* (Santos et al., 2021). O gene *ompA* foi detectado nas sete amostras analisadas (Cts variando entre 20 e 34) (Figura 2A). O gene *pfhA* só não foi identificado na amostra 5. Para todas as outras amostras consideradas positivas, o Ct encontrado para este alvo variou entre 29 e 40 (Figura 2B).

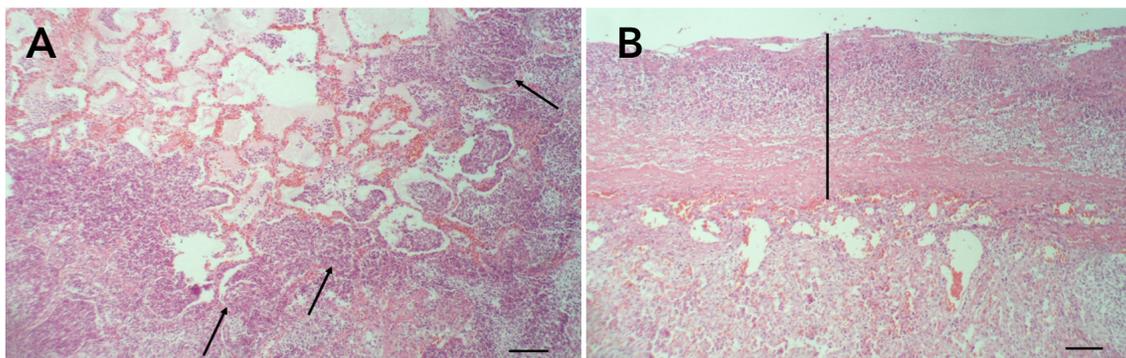


Figura 1 - (A) Pulmão: infiltrado inflamatório neutrofílico com piócitos, *oat cells* (seta) e área de sequestro. Barra de escala - 100µm. (B) Pulmão: infiltrado inflamatório neutrofílico com piócitos associado à exsudação fibrinosa, caracterizando pleurite fibrinopurulenta (barra vertical). Barra de escala - 100µm.

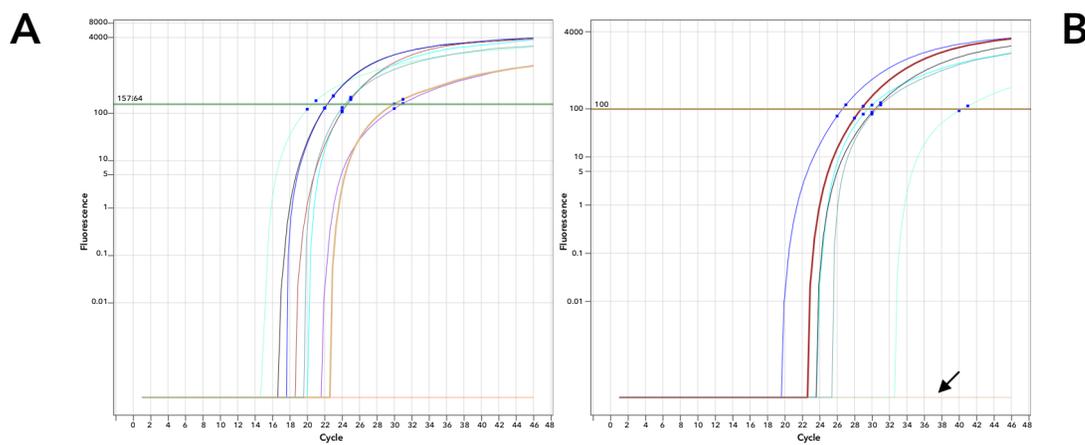


Figura 2 - Curva de amplificação (fluorescência, em escala logarítmica, versus ciclos) dos genes *ompA* (A) e *pfhA* (B). Todas as amostras amplificaram com Cts < 40 para o gene *ompA* e para o gene *pfhA*; apenas a amostra 5 (flecha) não apresentou amplificação nas condições testadas.

Conclusão

O gene *pfhA*, relacionado à presença de hemaglutinina filamentosa, é um importante fator de adesão bacteriana no trato respiratório, bem como o gene *ompA* tem um papel significativo na estabilização da estrutura do envelope celular, fornecendo uma ligação física entre a membrana externa e a célula do hospedeiro, o que torna as cepas de *P. multocida* mais invasivas. As lesões intensas descritas nas avaliações histopatológicas das amostras de pulmão, de onde foram isoladas as cepas de *P. multocida* portadoras dos genes de virulência *pfhA* e *ompA*, demonstram que esses genes podem ser considerados marcadores característicos de cepas de *P. multocida* altamente patogênicas. No entanto a avaliação de um maior número de amostras se faz necessária para validação. Assim, conclui-se que a avaliação genética do organismo se torna importante para entender melhor sua epidemiologia e direcionar o manejo profilático e seleção de cepas vacinais.

Referências

- KLUGER, V. Pasteurelose pulmonar em suínos: uma revisão. 2022.
- PEGU, H. et al. Imunopotencial da vacina à base de proteína de membrana externa bivalente de *Pasteurella multocida* aprisionada em nanopartículas de hidróxido de alumínio. Braz J Microbiol 53 , 2299-2307, 2022.
- OLIVEIRA FILHO, J.X.D. et al. Pathogenic variability among *Pasteurella multocida* type A isolates from Brazilian pig farms. BMC Vet Res, 14, 1-13, 2018.
- SANTOS, L.F. et al. Aumento da ocorrência de *Actinobacillus suis* no Brasil. XIII Simpósio Internacional de Suinocultura, 20-21 (2021).

Detecção de genes relacionados a fatores de virulência e resistência antimicrobiana em isolados de *Pasteurella multocida*

Geísa Paes
Jefferson Baeta
Lucas dos Santos*
Alisson Pereira
Bruno Broggio
Isabela Paes
Daniele Simião
Carine Almeida
Daniel dos Santos
José Lúcio dos Santos

Detection of genes related to virulence factors and antimicrobial resistance in Pasteurella multocida isolates

MICROVET - Microbiologia Veterinária Especial, Viçosa, Brasil

*Correspondência: lucas@microvet.com.br

Palavras-chave: Fator de virulência. Sorotipagem. *Pasteurella multocida*.

Introdução

A síndrome conhecida como complexo de doença respiratória suína (PRDC) é o principal desafio relacionado à saúde enfrentado pela indústria suína em todo o mundo (Hansen et al., 2010). Embora o PRDC possa variar muito em termos dos agentes infecciosos envolvidos, sua patogênese permanece bem definida: um patógeno primário inicia a doença e afeta as defesas respiratórias do animal, facilitando a colonização do trato respiratório superior por patógenos secundários oportunistas e subsequente exacerbação do estado da doença. Estudos analisando a frequência de patógenos que contribuem para infecções do PRDC apontaram *Pasteurella multocida* como o patógeno mais comumente detectado (Truswell et al., 2023). *P. multocida* é um cocobacilo gram-negativo que constitui parte da

flora normal do trato respiratório superior em suínos, com capacidade de contribuir para doenças graves. Esse agente é capaz de produzir pleurite fibrinosa e broncopneumonia supurativa, assim como pericardite e até septicemia (Oliveira Filho et al., 2015), levando a prejuízos econômicos consideráveis para o produtor. A classificação com base nos antígenos capsulares (polissacarídeos) de *P. multocida* é dividida em 5 sorogrupos (A, B, D, E e F) e com base no antígeno O do lipopolissacarídeo (LPS), em 16 sorotipos (Townsend et al., 2001). Em suínos os quadros respiratórios são mais frequentemente associados aos tipos capsulares A e D.

Em virtude de sua variabilidade genética, a patogenicidade das cepas de *P. multocida* está associada a fatores de virulência, que incluem toxina dermonecrótica, fímbrias, adesinas, proteínas de aquisição de ferro e proteínas de membrana externa (OMP) (Vu-Khac et al., 2020). A avaliação genética do organismo se torna importante para entender melhor sua epidemiologia e direcionar o manejo profilático. Este estudo, portanto, teve como objetivo avaliar a prevalência de genes relacionados a fatores de virulência e genes que conferem resistência a antimicrobianos em cepas suínas de *P. multocida* isoladas no Brasil.

Material e métodos

O estudo utilizou uma amostragem de 1.059 isolados suínos de *P. multocida* que foram obtidos durante o período de janeiro de 2022 a junho de 2023 pela

Microvet, em seu laboratório de diagnóstico e saúde animal. Os isolados originaram-se de nove estados brasileiros e foram predominantemente derivados do trato respiratório inferior de porcos doentes em exames *post mortem*. Todos os isolados foram submetidos à sorotipagem capsular por PCR multiplex. Desses, 120 isolados oriundos de animais na fase de terminação e não imunossuprimidos foram selecionados para análise de identificação de genes relacionados a 10 fatores de virulência e genes de resistência aos antibióticos florfenicol (floR) e tetraciclina (tetB e tetH) e caracterização fenotípica de resistência antimicrobiana. A extração de DNA foi realizada utilizando o kit de extração Wizard® Genomic DNA Purification (Promega), seguindo o protocolo do fabricante.

Resultados e discussão

Os resultados demonstraram isolamento predominante de *P. multocida* em animais na fase de terminação (79,7%) do sistema de criação de suínos e predominância de *P. multocida* tipo A (68,6%) provenientes de amostras de abscesso (12,9%), pericardite (10%), pleurisia (22,9%) e pulmão (54,2%) (Tabela 1).

Seis genes relacionados a fatores de virulência (ompA, ompH, oma 87, exbB, exbD e ptfA) estavam presentes em 100% das amostras e o gene toxA não foi encontrado em nenhuma das amostras avaliadas. O gene pfhA foi identificado em apenas 9,2% das amostras, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 1 - Número de amostras por faixa etária, sorotipo e local de isolamento

Faixa etária	Agente	Abscesso	Pericardite	Pleurisia	Pulmão	Total geral	%
Maternidade	<i>P. multocida</i> tipo A	14	2	7	22	45	14,6
(0 - 21 dias)	<i>P. multocida</i> tipo D	3	1	3	8	15	
Creche	<i>P. multocida</i> tipo A	2	21	30	66	119	5,7
(22 - 70 dias)	<i>P. multocida</i> tipo D	1	7	10	18	36	
Terminação	<i>P. multocida</i> tipo A	60	56	118	328	562	79,7
(71 - 180 dias)	<i>P. multocida</i> tipo D	57	19	74	132	282	
Total geral	-	137	106	242	574	1059	
%	-	12,9	10	22,9	54,2	100	-

Tabela 2 - Número de amostras positivas para os genes relacionados aos fatores de virulência e resistência antimicrobiana

Gene	Função	Nº amostras positivas
ompA	Protectina	100% (120/120)
ompH	Protectina	100% (120/120)
oma87	Protectina	100% (120/120)
exbB	Aquisição de ferro	100% (120/120)
exbD	Aquisição de ferro	100% (120/120)
fimA	Adesina	97,5% (117/120)
pfhA	Adesina	9,2% (11/120)
ptfA	Adesina	100% (120/120)
pmHAS	Hialuronidase	80,8% (97/120)
toxA	Toxina	0% (0/120)
floR	Resistência à florfenicol	97,5% (117/120)
tetB	Resistência à tetraciclina	21,7% (26/120)
tetH	Resistência à tetraciclina	87,5% (105/120)

Os dados de suscetibilidade antimicrobiana dos ensaios fenotípicos identificou 92,5% das amostras sensíveis ao antimicrobiano florfenicol e 79,2% sensíveis à tetraciclina. Embora não congruente ao alto grau de sensibilidade

antimicrobiana fenotípica, 97,5% das amostras foram portadoras do gene floR, 21,7% do gene tetB e 87,5% do gene tetH (Tabela 2).

Conclusão

Apesar da variedade de fatores de virulência detectados com alta frequência entre os isolados neste estudo, avaliações mais aprofundadas devem ser exploradas para análises de cepas suínas de *P. multocida* a fim de reduzir o impacto na indústria suína. Broncopneumonia purulenta e pleurite fibrinosa foram descritas nas avaliações histopatológicas das amostras de pulmão de todas as cepas de *P. multocida* portadoras do gene de virulência pfhA, o que leva a crer que ele possa ser considerado um bom marcador característico de cepas de *P. multocida* patogênicas. A baixa taxa de detecção de resistência aos antimicrobianos florfenicol e tetraciclina nos ensaios fenotípicos significa que eles ainda continuam sendo opções viáveis para o tratamento de infecções por *P. multocida* em suínos. No entanto, a alta prevalência dos genes floR, tetB e tetH demonstra uma forte pressão de seleção e transferência horizontal destes genes entre as cepas circulantes, o que poderá levar ao surgimen-to

de cepas multirresistentes de *P. multocida* em suínos e a associação dessas cepas com doenças graves. Desta forma, o uso prudente de antimicrobianos e de medidas preventivas como o uso de vacinas autógenas devem ser considerados.

Referências

HANSEN, M.S. et al. An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *Journal of comparative pathology*, v. 143, n. 2-3, p. 120-131, 2010.

OLIVEIRA FILHO, J. X. et al. *Pasteurella multocida* type A as the primary agent of pneumonia and septicaemia in pigs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 35(8):716-724, 2015.

TOWNSEND, K. M. et al. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *Journal of clinical microbiology*, v. 39, n. 3, p. 924-929, 2001.

TRUSWELL, A. et al. Antimicrobial Resistance of and Genomic Insights into *Pasteurella multocida* Strains Isolated from Australian Pigs. *Microbiology Spectrum*, v. 11, n. 1, p. e03784-22, 2023.

VU-KHAC, H. et al. Prevalence of virulence factor, antibiotic resistance, and serotype genes of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs in Vietnam. *Veterinary world*, v. 13, n. 5, p. 896, 2020.

Avaliação dos agentes causadores de infecção urinária em fêmeas suínas

Evaluation of the causative agents of urinary tract infection in sows

Beatriz Martins Parra¹
Ivan Ochin de Souza¹
Luisa Zanolli Moreno¹
José Arthur de Souza Barbosa¹
Matheus Saliba Monteiro¹
André Pegoraro Poor¹
Kawany Miyazaki Araujo¹
Vasco Tulio Moura Gomes¹
Maria Inês Zanoli Sato²
Andrea Micke Moreno^{1*}

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

² Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, São Paulo, Brasil

*Correspondência: morenoam@usp.br

Palavras-chave: Anatomopatológico. Infecção urinária. MALDI-TOF MS.

Introdução

Na suinocultura, as infecções do trato urinário (ITU) se destacam pela alta frequência e pelos prejuízos financeiros associados. O prejuízo é consequente do impacto negativo nos índices zootécnicos, acréscimo nos gastos com medicações e mortalidade de animais. Além disso, a ITU na matriz está entre as principais causas de quedas nos índices reprodutivos, comprometendo o estado de saúde das fêmeas e levando ao aumento no índice de reposição do plantel, sendo apontada como uma das doenças que mais geram perda econômica no rebanho (Sobestiansky, 2007). Portanto o status sanitário do trato urinário das fêmeas suínas interfere diretamente nos seus resultados de prolificidade, o que influencia o desempenho reprodutivo do plantel.

As ITU, na maioria das vezes, apresentam-se na forma subclínica e os produtores não fazem a conexão entre o aparecimento dessa enfermidade com complicações reprodutivas do rebanho (Meister et al., 2006). Sabe-se que para cada porca diagnosticada como positiva para infecção urinária, existem de 2 a 4 que apresentam a enfermidade e não são diagnosticadas (Sobestiansky et

al., 1999). O presente estudo teve por objetivos isolar e identificar os agentes microbianos presentes em bexiga de fêmeas suínas e avaliar os tecidos por meio do exame anatomopatológico.

Material e métodos

Foram avaliadas amostras de trato urinário de 92 fêmeas suínas provenientes de uma propriedade com rebanho de 18.000 matrizes, em ciclo completo, localizada no centro-oeste brasileiro. As amostras de swab de bexiga foram coletadas na necropsia, de forma asséptica. Após a coleta, os swabs foram acondicionados em meio de transporte Stuart e mantidos sob refrigeração até a chegada ao Laboratório de Sanidade Suína da FMVZ/USP. Foram coletados também fragmentos da bexiga para posterior análise histopatológica. Os swabs foram semeados em ágar MacConkey, Chromagar Orientation®, ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e ágar Brucella suplementado com 5% sangue de carneiro, hemina e vitamina K (Difco-BBL). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 a 48 horas no caso dos agentes bacterianos, e por até 5 dias para os agentes fúngicos. As placas de ágar Brucella foram semeadas em duplicata e incubadas em aerobiose e anaerobiose. As colônias microbianas isoladas foram identificadas pela espectrometria de massa MALDI-TOF (*Matrix Associated Laser Desorption-Ionization - Time of Flight*).

Para a identificação microbiana pela técnica de MALDI-TOF MS, foi realizada a extração de proteína ribossomal seguindo o protocolo descrito por Hijazin et al. (2012). Utilizou-se espectrofotômetro de massa Microflex™ (Bruker Daltonik) e matriz polimérica α -cyano-4-hydroxy-cinnamic acid para a captura dos espectros proteicos. Para a identificação microbiana, utilizou-se o programa BioTyper™ 3.0 (Bruker Daltonik). Pela comparação de presença/ausência de picos específicos obteve-se um valor de escore (*log score value*). Seguindo as recomendações do fabricante, os escores $\geq 2,0$ foram aceitos para atribuição de espécie e escores $\geq 1,7$ e $< 2,0$ foram utilizados para confirmação de gênero.

Para a avaliação anatomopatológica, os fragmentos representativos de bexiga foram colhidos e fixados em formol a 10%, por 24 horas. Em seguida, os espécimes foram desidratados em soluções alcoólicas de concentrações crescentes, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Foram realizados cortes de 5 μ , posteriormente corados pelo método de hematoxilina-eosina (H.E.).

Resultados e discussão

Dentre as 92 fêmeas coletadas, 78,3% (72/92) foram positivas para isolamento bacteriano e 23,9% (22/92) para isolamento fúngico na bexiga. Ao todo, foram identificados 26 gêneros bacterianos, compreendendo 56 espécies. Dos 26 gêneros, 14 (53,8%) são de bactérias Gram-positivas e 12 (46,2%) são de bactérias Gram-negativas. Foram detectadas nove espécies fúngicas, distribuídas em seis gêneros. Destes, o gênero *Candida* compreendeu 44,4% (4/9) das espécies isoladas.

Entre os gêneros bacterianos isolados, destaca-se *Escherichia*, que apresentou crescimento em 46,7%. Outros gêneros que apareceram em grande frequência foram *Enterococcus* (19,6%), *Staphylococcus* (16,3%), *Providencia* (12,0%), *Acinetobacter* (8,7%) e *Bacillus* (8,7%). Das espécies bacterianas encontradas, as que apresentaram maior frequência de isolamento nas fêmeas foram *E. coli* (46,7%), *P. rettgeri* (7,6%), *S. saprophyticus* (6,5%), *Klebsiella pneumoniae* (6,5%) e *E. faecium* (6,5%) (Tabela 1). Entre os gêneros fúngicos de maior frequência destacam-se: *Rhodotorula* (13/92 - 14,1%) e *Candida* (6/92 - 6,5%). Das espécies encontradas, merecem destaque *R. mucilaginosa* (14,1%), *C. lusitaniae* (2,2%), *C. rugosa* (2,2%) e *Geotrichum candidum* (2,2%).

Em relação à avaliação anatomopatológica, 77,2% das amostras de bexigas estavam livres de alterações histológicas, 16,3% apresentaram lesões sugestivas de cistite crônica e 6,5% foram diagnosticadas com quadro sugestivo de cistite aguda. Analisando as espécies identificadas em bexiga com e sem lesão microscópica, observa-se que de

um total de 64 espécies identificadas, 17,2% (11/64) foram isoladas somente em bexigas com lesão, 48,4% (31/64) em bexigas sem lesão e 34,4% (22/64) em ambos os grupos.

A alta frequência de isolamento microbiano observada em amostras de trato urinário de fêmeas suínas corrobora os resultados de Wentz (1986) e Bach et al. (2021), que descreveram mais de 85% de positividade de isolamento microbiano em amostras de urina de matrizes. De forma semelhante, o predomínio de *E. coli* também foi anteriormente descrito por Venancio et al. (2017). Lazzaretti et al. (2021) também demonstraram a presença de microrganismos de origem fecal ocasionando ITU em matrizes, apoiando a detecção dos gêneros *Escherichia*, *Enterococcus* e *Providencia* nas amostras estudadas.

Histologicamente, a cistite foi encontrada em 22,8% das fêmeas avaliadas, dado que diferiu dos achados macroscópicos de necropsia que apontavam lesões típicas ITU em 57,6% das fêmeas. Esses achados são similares aos descritos por Cernat et al. (2021), que relatam que as lesões macroscópicas em bexigas urinárias de fêmeas com quadro de cistite foram 5,6 vezes maiores quando comparadas às lesões histológicas. Esses autores também detectaram *E. coli* como a principal bactéria isolada em fêmeas com lesão histológica de cistite, corroborando os resultados do presente estudo.

Conclusão

O amplo crescimento bacteriano das amostras, mesmo com os cuidados adotados durante a coleta e até mesmo de fêmeas saudáveis, demonstra que o trato urinário da fêmea suína é intensamente colonizado por diferentes espécies. O exame histológico pode ser um método diagnóstico útil quando utilizado em conjunto com a identificação de agentes microbianos, porém deve-se atentar às limitações quanto à dificuldade de encontrar áreas colonizadas. Várias espécies bacterianas apresentaram frequência de isolamento semelhante em fêmeas com lesão histológica e sem lesão histológica; no entanto, espécies de reconhecido potencial de virulência como *Trueperella abortus* e *Streptococcus suis* foram isoladas exclusivamente nas fêmeas com lesão histológica em bexiga urinária.

Referências

- BACH, M. J. Uso racional de antibióticos para tratamento de infecção urinária em porcas. Dissertação mestrado. Palotina, 2021.
- CERNAT, M. et al. Urinary tract infections in culled sows from Greek herds: prevalence and associations between findings of histopathology, bacteriology and urinalysis. *Porcine Health Management*, v. 7, p. 33, 2021.

HIJAZIN, M. et al. Identification of *Trueperella* (*Arcanobacterium*) *bernardiae* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis and by species-specific PCR. *Journal of Medical Microbiology*, v. 61, p. 457-459, 2012.

LAZZARETTI, R. et al. Relação entre infecção urinária e problemas reprodutivos em matrizes suínas. *Simpósio Internacional de Suinocultura*, p. 109, 2021.

MEISTER, A.R. Efeito do cloreto de amônio, ácido cítrico e cloreto de sódio no controle de cistites em porcas. *Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP: Jaboticabal*, 2006.

SOBESTIANSKY, J. Doenças dos Suínos. Infecção urinária em fêmeas em produção. *Goiânia: Cãnone*, p. 127-141, 2007.

SOBESTIANSKY, J. et al. *Clínica e patologia suína: Goiânia*, 2 ed., 1999.

VENANCIO, L.F.B. et al. Microbiological aspects of *Escherichia coli* in urinary tract infections in sows of commercial farms in Sinop-MT. *Scientific Electronic Archives*, v. 10, p. 109-115, 2017.

WENTZ, I. et al. As infecções uterinas como causa de repetição de cobrição em porcas. *Comunicado Técnico Embrapa - CT / 112 / EMBRAPA-CNPSA*, p. 1-3, 1986.

Identificação da sensibilidade a antimicrobianos de *Salmonella Choleraesuis* e de *S. Typhimurium* presentes em uma vacina viva

Luciana Fiorin Hernig^{1*}
Elisa De Conti¹
Ricardo Tesche Lippke¹
Carolina Reck²
Aparecida Tatiana Fiúza¹
Angélica de Paula Teixeira¹
Fernando de Quadros¹

Identification of sensitivity to antimicrobials of Salmonella Choleraesuis and S. Typhimurium present in a live vaccine

¹ Boehringer Ingelheim, São Paulo, Brasil

² Verta Laboratórios, Curitiba, Brasil

*Correspondência: luciana.hernig@boehringer-ingelheim.com

Palavras-chave: Antibiograma. Resistência. Suínos.

Introdução

A salmonelose em suínos, causada principalmente pelos sorovares *Salmonella Choleraesuis* (SC) e *S. Typhimurium* (ST) variante monofásica, provoca prejuízos zootécnicos e financeiros. A salmonelose é endêmica em granjas no Brasil e está associada a casos de enterocolites e septicêmicos (Griffith et al., 2019; Meneguzzi et al., 2021). Entre as principais formas de prevenção dessa doença, destaca-se a vacinação. Há no mercado uma vacina viva para *Salmonella* aplicada por via oral, com *S. Typhimurium* e *S. Choleraesuis*. Neste sentido, o uso de antimicrobianos durante a janela de vacinação (3 dias antes da vacinação, no dia e 3 dias

depois) requer alguns cuidados (indicação do fabricante - bula da vacina). Desta forma, o objetivo deste estudo foi identificar a sensibilidade da *S. Choleraesuis* e *S. Typhimurium* desta vacina viva para os principais antimicrobianos usados a campo.

Material e métodos

O isolamento das cepas vacinais (vacina viva com ST e SC, cultura viva avirulenta, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc) de ST e SC foi realizado conforme Quinn et al. (2011), através das etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, seleção de colônias sugestivas e caracterização fenobioquímica. A fórmula antigênica foi determinada por soroaglutinação em lâmina de acordo com o esquema White-Kauffmann-Le Minor (Grimont et al., 2007) e confirmado através de PCR em tempo real (*in house*). O teste de suscetibilidade a antimicrobianos foi realizado através do método de disco-difusão (CLSI, 2023) para 43 antimicrobianos (Oxoid, Hampshire, UK): ácido nalidíxico (30 mcg); amicacina (30 mcg); amoxicilina (20 mcg) + clavulanato (10 mcg); amoxicilina (10 mcg); ampicilina (10 mcg); ampicilina + colistina (25/15 mcg); azitromicina (10 mcg); bacitracina (0,04 ui); cefalexina (30 mcg); cefalotina (30 mcg); cefovecina (30 mcg); ceftiofur (30 mcg); ceftriaxona (30 mcg); ciprofloxacina (5 mcg); clindamicina (2 mcg); cloranfenicol (30 mcg); colistina (10 mcg); doxiciclina (30 mcg); enrofloxacin (5 mcg); eritromicina (15 mcg); espectinomicina (100 mcg);

estreptomicina (10 mcg); florfenicol (30 mcg); fosfomicina (200 mcg); gamitromicina (15 mcg); gentamicina (10 mcg); lincomicina (2 mcg); marbofloxacina (5 mcg); neomicina (30 mcg); nitrofurantoina (300 mcg); norfloxacina (10 mcg); novobiocina (30 mcg); oxacilina (1 mcg); oxitetraciclina (15 mcg); penicilina (10 mcg); rifampicina (5 mcg); sulfa + trimetoprima (25 mcg); tetraciclina (30 mcg); tiamulina (30 mcg); tilmicosina (15 mcg); trimetoprima (5 mcg) e tulatromicina (30 mcg).

Resultados e discussão

Os resultados mostraram que a ST da vacina foi resistente a penicilina, oxacilina, eritromicina, lincomicina, rifampicina, bacitracina, clindamicina, tilmicosina, tiamulina, novobiocina. Esta apresentou sensibilidade intermediária às moléculas de cefalexina, gamitromicina, azitromicina, tulatromicina. A mesma apresentou-se sensível às demais moléculas testadas. Já a SC apresentou resistência aos antimicrobianos estreptomicina, tetraciclina, doxiciclina, oxitetraciclina, amoxicilina, penicilina, ampicilina, oxacilina, eritromicina, lincomicina, rifampicina, bacitracina, clindamicina, tilmicosina, tiamulina, novobiocina. Sensibilidade intermediária foi identificada nas moléculas de gamitro-

micina, azitromicina, tulatromicina e mostrou-se sensível aos outros antimicrobianos testados. Para fins de uso dos antimicrobianos durante a janela de vacinação com esta vacina, deve-se levar em consideração as moléculas às quais ambas as salmonelas são resistentes, evitando-se assim a morte destas e garantindo a eficácia do produto. A partir dos dados encontrados no estudo, os antimicrobianos que podem ser usados no período de aplicação da vacina, quando necessário, são penicilina, oxacilina, eritromicina, lincomicina, rifampicina, bacitracina, clindamicina, tilmicosina, tiamulina e novobiocina (Figura 1).

Conclusão

A vacinação é uma ferramenta eficaz na prevenção da salmonelose em suínos. O uso de vacina viva, aplicada por via oral, traz benefícios pela praticidade de aplicação e respeito ao bem-estar. Para evitar a perda da eficácia, deve-se ter cautela no uso de alguns antimicrobianos apenas durante a janela de vacinação (3 dias antes, no dia da vacinação e 3 dias depois), optando-se quando necessário por um princípio ativo contemplado na lista daqueles aos quais a *S. Choleraesuis* e a *S. Typhimurium* do produto são resistentes.

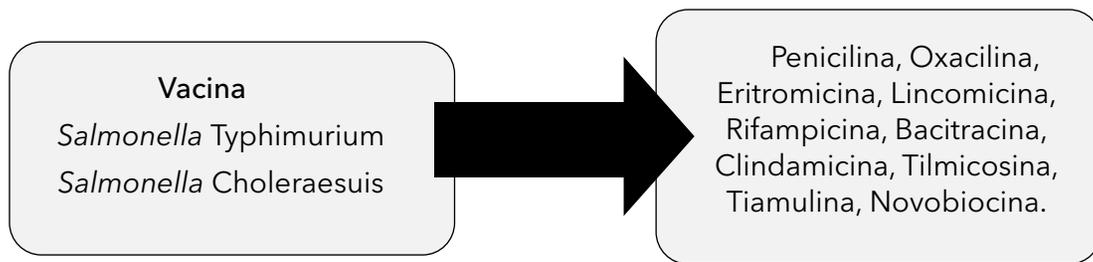


Figura 1 - Antimicrobianos aos quais ambas as *Salmonellas* da vacina (*S. Choleraesuis* e *S. Typhimurium*) são resistentes.

Referências

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI standard VET01S. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, 6 ed.; CLSI: Wayne, PA, USA, 2023.

GRIFFITH, R.W. et al. Salmonellosis. Disease of swine. 11 ed. John Wiley & Sons. p. 912-925, 2019.

GRIMONT, P.A.D.; WEIL, F.X. Antigenic formulae of the salmonella serovars, 9 ed.; WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella: Paris, France, 2007.

MENEGUZZI, M. et al. Re-emergence of salmonellosis in hog farms: outbreak and bacteriological characterization. Microorganisms. v.9, p.947, 2021.

QUINN, P.J. et al. Veterinary microbiology and microbial disease. 2 ed. Willey-Blackwell. 2011. 908 p.

Prevalência, perfil de sensibilidade e caracterização histopatológica de *Actinobacillus suis*

Marina Paula Lorenzetti*
Keila Catarina Prior
Suzana Satomi Kuchiishi

Prevalence, susceptibility profile and histopathological characterization of Actinobacillus suis

Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal - CEDISA, Concórdia Brasil

*Correspondência: marina@cedisa.org.br

Palavras-chave: Antibiograma. Prevalência. Suínos.

Introdução

Actinobacillus suis é um patógeno oportunista que coloniza o trato respiratório superior de suínos. A bactéria tem sido relatada como agente causador de septicemia e doença respiratória em suínos de diferentes idades, estando normalmente associado com granjas de elevado status sanitário e condições de estresse como desmame e transporte (Gottschalk e Broes, 2019; Kulathunga et al., 2022).

Os leitões lactentes e desmamados normalmente apresentam morte súbita, decorrente de septicemia fulminante, enquanto leitões de crescimento apresentam sinais clínicos respiratórios devido à pleuropneumonia. Já em animais reprodutores de elevado status sanitário, relata-se associação com septicemia aguda, aborto e lesões semelhantes à erisipela na pele (Kulathunga et al., 2022). O diagnóstico de *A. suis* é predominantemente realizado por isolamento bacteriano e confirmação a partir de testes bioquímicos (Carreon et al., 2010).

Esse trabalho tem por objetivo relatar a prevalência de *A. suis* em amostras enviadas ao laboratório Cedisa, bem como o perfil de sensibilidade a antimicrobianos destes isolados e sua caracterização histopatológica.

Material e métodos

No período de janeiro de 2021 a junho de 2023, foram avaliadas 130 amostras em que houve o isolamento e identificação de *A. suis* através de características fenotípicas (Quinn et al., 2011). O perfil de sensibilidade a antimicrobianos foi realizado pela técnica de difusão em disco e os critérios de interpretação conforme CLSI (2018) e a caracterização histopatológica das lesões observadas nestes casos.

Resultados e discussão

Na avaliação do banco de dados do laboratório, verificou-se que dos 130 isolados, 20 foram de animais em fase de maternidade, 3 em fase de creche, 105 de terminação e 2 matrizes. *A. suis* foi encontrado predominantemente em suínos em fase de terminação, pois nessa fase está associado a quadros respiratórios e, portanto, coincidindo com o envio frequente de amostras para isolamento bacteriano. Santos et al. (2021), encontraram resultados semelhantes em uma avaliação de 2017 a 2019 com animais em fase de crescimento e terminação, onde 60% dos animais positivos pertenciam a essa fase de produção. Ainda, em um estudo canadense, MacInness et al. (2008) evidenciaram que possivelmente até 94% dos rebanhos avaliados estavam infectados com *A. suis*, ainda que nem sempre estivessem associados a sinais clínicos.

As amostras analisadas possuem origem de sete estados brasileiros, predominando a região Sul, maior região produtora de suínos, sendo 53 isolados do Paraná, 35 de Santa Catarina, 21 do Rio Grande do Sul, 6 de Minas Gerais, 6 do Mato Grosso do Sul, 7 de Goiás e 2 de São Paulo. Em relação ao perfil de suscetibilidade a antimicrobianos, observa-se que até o momento o *A. suis* apresenta ainda bastante sensibilidade frente aos dezoito princípios ativos testados nesse período (Figura 1). A menor sensibilidade apresentada foi à penicilina.

As lesões histopatológicas observadas são muito semelhantes entre os casos avaliados ao longo desse período. Nos quadros septicêmicos, observam-se focos de necrose em múltiplos órgãos, com presença de bactérias. Já nos quadros respiratórios, identifica-se exsudação fibrinosa associada à necrose e hemorragia com presença de bactérias intralésionais, quadro semelhante ao causado por *Actinobacillus pleuropneumoniae*. O diagnóstico histopatológico é confirmado com a associação do isolamento bacteriano.

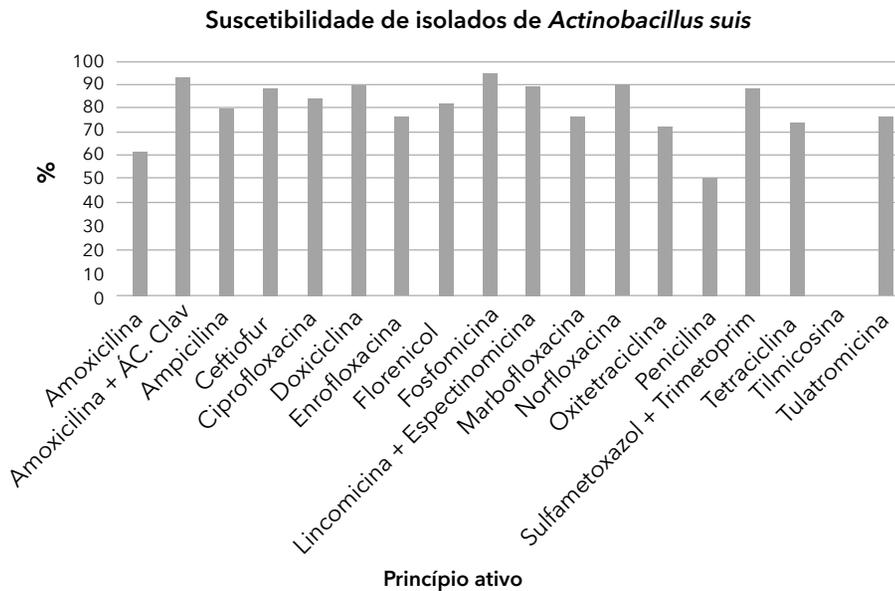


Figura 1 - Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Actinobacillus suis*, no período de janeiro de 2021 a junho de 2023.

Conclusão

O número de casos de actinobacilose causada por *A. suis*, associada a enfermidades septicêmicas e respiratórias, aumentou nos últimos anos. Maior sensibilidade foi encontrada para os antimicrobianos tilmicosina, fosfomicina, amoxicilina + ácido clavulânico, doxiciclina e norfloxacina. No exame histopatológico as lesões caracterizam-se por focos de necrose e de pleuropneumonia.

Referências

CARREON, R.S. et al. Toxinas e perfil protéico de amostras de *Actinobacillus suis* provenientes de plantéis suínos norte-americanos. *Ciência Rural*, v.40, n.9, p.1993-1997, 2010.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 4 ed. CLSI supplement VET08. Pennsylvania, 2018.

GOTTSCHALK M.; BROES, A. Actinobacillosis. In: Zimmerman J. et al. (Eds.). *Diseases of swine*. 11 ed. Hoboken: Wiley. 2019. p. 762-3.

KULATHUNGA, D.G.R.S. et al. *Actinobacillus suis* isolated from diseased pigs are phylogenetically related but harbour different number of toxin gene copies in their genomes. *Veterinary Record Open*, v.2, n.45, p. 1-8, 2022.

MACINNES et al., 2008. Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, and *Streptococcus suis* in representative Ontario swine herds. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, v.72, p. 242-248, 2008.

QUINN, P. J. et al., 2011. Enterobacteriaceae. In: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2 ed, Ames: Wiley-Blackwell cap. 24, p. 263-286.

SANTOS, L.F. et al. Aumento da ocorrência de *Actinobacillus suis* no Brasil. *SINSUI*; 6 a 8 de julho de 2021; Porto Alegre. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2021.

Perfil de resistência a antibióticos de sorotipos de *Streptococcus suis* associados a diferentes quadros clínicos

Carolina Reck¹
Jean Carlo Olivo Menegatt^{2,3}
Álvaro Menin^{1,3*}

Antibiotic resistance profile of Streptococcus suis serotypes associated with different clinical cases

¹ Departamento de Pesquisa e Inovação, VERTÁ Laboratórios, Curitiba, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

³ Departamento Biociências e Saúde Única, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, Brasil

*Correspondência: alvaro.menin@ufsc.br

Palavras-chave: Antimicrobianos. Estreptococose. Suínos.

Introdução

A estreptococose, doença ocasionada por *Streptococcus suis*, pode se apresentar em diferentes formas clínicas em suínos, incluindo meningite, poliartrite, endocardite, pneumonia, septicemia e polisserosite (Gottschalk e Segura, 2019). Atualmente, 29 sorotipos de *S. suis* são conhecidos, todos potencialmente capazes de desencadear quadros clínicos (Segura et al., 2020). Na ocorrência da estreptococose, o uso de antimicrobianos é comum como forma de tratamento, porém tem-se observado resistência a cepas de *S. suis*, além de diferentes padrões de resistência antimicro-

biana de acordo com a localização geográfica (Goyette-Desjardins et al., 2014). O objetivo do presente trabalho foi investigar o perfil de resistência a antimicrobianos de sorotipos de *S. suis* isolados de diferentes quadros clínicos em suínos no Brasil.

Material e métodos

Ao total, 327 isolados de *S. suis* obtidos de diferentes quadros clínicos de infecção em suínos foram utilizados como objeto deste estudo. Amostras provenientes de swabs e/ou de fragmentos de órgãos coletados de amostras clínicas foram submetidos ao isolamento bacteriano em ágar sangue com 5% de sangue desfibrilado ovino, a 37 °C, por 24/48 horas, em aerobiose, caracterizado fenobioquimicamente (Quinn et al., 2011) e confirmado através da reação da cadeia da polimerase (PCR) (Kerdsin et al., 2014). A tipificação de *S. suis* foi realizada através da PCR, como descrito por Kerdsin et al. (2014). Extração de DNA foi realizada a partir das colônias isoladas com kit comercial (Mag MAX™ CORE Nucleic Acid Purifications, Thermo Fisher Scientific) seguindo as recomendações do fabricante. O teste de suscetibilidade a antimicrobianos foi realizado através do método de disco-difusão (CLSI, 2023).

Resultados e discussão

Os isolados foram obtidos de amostras clínicas de casos de pneumonia, meningite, artrite e septicemia,

respectivamente, em ordem decrescente de frequência, conforme Tabela 1. Os sorotipos identificados em cada quadro clínico estão discriminados na mesma tabela. Na Tabela 2, apresenta-se o perfil de resistência aos antimicrobianos testados, segundo a sensibilidade para cada droga. Nos 327 isolados de diferentes sorotipos de *S. suis* provenientes de amostras clínicas, observou-se alta resistência a várias drogas. Multirresistência a antimicrobianos também foi apresentada em outros estudos conduzidos com isolados de *S. suis* (Soares et al., 2014; Hernandez-Garcia et al., 2017; Arndt et al., 2019; Matajira et al., 2019; Werinder et al., 2020). Chama atenção neste trabalho a alta resistência à penicilina, comumente utilizada em granjas do Brasil em casos de estreptococose. Em estudos anteriores, apesar de detectada resistência à penicilina, normalmente havia sensibilidade das cepas de *S. suis* a esta droga (Varela et al. 2013; Hernandez-Garcia et al., 2017; Matajira et al., 2019). Aumento da resistência à penicilina vem sendo reportado também em pesquisas recentes na Suécia, assim como para tetraciclina (Werinder

et al., 2020), esta última com resistência muito semelhante à observada no presente estudo. Trabalhos conduzidos no Brasil também vêm demonstrando alta resistência de *S. suis* à tetraciclina e a alguns macrolídeos, com maior sensibilidade a beta-lactâmicos e florfenicol (Matajira et al., 2019), à semelhança do observado neste estudo (alta sensibilidade à amoxicilina, principalmente associada ao clavulanato, e ao florfenicol).

Além disso, dados de tipificação de *S. suis* no Brasil são escassos (Segura, 2020; Santos et al., 2022). Recentemente, Matajira et al. (2019), em estudo retrospectivo de isolados de *S. suis* no Brasil entre 2001 e 2016, encontraram maior prevalência dos sorotipos 2, 1/2, 3 e 7 e não encontraram o sorotipo 9, por exemplo, que foi encontrado nas diferentes apresentações clínicas da presente pesquisa. Esse aumento da variabilidade de sorotipos identificados no Brasil e maior ocorrência de surtos de estreptococose recentes (Hammerschmitt et al., 2022) também podem estar associados ao maior uso de antimicrobianos e subsequente aumento da resistência bacteriana.

Tabela 1 - Principais sorotipos de *Streptococcus suis* associados a diferentes quadros clínicos em suínos

Forma clínica	Porcentagem	Número de casos	Principais sorotipos envolvidos
Pneumonia	38,8	127	1; 2; 7; 9; 11; 14; 16
Meningite	31,2	102	1; 3; 7; 9; 14; 16
Artrite	21,7	71	7; 9; 16
Septicemia	8,3	27	7; 9
Total	100	327	----

Tabela 2 - Perfil de resistência a antibióticos de 327 isolados de *Streptococcus suis* de diferentes quadros clínicos

Antibiótico testado	Sensibilidade (%)	Antibiótico	Sensibilidade (%)
Amoxicilina+ clavulanato	98,5	Norfloxacina	59,0
Amoxicilina	97,0	Espectinomicina	54,5
Florfenicol	95,5	Ciprofloxacina	51,6
Fosfomicina	90,9	Enrofloxacina	47,7
Ceftiofur	89,8	Gentamicina	46,4
Doxiciclina	89,8	Sulfa + Trimetoprima	46,2
Ampicilina	87,5	Estreptomomicina	45,8
Cefalotina	85,7	Penicilina	43,9
Eritromicina	84,6	Neomicina	29,4
Marbofloxacina	75,0	Lincomicina	25,0
Lincomicina+ espectinom.	68,8	Tetraciclina	11,8
Oxacilina	60,0	Cefalexina	11,1

Conclusão

Amostras clínicas de infecção por *S. suis* foram obtidas de quadros de pneumonia, meningite, artrite e septicemia. Observou-se perfil de multirresistência para vários antibióticos testados, nos diferentes sorotipos de *S. suis* identificados, com elevada resistência à penicilina. Maior sensibilidade antimicrobiana foi observada à amoxicilina + clavulanato, amoxicilina e florfenicol. O isolamento bacteriano, seguido do teste antimicrobiano, é fundamental para evitar o aumento da resistência bacteriana e auxiliar nas estratégias de controles.

Referências

- ARNDT, E.R. et al. Antimicrobial resistance of *Streptococcus suis* isolates recovered from clinically ill nursery pigs and from healthy pigs at different stages of production. *Canadian Veterinary Journal*, v. 60, p. 519-522, 2019.
- GOTTSCHALK M; SEGURA, M. Streptococcosis. In: Zimmerman J.J. et al. (Eds). *Diseases of Swine*. 11 ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2019. p. 934-950.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI standard VET01S. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, 6 ed. Wayne: CLSI, 2023.
- GOYETTE-DESJARDINS, G. et al. *Streptococcus suis*, an important pig pathogen and emerging zoonotic agent - An update on the worldwide distribution based on serotyping and sequence typing. *Emerging Microbes & Infections*, v. 3, p. 1-20, 2014.
- HAMMERSCHMITT, M. E. et al. Clinical and pathological aspects of an outbreak of *Streptococcus suis* serotype 9 infection in pigs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 42, 2022.
- HERNANDEZ-GARCIA, J. et al. Patterns of antimicrobial resistance in *Streptococcus suis* isolates from pigs with or without streptococcal disease in England between 2009 and 2014. *Veterinary Microbiology*, v. 207, p. 117-124, 2017.
- KERDSIN, A. et al. *Streptococcus suis* serotyping by a new multiplex PCR *Journal of Medical Microbiology*, 63, 824-830 2014.
- MATAJIRA, C.E.C. et al. *Streptococcus suis* in Brazil: genotypic, virulence, and resistance profiling of strains isolated from pigs between 2001 and 2016. *Pathogens*, v. 9, n. 1, p. 31, 2020.
- SEGURA, M. et al. Update on *Streptococcus suis* research and prevention in the era of antimicrobial restriction. 4th International Workshop on *S. suis*. *Pathogens*, v. 9, n. 5, p. 374, 2020.
- SOARES, T.C. et al. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from clinically healthy swine in Brazil. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 78, p. 145-149, 2014.
- VARELA, N. et al. Antimicrobial resistance and prudent drug use for *Streptococcus suis*. *Animal Health Research Reviews*, v. 14, p. 68-77, 2013.
- WERINDER, A. et al. *Streptococcus suis* in Swedish grower pigs: occurrence, serotypes, and antimicrobial susceptibility. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 62, n. 36, 2020.

Antibiotic reduction and control of Glässer's disease through vaccination

Redução de antibiótico e controle da doença de Glässer pela vacinação

Tatiana Carolina G. Dutra de Souza*
Thaís Gasparini Baraldi

HIPRA Saúde Animal, Porto Alegre, Brazil

*Correspondence: tatiana.souza@hipra.com

Keywords: Heterologous protection. Performance. Polyserositis.

Introduction

Glaesserella (Haemophilus) parasuis is a Gram-negative bacterium, known by causing the Glässer's disease (GD), characterized by polyserositis, polyarthrititis and meningitis. For an accurate diagnosis, pleural, peritoneum, joints, and meninges fluids sampling are preferred (Blanco-Fuertes et al., 2022). A total of 15 *G. parasuis* serotypes were identified and serotypes 4 and 5 are the most frequently identified in Brazil (Silva et al., 2022). However, the association of non-pathogenic serotypes, such as 7, with GD outbreaks has been increasing in the past few years (Dazzi et al., 2020). This current scenario may be caused by the emergence of different strains associated with the misconduct of antibiotic therapy, which promotes antibiotic-resistant strains, in association with management conditions used. In outbreaks, antibiotic treatments are essential to decrease clinical symptoms and mortality losses. However, due to the increasingly frequent outbreaks associated with different serotypes in addition to the antibiotic resistance found, immunoprophylaxis is the most assertive prevention of GD. But, due to multi serotypes outbreaks plus antibiotic resistance, focus on immunoprophylaxis is the most assertive prevention for GD. Vaccination can ensure an adequate level of

antibodies in, controlling the circulation and excretion of *G. parasuis* (Blanco-Fuertes et al., 2022). The aim of this study was to evaluate the effect on the performance and mortality of piglets in the nursery and finishing stages under field conditions with a vaccine containing *G. parasuis* serotype SV1 and SV-6 of vaccination against GD.

Material and methods

The trial was performed in a swine farm in Paraná state. A total of 22,271 piglets were studied and divided into 2 groups with 25 replicates each. Group 1 (control) (n = 11,136), piglets and their mothers were not vaccinated. Group 2 (n = 11,135), piglets were vaccinated at 3 days of age and at weaning, and their mothers were vaccinated 6 weeks prior to farrowing and 21 days later. The vaccine used was against Glasser's disease (2 ml intramuscular per shot) composed of the *G. parasuis* serotype SV1 (SV-1 $\geq 2 \times 10^9$) and SV-6 (SV-6 $\geq 2 \times 10^9$). During the nursery and finished periods, average daily gain (ADG), feed conversion ratio (FCR), days to reach slaughter weight, total mortality, and mortality from symptoms suggestive of Glasser's disease (neurological symptoms, arthritis, and sudden death), and antibiotic treatments were recorded, and the cost per pig produced was calculated. Animals dead by symptoms suggestive of GD were necropsied and material was collected (polyserositis, coordination and brain), by transfer, to carry out research

on *G. parasuis* by PCR. Positive selections for *G. parasuis* were serotyped. Statistical analyses were performed with the software R.

Results and discussion

The evaluated data are compiled in Table 1. The total mortality rate for G1 and G2 was 7.13% and 1.93%, respectively, and the mortality preceded by symptoms suggestive of GD was 6.17% and 0.8% in non-vaccinated and vaccinated piglets. The mortality fattening pigs demonstrates that *G. parasuis* can cause the DG until this period of production, since for the nursery period the DG is already well elucidated. In addition, no samples (0/16) of vaccinated piglets which died during this study were positive for *G. parasuis*. All samples (16/16) of dead piglets of non-vaccinated group were positive for *G. parasuis*. Of these positive samples, serotypes 5 (68%; 11/16), SV-2 (31%; 5/16) and SV-13 (25%; 4/16) were detected and 12% (2/16) were non-serotypeable.

From weaning to slaughter, non-vaccinated piglets consumed medicated feed for 107 days, while vaccinated piglets consumed it for 72 days. Furthermore, the amount

of mg of antibiotic consumed per kg of pig in the vaccinated group was 317, below the Brazilian average, which is 350 mg (Dutra et al., 2021), against 428 mg in the non-vaccinated group. Vaccinated animals showed better FCR and ADG in the nursery and fattening phases (449 g and 975 g, respectively) when compared to the non-vaccinated group (399 g and 970 g), which reduced by 4 days the time for the animals to vaccinated reached slaughter weight. These results demonstrate that the circulation of more than one serotype in the same farm may be enabled to cause more GD clinical cases and increase the mortality and the use of antibiotic. Also, highlighted about the possibility of more serotypes circulating and causing GD on Brazilian herds, once, few serotypes, such as 4 and 5, are associated with GD in Brazil by reported literature (Silva et al., 2022) and 7 (Dazzi et al., 2020).

Conclusion

The results obtained in this study demonstrate the importance of vaccination against Glasser's Disease to control the disease and to reduce antibiotic therapy in pig farming.

Table 1 - Key performance index of vaccinated and non-vaccinated groups for Glässer's disease (GD)

	Non-vaccinated	Vaccinated
Average gain in nursery (g/day)	399 ^b	449 ^a
Average gain in fattening (g/day)	970 ^a	975 ^a
Feed conversion ratio	2.34 ^a	2.19 ^a
Days to reach slaughter weight	164	160
Mortality suggestive of GD in nursery (%)	3.56% (363/10173) ^a	0.65% (69/10455) ^b
Mortality suggestive of GD in fattening (%)	2.61% (257/9810) ^a	0.15% (16/10386) ^b
mg of antibiotic per kg of pig produced	428 ^a	317 ^b
Cost per pig produced (BRL)	243.45	238.23
Antibiotic consumption (days)	107 ^a	72 ^b

Note: Superscripts indicate statistically significant differences within the main effect ($p \leq 0.005$).

References

- BLANCO-FUERTES, M. et al. Sow vaccination against virulent *Glaesserella parasuis* shapes the nasal microbiota of their offspring. *Scientific Reports*. v.12, p.3357, 2022.
- DAZZI, C.C. et al. New pathological lesions developed in pigs by a "non-virulent" strain of *Glaesserella parasuis*. *Frontiers in Veterinary Science*. v.7, n.98, 2020.
- DUTRA M.C. et al. Antimicrobial use in Brazilian swine herds: assessment of use and reduction examples. *Microorganisms*. v. 4, p.881, 2021.
- SILVA, G.F.R. et al. Serotyping and antimicrobial susceptibility profiling of *Glaesserella parasuis* isolated from diseased swine in Brazil. *Pathogens*. v.11, p.1443, 2022.

Infecção por *Actinobacillus suis* associada a quadros de pleuropneumonia necrohemorrágica e septicemia em suínos

Emili Camerini¹
Ana Karolina Panneitz²
Jean Carlo Olivo Menegatt¹
Carolina Reck³
Álvaro Menin^{1,3*}

Actinobacillus suis
infection associated
with necrohemorrhagic
pleuropneumonia and
septicemia in pigs

¹ Departamento Biociências e Saúde Única, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, Brasil

² Laboratório de Medicina de Suínos, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil

³ Departamento de Pesquisa e Inovação, VERTÁ Laboratórios, Curitibanos, Brasil

*Correspondência: alvaro.menin@ufsc.br

Palavras-chave: Diagnóstico. Morte súbita. Pneumonia.

Introdução

Actinobacillus suis é o agente etiológico da actinobacilose em suínos, doença infectocontagiosa caracterizada por quadros de pneumonia, artrite, septicemia e morte súbita, que ocorre geralmente na forma de surtos (Ojha et al., 2010). *A. suis* pode fazer parte da microbiota de animais saudáveis e ser isolado de nasofaringe, tonsilas palatinas e mucosa do sistema reprodutor, o que permite que o agente possa desencadear

quadros infecciosos graves mesmo em rebanhos com alto status sanitário (Zimmerman et al., 2019). A infecção pode acometer animais das diferentes fases de criação e se apresentar primariamente através da forma septicêmica, que cursa com morte súbita, ou forma pneumônica. Neste contexto, o diagnóstico laboratorial é de extrema importância para o diagnóstico diferencial de actinobacilose nos quadros clínicos que cursam com pneumonia e septicemia ou morte súbita.

O objetivo deste trabalho foi descrever os diferentes quadros clínico-patológicos associados à infecção por *A. suis* e amostras clínicas de preferência para isolamento do agente.

Material e métodos

Foram realizadas 36 necropsias em cinco granjas de terminação no sul do Brasil. Diferentes lotes apresentavam quadros clínico-patológicos de pneumonia e morte súbita. Por ocasião da necropsia, em animais que apresentavam quadro respiratório, observou-se consolidação pulmonar multifocal associada a extensas áreas de hemorragia, com deposição de fibrina sobre a pleura, caracterizando quadro de pleuropneumonia. Nos casos de morte súbita, os animais apresentavam intensa congestão em múltiplos órgãos, além de edema e hemorragia pulmonares severos. Foram coletadas, de forma asséptica, amostras clínicas de diferentes órgãos/tecidos (articulação, baço, cérebro, fígado, pericárdio,

pulmão, tonsilas e sangue) para cultura e isolamento bacteriano. O processamento microbiológico foi realizado no VERTÀ Laboratórios. As amostras foram cultivadas em ágar sangue com 5% (v/v) de sangue ovino e incubadas 24 horas a 37 °C. Posteriormente, as colônias foram caracterizadas fenotipicamente e bioquimicamente (Quinn et al. 2011) e o diagnóstico confirmado através do ensaio de PCR em tempo real (qPCR) (Kulathunga et al., 2022).

Resultados e discussão

Com base nos achados clínico-patológicos e microbiológicos foi possível caracterizar duas formas clínicas de actinobacilose: septicêmica (38,89%; 14/36) e pleuropneumonia (61,11%; 22/36), conforme Tabela 1. O número de isolados de *A. suis* de acordo com o quadro clínico e amostras clínicas para ensaio microbiológico, de acordo com o sítio de coleta, também são apresentados. Em relação às amostras clínicas visando o isolamento do *A. suis*, observou-se que o pulmão e as tonsilas permitiram maior frequência de isolamento (88,89%; 32/36 e 86,11%; 31/36). Esse patógeno, entretanto, é comensal do trato respiratório superior dos suínos, podendo se apresentar como um agente oportunista sob condições de estresse. Com isso, seu isolamento deve ser sempre relacionado com achados clínico-patológicos. Nos quadros de septicemia, melhores resultados de isolamento foram observados em

amostras de sangue (100%; 14/14), fígado e baço (92,86%; 13/14) e cérebro (85,71%; 12/14). Já nos quadros de pleuropneumonia, em que as lesões predominantes foram de pleuropneumonia necrohemorrágica, as melhores amostras clínicas foram pulmão (100%; 22/22) e tonsilas (86,36%; 19/22). Os achados remetem à necessidade de orientar a coleta da amostra de acordo com a forma clínica para garantir o diagnóstico diferencial tanto para etiologias associadas a quadros de pneumonia quanto para septicemia ou morte súbita. A emergência e/ou reemergência de agentes como *A. suis* deve ser considerada nas estratégias de diagnóstico, monitoramento e estabelecimento de medidas preventivas de controle e prevenção devido ao alto potencial de impacto econômico do agente nos rebanhos nas diferentes fases ou idades (Ojha et al., 2010; Kulathunga et al., 2022).

Conclusão

A análise clínica e anatomopatológica permite caracterizar de forma eficiente os quadros de pleuropneumonia necrohemorrágica e septicemia, apresentações típicas da actinobacilose suína. Além disso, permite orientar de forma definitiva a coleta das amostras clínicas para maior eficiência do isolamento ou detecção do agente no diagnóstico diferencial, fundamental para direcionar os protocolos de tratamento e prevenção.

Tabela 1 - Quadros clínico-patológicos e amostras clínicas destinadas ao isolamento de *Actinobacillus suis* em suínos

Quadro clínico-patológico	Nº de casos	Amostra clínica							
		Articulação	Baço	Cérebro	Fígado	Pericárdio	Pulmão	Tonsila	Sangue
Septicemia	14	2	13	12	13	4	10	11	14
Pleuropneumonia	22	0	2	0	3	5	22	19	4
Total isolados	36	2	15	12	16	9	32	31	18

Referências

KULATHUNGA, G. R. S. D. et al. *Actinobacillus suis* isolated from diseased pigs are phylogenetically related but harbour different number of toxin gene copies in their genomes. *Vet Rec Open.*, v. 9, n. 41, p. 1-8, 2022.

OJHA, S. et al. Characterization of colonization-deficient mutants of *Actinobacillus suis*. *Veterinary Microbiology*, v. 140, p. 122 - 130, 2010.

QUINN, P. J. et al. *Veterinary microbiology and microbial disease*. 2 ed. Willey-Blackwell. 2011. 908 p.

ZIMMERMAN, J. J. et al. *Disease of Swine*. 11 ed. Hoboken: Wiley Blackwell, 2019.

Prevalência de agentes infecciosos e genotipagem de PCV-2 em fetos mumificados e natimortos coletados em Santa Catarina e Rio Grande do Sul em 2023

Kairon Adam Franz^{1*}
Andrea Micke Moreno²
Luisa Zanolli Moreno²
Dalvan Carlo Veit¹
Dener Paulo Três¹
Erica Azevedo Costa³
Erico Granado Franco¹
Vinícius Fernandes¹

Prevalence of infectious agents and PCV-2 genotyping in mummified and stillborn fetuses collected in Santa Catarina and Rio Grande do Sul in 2023

¹ Zoetis INC., São Paulo, Brasil

² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

*Correspondência: kairon.franz@zoetis.com

Palavras-chave: Circovírus suíno tipo 2. Genotipagem. Reprodução.

Introdução

A suinocultura moderna emprega um elevado nível tecnológico para a expressão da produtividade, porém as perdas reprodutivas em mumificados e natimortos são relevantes, onde a média nacional aponta 2,21% e 5,98%, respectivamente, somando a importância de

8,19% (Herdt et al., 2019; Agriness, 2022). As causas podem ser de origens não infecciosas, relacionadas à limitação de espaço intrauterino, capacidade de irrigação placentária, micotoxinas e estresses diversos, porém existem as causas de origens infecciosas, ocasionadas pelo circovírus suíno tipo 2 (PCV-2) e tipo 3 (PCV-3), parvovírus suíno (PVV), *Leptospira* spp. e *Erysipelothrix rhusiopathiae*, culminando em mortalidade fetal (Barcellos e Guedes, 2022). Desta forma, o presente estudo tem por objetivo verificar a prevalência dos agentes infecciosos e genotipar as amostras positivas de PCV-2 de fetos mumificados e natimortos, oriundos de granjas comerciais de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, no ano de 2023.

Material e métodos

Em 2023, 103 fetos mumificados e natimortos foram amostrados de 17 unidades produtivas, distribuídas nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. As amostras foram destinadas para o Laboratório de Sanidade Suína (FMVZ-USP). Para fins de análise, foi realizada a coleta de *pool* de órgãos (pulmão, rim, fígado e baço) e conteúdo gástrico de cada feto. O DNA total das amostras foi extraído usando kit DNeasy® Blood & Tissue (QIAGEN), seguindo as recomendações do fabricante. A concentração final e a qualidade do DNA

foram aferidas no equipamento NanoDrop® 2000, antes de serem utilizadas para amplificação. A detecção de PCV-2, PCV-3, PVV, *Leptospira* spp. e *E. rhusiopathiae* foi realizada pela técnica de PCR. As 26 amostras positivas para PCV-2 foram submetidas na Universidade Federal de Minas Gerais à tipagem para identificação dos genótipos PCV2a, PCV2b e PCV2d, sendo que seis foram caracterizadas por PCR convencional com *primers* específicos que amplificam parte do gene que codifica a ORF2, de acordo com Kwon et al. (2017). Outras 20 amostras foram analisadas por qPCR (Kylt - SAN Group Biotech, Alemanha), no Laboratório de Sanidade Suína (FMVZ-USP).

Resultados e discussão

Do total de 103 fetos avaliados, 27,2% (28/103) das amostras foram positivas para PCV-2, 15,2% (10/103) para PCV-3, 0,97% (1/103) para PVV e nenhuma amostra foi positiva para *Leptospira* spp. e *E. rhusiopathiae*, conforme Figura 1. Já a genotipagem de PCV2 indicou que 15%

(4/26) das amostras positivas apresentaram o genótipo PCV-2a, 100% (26/26) dos fetos possuíam o genótipo PCV-2b e 12% (3/26) foram positivas para PCV-2d, sendo que 19% possuíam coinfeção entre genótipos de PCV-2 (Figura 2). Os resultados acima citados corroboram demais trabalhos que descrevem a redução de casos de *E. rhusiopathiae* e *Leptospira* spp. no campo, seguidos de PVV, sendo PCV-2 mais prevalente (Rocha et al., 2010; Herdt et al., 2019; Fiúza et al., 2022), enquanto observa-se redução na ocorrência de PCV-3 com o passar dos anos, quando comparado com estudos anteriores (Martins, 2020; Fiúza et al., 2022). Os achados de genotipagem corroboram os demais estudos que indicam que no Brasil o genótipo PCV-2b é o mais frequente e que coinfeções são comumente observadas (Franz et al., 2023; Lippke et al., 2023). A identificação do genótipo PCV-2a é digna de nota, visto que demais trabalhos não detectaram este genótipo desde 2018 no Brasil (Souza et al., 2020; Nascimento et al., 2021; Franz et al., 2023; Lippke et al., 2023, Panzardi, 2023).

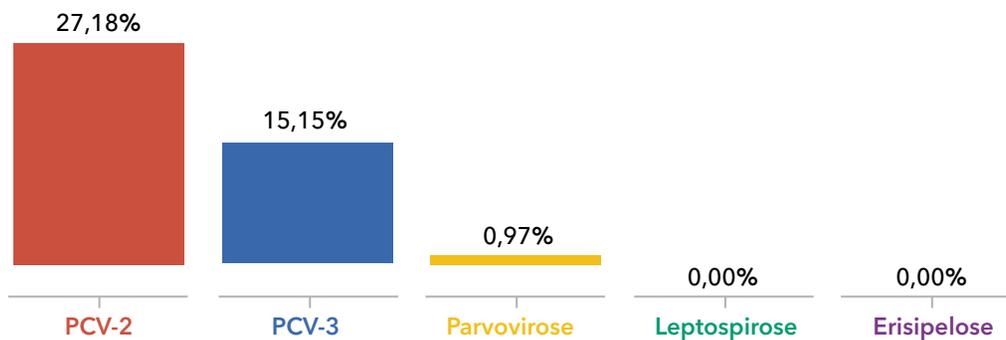


Figura 1 - Prevalência de agentes infecciosos em amostras de fetos.

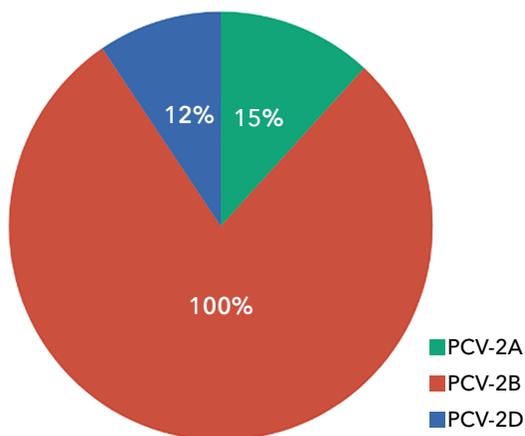


Figura 2 - Prevalência de genótipos de PCV-2 em amostras de fetos.

Conclusão

Dos agentes infecciosos pesquisados, PCV-2 apresentou a maior ocorrência, com 27,18% de positividade nos fetos, sendo identificados os genótipos PCV-2a, PCV-2b e PCV-2d nas amostras fetais. Desta forma, a ampliação da cobertura imunológica para esse agente pode ser uma importante estratégia no controle da infecção e das falhas reprodutivas.

Referências

- AGRINESS. Relatório anual do desempenho da produção de suínos - 15 ed. 2022.
- BARCELLOS, D.; GUEDES, C.M.R. Doenças dos suínos. 3.ed, p. 313-327, 2022.

HERDT, G. et al. High prevalence of porcine circovirus 2, porcine parvovirus, and pathogenic leptospire in mummified swine fetuses in southern Brazil. *Ciência Rural*, v.49, n.4, 2019;

KWON, T. et al. Genotypic diversity of porcine circovirus type 2 (PCV2) and genotype shift to PCV2d in Korean pig population. *Virus Research*, v. 228, p. 24-29, 2017.

FIÚZA, A.T.L. et al. Frequência de agentes patogênicos detectados em fetos mumificados e natimortos no Brasil. *Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos VI*, 2022.

FRANZ, K.A. et al. Prevalência dos genótipos de PCV-2 circulantes em granjas comerciais vacinadas no Brasil, coletadas em 2021 e 2022. *Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos VII*, 2023.

LIPPKE, R.T. et al. Genotipagem de circovírus suíno tipo 2 (PCV-2) em granjas comerciais vacinadas na região sul do Brasil, entre 2020 e 2022. *Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos VII*, 2023.

MARTINS, M. Full-genome sequences of porcine circovirus 3 (PCV3) and high prevalence in mummified fetuses from commercial farms in Brazil. *Microbial Pathogenesis*.141. 2020.

NASCIMENTO, H.I.J. et al. Genotipagem de circovírus suíno tipo 2 (PCV2) em granjas comerciais brasileiras vacinadas, de amostras coletadas no ano de 2019, *Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos V*, 2021.

PANZARDI, A. Vinte anos de Circovírus no Brasil: Qual é o vírus de hoje. *3Tres3 [Internet]*. 2020. [Link](#)

ROCHA, D.L. et al. Identificação do circovírus suíno tipo 2 e do parvovírus suíno em fetos suínos natimortos e mumificados provenientes de granjas no Brasil. *Ci. Anim. Bras., Goiânia*, v. 11, n. 3, p. 600-606, 2010.

SOUZA, J.P. et al. Genótipos e diversidade de circovírus suíno tipo 2 (PCV-2) associados à doença clínica em suínos entre 2017-2022 no Brasil. *Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos VII*, 2023.

Eficácia de vacina contra *Mycoplasma hyopneumoniae* utilizando sílica nanoestruturada SBA-15 como adjuvante

Efficacy of a vaccine against Mycoplasma hyopneumoniae using nanostructured silica SBA-15 as an adjuvant

Fernando A. M. Petri¹
Clarisse S. Malcher¹
Marina L. Mechler-Dreibi²
Eduarda R. Braga¹
Ana K. Panneitz¹
Gabriel A. Aguiar¹
Isabela P. Rabelo¹
Leonardo T. Toledo³
Tereza S. Martins⁴
Márcia C. A. Fantini⁵
Oswaldo A. Sant'Anna⁶
Luís Guilherme de Oliveira^{1*}

¹ Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil

² Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, Brasil

³ Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

⁴ Departamento de Química, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, Brasil

⁵ Instituto de Física, Universidade de São Paulo, Brasil

⁶ Instituto Butantã, São Paulo, Brasil

*Correspondência: luis.guilherme@fcav.unesp.br

Palavras-chave: Consolidação pulmonar. Nanotecnologia. Pneumonia enzoótica.

Introdução

Mycoplasma hyopneumoniae, o principal agente causador da pneumonia enzoótica suína (PES), é amplamente disseminado na suinocultura, causando perdas significativas. Embora as vacinas comerciais minimizem as lesões pulmonares e os sinais clínicos, elas não conseguem impedir a colonização e a excreção do patógeno (Maes et al., 2021). Neste estudo, desenvolveu-se uma vacina parenteral intramuscular de

dose única contra *M. hyopneumoniae*, utilizando a sílica SBA-15 como adjuvante e proteínas celulares da cepa 232 de *M. hyopneumoniae*.

Material e métodos

Aos 21 dias de vida, 39 leitões livres de *M. hyopneumoniae* foram alojados no Laboratório de Medicina de Suínos (FCAV/Unesp), receberam água *ad libitum* e ração de acordo com o indicado para a fase. Após aclimação, aos 24 dias de vida (D0), foram divididos em três grupos (n = 13) com diferentes tratamentos: G1 (vacina comercial de dose única de 2 ml), G2 (vacina preparada com SBA-15 e antígeno em dose única de 2 ml) e G3 (solução fisiológica estéril, servindo como grupo controle sem imunização). Em D21, todos os leitões foram desafiados com 5 ml de inóculo contendo 10⁶ CCU/ml de *M. hyopneumoniae* (232) por via endotraqueal. No dia D0, os animais foram vacinados de acordo com o protocolo de cada grupo. De D1 a D3, foram realizadas avaliações de febre e dor no local da aplicação. Semanalmente, entre D7 e D56, foram colhidas amostras de soro sanguíneo para detecção de anticorpos anti-*M. hyo*

usando kit comercial e swabs laríngeos para quantificação da excreção de *M. hyopneumoniae* por qPCR, conforme descrito por Almeida et al. (2020). Foram feitas observações diárias para a avaliação do grau de tosse, utilizando uma pontuação de doença respiratória (RDS) de 0 a 6 (Halbur et al., 1996). Aos 80 dias de vida (D56), os animais foram eutanasiados para a avaliação macroscópica do conjunto pulmão-traqueia-coração e colheita de fragmentos de pulmão para qPCR e análise histopatológica conforme proposto por Hansen et al. (2010). Variáveis contínuas com distribuição normal foram analisadas por meio de análise de variância de medidas repetidas (RM-ANOVA), seguida por Dunnett, e ANOVA, seguida pelo teste de Tukey, para detectar possíveis variações ao longo do tempo e entre grupos, respectivamente. Os escores de lesões microscópicas, doença respiratória e outras variáveis não paramétricas foram analisadas por teste de Kruskal-Wallis, seguido por Dunn, para comparação entre grupos, e por teste de Friedman, seguido por Dunn, para comparações temporais.

Resultados e discussão

As medianas dos escores das lesões pulmonares macroscópicas observadas no momento da eutanásia, foram: 7,1% (G1), 10,08% (G2) e 23,37% (G3). Além disso, foram observadas diferenças na área total de lesões pulmonares compatíveis à infecção por *M. hyopneumoniae* quando comparadas à porcentagem obtida em G3 (G1 vs G3: $p = 0,01$; G2 vs G3: $p = 0,01$). A análise histopatológica

mostrou que todos os grupos apresentaram escores histológicos de lesões em BALT (tecido linfóide associado a brônquios) variando de 0 a 4, caracterizadas como lesões específicas da PES. Foram encontradas diferenças significativas entre G1 e G3 ($p = 0,01$) e entre G2 e G3 ($p = 0,04$).

Em relação ao exame clínico dos animais (Tabela 1), os grupos imunizados apresentaram aumento da temperatura retal após 12 horas da vacinação, com médias de 39,58 °C (G1) e 39,05 °C (G2) ($p < 0,05$), indicando breve resposta inflamatória pela vacinação, similar a estudo conduzido por Matthijs et al. (2019). Em D1, D2 e D3, não houve elevação da temperatura retal em G1 e G2. Em D25, apenas G3 apresentou febre ($p = 0,01$), indicando possível infecção mais grave (Almeida et al., 2020). Não foram observadas diferenças na avaliação do local de aplicação entre os grupos ($p > 0,05$). Todos os grupos imunizados apresentaram resposta de IgG anti-*M. hyo* sérica em D14, enquanto o grupo controle se tornou positivo somente em D49. É conhecido que os anticorpos IgG desempenham um papel secundário na proteção contra *M. hyopneumoniae* (Maes et al., 2021). Uma vez que G1 e G2 apresentaram lesões de consolidação pulmonar significativamente reduzidas em comparação ao G3, é provável que os anticorpos IgA de mucosa participem da proteção e contra aderência de *M. hyopneumoniae*, corroborando estudos anteriores (Martelli et al., 2021; Mechler-Dreibi et al., 2021). Quanto aos resultados de qPCR, a média de quantificação em swab laríngeo e tecido pulmonar foi menor nos grupos que receberam a vacina comercial e a vacina preparada com SBA-15 (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultado dos exames clínicos dos animais analisados

Parâmetro	Dia	G1	G2	G3	Valor-p
Lesões macroscópicas (%) [*]	D56	7,10 ^a (±5,63)	10,08 ^a (±4,45)	23,37 ^b (±11,55)	> 0,01
Lesões microscópicas [*]	D56	1,2 ^a (±0,25)	1,4 ^a (±0,27)	2,5 ^b (±0,22)	> 0,03
RDS (0-6) [*]	D29-D35	0,24 (0,36)	0,08 (0,22)	0,24 (0,07)	NA
	D36-D42	0,54 (0,7)	0,39 (0,6)	0,7 (1,6)	NA
	D43-D49	0,46 (1,2)	0,31 (0,7)	0,62 (2)	NA
Temperatura retal (°C) [*]	D0-12h	39,4 ^a (1)	38,9 ^a (0,5)	39,1 ^b (0,35)	> 0,02
	D25	38,8 ^a (0,3)	38,6 ^a (0,65)	39,1 ^b (0,45)	> 0,03
ELISA (qualitativo, %)	D14	7,69 (1/13)	7,69 (1/13)	0 (0/13)	NA
	D35	76,9 (10/13)	61,5 (8/13)	0 (0/13)	NA
	D56	92,3 (12/13)	84,5 (11/13)	69,21 (9/13)	NA
qPCR (cópias/uL) ^{**}	D28	1,4×10 ³ (±4,9×10 ³)	4,3×10 ² (±1,5×10 ³)	1,0×10 ³ (±2,3×10 ³)	NA
	D35	9,1×10 ² (±2,9×10 ³)	0,0×10 ⁰ (±0,0×10 ⁰)	2,0×10 ⁴ (±5,3×10 ⁴)	NA
	D49	0,0×10 ⁰ (±0,0×10 ⁰)	0,0×10 ⁰ (±0,0×10 ⁰)	1,1×10 ⁴ (±2,7×10 ⁴)	NA
	D56	3,3×10 ³ (±1,5×10 ⁵)	2,6×10 ⁴ (±7,1×10 ⁵)	1,6×10 ⁵ (±3,9×10 ⁵)	NA

Nota: ^{*}Valores expressos como mediana (intervalo interquartil). ^{**}Resultados expressos como média ± desvio padrão. Resultados estatísticos foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$. NA = não aplicável.

Conclusão

A vacina parenteral desenvolvida nesta pesquisa demonstrou segurança e eficácia na redução tanto das lesões pulmonares macroscópicas quanto microscópicas em suínos desafiados com cepa homóloga de *M. hyopneumoniae*. Além disso, a vacina induziu uma resposta imune humoral sérica e minimizou a apresentação de sinais clínicos, bem como a quantidade média de excreção da bactéria.

Agradecimentos

À FAPESP, pelo financiamento (#21/11914-0; #19/08582-5; #19/07007-7) e pela bolsa concedida durante o doutorado de F.A.M.P. (#21/14515-9), e ao CNPq, pela bolsa de produtividade concedida a L.G.O. (Processo CNPq nº 316447/2021-8).

Referências

- ALMEIDA, H.M.S. et al. Cytokine expression and *M. hyopneumoniae* burden in the development of lung lesions in experimentally inoculated pigs. *Vet. Microbiol.* 2020.
- HALBUR, P.G. et al. Comparative pathogenicity of nine US porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model. *J Vet Diagn Investig*, 8:11-20, 1996.
- HANSEN, M.S. et al. An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *J of Comp Path.* 143, 120-131, 2010.
- MAES, D. et al. Perspectives for improvement of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines in pigs. *Vet res vol.* 52,1 67.
- MARTELLI, P. et al. Immune B cell responsiveness to single-dose intradermal vaccination against *M. hyopneumoniae*. *Res Vet Sci.* 141:66-75, 2021.
- MATTHIJS, A.M.F. et al. Systems immunology characterization of novel formulations for *M. hyopneumoniae* bacterins. *Front Immunol.* 2019.
- MECHLER-DREIBI, M.L. et al. Oral vaccination of piglets against *M. hyopneumoniae* using silica SBA-15. *Sci Rep.* 11, 22377, 2021.

Surtos de polioencefalomielite por *Teschovirus* em suínos no Rio Grande do Sul

Outbreaks of polioencephalomyelitis by Teschovirus in pigs in Rio Grande do Sul

Anderson Hentz Gris^{1*}
Jean Carlo Olivo Menegatt¹
Fernanda Felicetti Perosa¹
Manoela Marchezan Piva¹
Lucas Teixeira de Castro¹
Emanoelly Machado S. da Silva¹
Brenda Oliveira Silveira¹
Paula Rodrigues de Almeida²
Daniela Teresa Schuh³
David Driemeier¹

¹ Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Laboratório de Microbiologia Molecular, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, Brasil

³ Médica veterinária autônoma, Harmonia, Brasil

*Correspondência: anderson_gris@hotmail.com.br

Palavras-chave: Ganglioneurite. Patologia suína. Teschovirose.

Introdução

Polioencefalomielite não supurativa em suínos pode ser causada por diversos vírus. Os principais agentes associados são *Teschovirus* suíno tipo A (PTV), *Sapelovirus* suíno tipo A (PSV) e *Astrovirus* suíno tipo 3 (PoAsV) (Arruda et al., 2017a,b; Hammerschmitt et al., 2021). Anteriormente, o PTV e o PSV eram classificados como enterovírus, mas agora são classificados como parte da família Picornaviridae. Devido à semelhança entre as doenças causadas pelo PTV, PSV e PoAsV, torna-se necessária a diferenciação molecular para determinar a etiologia das lesões (Krumbholz et al., 2002; Hammerschmitt et al., 2021). Entre os vírus, destaca-se o PTV, que inicialmente foi identificado em 1929 na cidade de Teschen, na antiga Tchecoslováquia, e atualmente tem distribuição mundial (Cantile e Youssef 2016; Roehe et al., 2022;). No Brasil, os primeiros relatos ocorreram

através da detecção viral em fezes de suínos no ano de 2014, entretanto, a sua associação com doença clínica e lesões patológicas foi realizada somente no ano de 2021 (Donin et al., 2014; Hammerschmitt et al., 2021). Desde então, casos esporádicos da doença vêm sendo diagnosticados quando a infecção se dá por uma cepa de baixa virulência, principalmente em suínos de creche; contudo, quando a infecção ocorre por cepas virulentas, ocorrem surtos (Roehe et al., 2022). Desse modo, o objetivo deste trabalho é relatar dois surtos de polioencefalomielite em suínos associados à infecção pelo PTV no Rio Grande do Sul, Brasil.

Material e métodos

Foram realizadas duas visitas técnicas a duas creches distintas localizadas no RS, sob queixa de doença neurológica. Nas propriedades foram obtidos dados clínicos, epidemiológicos e realizada necropsia de 12 suínos. Nas necropsias, foram coletados fragmentos dos principais órgãos, os quais foram fixados em solução de formalina 10%, processados rotineiramente para histologia e corados com Hematoxilina e Eosina, para posterior exame microscópico. Adicionalmente, líquido cefalorraquidiano (líquor), fezes e fragmentos de tronco

e medula espinhal foram submetidos à extração de RNA com o kit comercial MagMax® Total Nucleic Acid Isolation Kit (Thermo Fisher), conforme instruções do fabricante; síntese de cDNA com a enzima GoScript™ (Promega), de acordo com o fabricante; e subsequente teste de reação em cadeia da polimerase *nested* (*nested* RT-PCR) para a detecção de PTV, como descrito por Donin et al. (2015).

Resultados e discussão

Os crechários eram produções comerciais localizadas no Rio Grande do Sul (creche A e B). As granjas possuíam 2.342 e 2.074 suínos alojados em dois galpões cada, e idade de alojamento de 22 e 21 dias de vida, respectivamente. Em ambas, na segunda semana de alojamento, após o manejo de vacinação, alguns suínos começaram a apresentar os sinais clínicos. No dia da visita, os suínos estavam com 50 e 52 dias de vida, respectivamente. Do total de animais alojados, 3% (aproximadamente 60 suínos/granja) apresentavam sinais clínicos de dificuldade locomotora, caracterizada, principalmente, por paresia de membros pélvicos ou torácicos, ou ainda tetraparesia. Além disso, com a evolução clínica, alguns suínos apresentavam sinais neurológicos centrais, como convulsão, movimentos de pedalagem, opistótono e nistagmo.

Nos dias das visitas foi relatado que a taxa de mortalidade estava em 3%, sendo a maioria composta por suínos eutanasiados devido ao quadro neurológico avançado e ausência de melhora clínica. Foram realizadas oito necropsias na creche A e quatro na creche B, nas quais não foram observadas lesões macroscópicas (12/12). No exame microscópico, a medula espinhal e o tronco encefálico foram as regiões do sistema nervoso central mais afetadas (12/12), seguidas pelos gânglios paravertebrais (4/12), cerebelo (2/12) e córtex telencefálico (1/12). As lesões consistiam em infiltrado inflamatório de linfócitos e plasmócitos em regiões perivasculares (manguitos perivasculares) (12/12) e em leptomeninges (4/12), associado a neurônios hipereosinofílicos, com substância de Nissl periférica (cromatólise central) e, por vezes, com picnose nuclear (necrose) associada à neuronofagia (7/12) e gliose (6/12). Por vezes, em gânglios paravertebrais, observou-se infiltrado inflamatório semelhante (ganglioneurite) (4/12) associado à necrose neuronal e neuronofagia (1/12). Do total de animais necropsiados, oito foram submetidos ao exame de *nested* RT-PCR para PTV, sendo positivos em fezes (8/8), tronco encefálico (6/8), medula espinhal (6/8) e líquor (3/7).

O diagnóstico de polioencefalomielite associada ao PTV foi realizado através da associação dos sinais clínicos, lesões microscópicas e exame molecular com detecção

viral diretamente das lesões em sistema nervoso central. Este agente viral é geralmente associado a quadros clínicos que afetam suínos de creche, principalmente devido à queda da imunidade passiva materna e à mistura de lotes. Não existe imunidade cruzada entre os sorotipos de PTV, o que favorece que o vírus se dissemine pelo organismo e cause a doença clínica. Apesar de ser observado com frequência em suínos de creche, este pode infectar animais de qualquer faixa etária (Roehe et al., 2022).

A maioria dos animais são assintomáticos e a rota de infecção é fecal oral, com o agente sendo excretado via fezes. Desta forma, para o diagnóstico de animais com sinais clínicos de manifestação neurológica e suspeita de infecção pelo PTV, a detecção viral nas fezes não permite a confirmação diagnóstica, necessitando a associação com lesões microscópicas e a detecção viral em sítios com lesão (Alexandersen et al., 2019).

Macroscopicamente, pode-se observar aumento de volume de gânglios e nervos paravertebrais, principalmente em região cervical e sacral (Hammerschmitt et al., 2021). Entretanto tal lesão não foi observada neste estudo. Por outro lado, as lesões microscópicas caracterizadas por infiltrado inflamatório de linfócitos e plasmócitos, gliose, necrose neuronal e neuronofagia foram observadas neste estudo, principalmente na medula espinhal e tronco encefálico (Hammerschmitt et al., 2021). Assim, ressalta-se a importância da colheita completa do sistema nervoso central, composto por encéfalo (cérebro, cerebelo e tronco encefálico) e medula espinhal, para o diagnóstico conclusivo, através da histopatologia e exames moleculares.

Não há vacinas para PTV disponíveis para suínos. Desta forma, como o vírus não é envelopado e estável no ambiente, é necessária a realização de desinfecção com produtos à base de hipoclorito de sódio para reduzir a carga viral ambiental (Roehe et al., 2022).

Conclusão

Os surtos relatados afetaram animais de creche, com idade em torno de 50 dias de vida, com índices de mortalidade de 3%, levando à eutanásia dos suínos com sinais clínicos por ausência de melhora clínica. Lesões macroscópicas neste estudo não foram observadas, entretanto, as lesões microscópicas foram acentuadas e localizadas, principalmente, em tronco encefálico e medula espinhal, ressaltando a importância da coleta dessas regiões para o correto diagnóstico.

Ainda, é imprescindível a detecção viral por RT-PCR diretamente das lesões para confirmação do diagnóstico e diferenciação de outros agentes virais que cursam com lesões semelhantes.

Referências

- ALEXANDERSEN S. et al. Picornaviruses. In: Zimmerman, J.J. et al. (Eds.). *Diseases of Swine*, (Eleventh Edition). Hoboken: John Wiley & Sons; 2019. p. 641-684.
- ARRUDA, P.H.E. et al. Detection of a novel sapelovirus in central nervous tissue of pigs with polioencephalomyelitis in the USA. *Transboundary Emerging Disease*, v.64, p.311-315, 2017a.
- ARRUDA, B. et al. Porcine astrovirus Type 3 in central nervous system of swine with polioencephalomyelitis. *Emerging Infectious Disease*, v.23, n.12, p.2097-2100, 2017b.
- CANTILEN C.; YOUSSEF, S. Chapter 4 - Nervous system. In: Maxie, M.G. (Ed.). *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 1*. 6 ed. St. Louis: Elsevier; 2016. p. 250-406.
- DONIN, D.G. et al. First report of *Porcine teschovirus* (PTV), *Porcine sapelovirus* (PSV) and *Enterovirus G* (EV-G) in pig herds of Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, v.46, p.523-528, 2014.
- DONIN D.G., et al. Molecular survey of porcine teschovirus, porcine sapelovirus, and enterovirus G in captive wild boars (*Sus scrofa scrofa*) of Paraná state, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 35, n. 5, 2015.
- HAMMERSCHMITT, M.E. et al. Swine polioencephalomyelitis in Brazil: identification of *Teschovirus A*, *Sapelovirus A*, and *Enterovirus G* in a farm from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.52, n. 3, p.1617-1622, 2021.
- KRUMBHOLZ, A. et al. Sequencing of porcine enterovirus groups II and III reveals unique features of both virus groups. *Journal of Virology*, v.76, n.11, 2002.
- ROEHE, P. et al. *Viroses*. In: Barcellos D. & Guedes R. (eds) *Doenças dos suínos*. 3 ed. Porto Alegre: Professor David Barcellos; 2022. p. 311-501.

Causas de morte de matrizes suínas

Causes of sow deaths

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil

*Correspondência: aline_costa@ufms.br

Palavras-chave: Fêmea. Mortalidade. Suíno.

Aline Inês de Fátima Costa^{1*}
Amanda Muller Garcia¹
Giovanna Valverde¹
Giovanna Espíndola Lopes¹
Giulia Beatriz Benites¹
Fernanda de Moraes Gutierrez¹
Claudineia Ramos Bueno Reichel²
Raquel Aparecida Sales da Cruz²

Introdução

As elevadas taxas de mortalidade de matrizes observadas na suinocultura moderna representam um grande impacto econômico e estão diretamente associadas à diminuição da produtividade, levando à diminuição da longevidade das fêmeas nos plantéis, além de falhas no manejo de bem-estar animal. (Supakorn et al 2019). Todavia, apesar da relevância do tema, o diagnóstico das principais causas de morte é frequentemente negligenciado na maioria das granjas. Este deve se basear nas informações clínicas e epidemiológicas, além da realização de necropsias e avaliação anatomopatológica (Mores, 2007). O objetivo desse estudo é descrever as principais causas de morte de matrizes suínas em duas granjas no estado do Mato Grosso do Sul.

Material e métodos

O estudo foi realizado em duas granjas comerciais de suínos localizadas no estado do Mato Grosso do Sul entre os meses de janeiro de 2021 e maio de 2022. A granja 1 possuía um plantel com 1.800 matrizes e a granja 2 com 10 mil fêmeas. Durante o estudo foram realizadas necropsias e coleta de amostras de todas as fêmeas que morreram no período, assim como foram anotadas em fichas necropsias específicas de dados clínicos, epidemiológicos e descrições das principais lesões observadas no exame necroscópico. Avaliou-se,

ainda, o histórico das fêmeas através de fichas obtidas do programa de gerenciamento de dados.

Resultados e discussão

Os principais parâmetros analisados durante o estudo foram: ordem de parto (OP), escore corporal visual (ECV), fase reprodutiva (gestação, periparto, lactação e vazia), tipo de morte (natural ou eutanásia) e idade. Na granja 1 realizaram-se 41 necropsias de matrizes suínas, das quais 17 (41,46%) morreram naturalmente e 24 (58,53%) foram submetidas à eutanásia. As matrizes que morreram pertenciam a diferentes OPs, sendo que 17 (41,46%) estavam entre OP 1-2 e 24 (58,53%) estavam entre OP 3-4. Isso significa que 1/3 das fêmeas que morreram não haviam chegado ao terceiro parto; ou seja, não haviam produzido o suficiente para pagar o seu custo de reposição, sendo esse um dos grandes problemas da suinocultura atual. Todas as fêmeas submetidas à eutanásia apresentavam problemas locomotores, umas das principais causas de descarte de fêmeas em granjas com instalações ruins. O escore corporal da maioria das matrizes - 28 (68,29%) - estava entre 2-3, o que é considerado satisfatório. A maioria das fêmeas que morreu estava na fase de gestação (27; 66%), lactação (7; 17%), gestação (6; 15%) e vazia (1; 2%).

As fases de lactação e parto normalmente são as mais críticas. Nessa granja muitas matrizes foram descartadas na fase de gestação devido a problemas locomotores. As principais lesões observadas acometeram os diferentes sistemas orgânicos. Lesões do sistema digestório foram observadas em 21 fêmeas (51,21%), sendo a úlcera gástrica a principal lesão observada (18/85; 71%), seguida do prolapso de reto (2/9; 52%) e torção de estômago (1/4; 76%). No sistema hepatobiliar havia lesões em 14 (34,14), animais sendo a torção de baço (10/83; 33%) e a torção de lobo hepático (2/16; 66%) as mais observadas. No sistema cardiovascular havia lesões em 7 (17,7%) das matrizes e a epicardite foi a principal lesão observada (3; 42,85%), seguida por endocardite (2/28; 57%), miocardite (1; 14,28%) e choque (1; 14,28%). O sistema respiratório foi acometido em 6 (14,34%) matrizes, sendo a pneumonia embólica (4; 66,66%) e broncopneumonia (2; 33,33%) as mais observadas. No sistema genitourinário foram observadas lesões em 13 (31,70) fêmeas, com a cistite sendo a principal lesão diagnosticada com 8 (61,53%) casos, seguida de cálculos (3; 23,07%) e metrite (2; 15,38%). No sistema locomotor, observou-se principalmente lesões em 17 (41,46%) fêmeas que foram descartadas, especialmente lesões em articulações como artrite purulenta (12; 70,58%), fratura de fêmur (3; 17,64%), flegmão (3; 17,64%) e úlcera de casco (1; 5,88%). As lesões nos demais sistemas representaram 8 (9,52%) dos casos.

Na granja 2 foram realizadas 30 necropsias, sendo que 23 (76,7%) matrizes morreram naturalmente e 7 (23,3%) foram submetidas à eutanásia. Todas as matrizes estavam entre as ordens de parto 0-3, sendo 13 OP1 (43,33%), 13 OP2 (43,33%), 3 OP0 (10%) e 1 OP3 (3,33%). A totalidade das fêmeas se encontrava com escore corporal entre 2-3. As fêmeas morreram principalmente na fase de parto (12; 40%), vazias (6; 20%), descarte (20%), intervalo de desmame (2; 6,66%) e gestação (6,66%). Os principais sistemas acometidos foram o genitourinário, com 22 (73,33%) das fêmeas acometidas, sendo as principais lesões observadas: prolapso de útero (5; 22,72%), cistite (5; 22,72%), cistite/metrite (4; 18,18%), metrite (3; 13,63%), retenção de leite (2; 9,09%), cálculo bexiga (2; 9,09%), prolapso de vagina (1; 4,54%). O sistema digestório foi acometido em 20 (66,66%) fêmeas, sendo a úlcera gástrica a principal lesão observada (16; 80%), seguida da torção de baço (3; 15%) e torção de lobo hepático (5%). Lesões no sistema respiratório representaram 16,66%, com a pneumonia embólica (3; 60%) e broncopneumonia (2; 40%). Havia ainda lesões no sistema locomotor de 5 (16,66%) matrizes, que apresentaram fratura de fêmur (2; 40%), fratura de ísquio (2; 40%) e aumento de dígitos (20%). O grande número de fêmeas morrendo na fase de parto e vazias evidencia graves problemas de manejo de parto e reprodutivo.

Conclusão

As principais lesões observadas acometeram o sistema digestório, sendo a úlcera gástrica a principal lesão observada. Na granja 1, grande parte das fêmeas morreu na fase de gestação, por lesões no sistema locomotor, enquanto na granja 2 as matrizes morreram principalmente na fase de parto, devido a lesões no sistema genitourinário/reprodutivo.

Referências

- KONGSTED, H. et al. Causes of spontaneous sow deaths in the farrowing units of 10 Danish sow herds. *Research in Veterinary Science* 139 (2021) 127-132.
- KURIKKA, E. A. et al. Pathological findings in spontaneously dead and euthanized sows - a descriptive study. *Porcine HealthManagement*. p.1-12, 2019
- MORÉS, N. Mortes de matrizes em granjas de suínos. *Acta Scientiae Veterinariae*. n. 35, p.1-8, 2007.
- SUPAKORN, C. et al. A review of aetiology and risk factors of sows affecting sow mortality. *Animal Science Conference Proceedings and Presentations* p.1-24, 2019

Análise filogenômica de isolados de *Salmonella* *Typhimurium* do Brasil

Diéssy Kipper
André Salvador Kazantzi Fonseca
Nilo Ikuta
Vagner Ricardo Lunge*

Phylogenetic analysis of Salmonella Typhimurium isolates from Brazil

Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, Brasil

*Correspondência: lunge@simbios.com.br

Palavras-chave: Suínos. *Typhimurium*. WGS.

Introdução

Salmonella enterica sorovar Typhimurium infecta uma ampla gama de hospedeiros e é o sorovar mais frequentemente isolado de animais e alimentos de produção intensiva em todo o mundo. Além de possuir várias linhagens, *S. Typhimurium* (1,4,[5],12:i:1,2) também possui variantes flagelares monofásicas e afásicas. No Brasil, *S. Typhimurium* era o sorovar mais frequentemente isolado em fontes não humanas (suínos, frangos de corte, poedeiras e alimentos derivados de aves) antes da década de 1990 (Taunay et al., 1996). Atualmente, é o sorovar mais comum isolado de humanos, mas também continua sendo frequentemente isolado de animais de produção, principalmente suínos. Além disso, as variantes monofásicas (principalmente 1,4,5,12:i:-) também têm sido detectadas em amostras humanas, animais e de alimentos neste mesmo período (Fernandes et al., 2006). Apesar de suínos serem relatados como reservatórios, *S. Typhimurium* também é frequentemente detectada em carne e ovos de aves (Neto et al., 2021; Kipper et al., 2022).

Desde a década de 1990, isolados de *S. Typhimurium* resistentes aos fármacos antimicrobianos têm sido crescentemente observados (Wang et al., 2019). No Brasil, resistência aos aminoglicosídeos, ampicilinas, aztreonam, cefepima, ceftriaxona, cloranfenicol, ciprofloxacina, colistina, doxiciclina, fluoroquinolona, gentamicina, ácido nalidíxico, estreptomicina, sulfametoxazol, sulfonamida, tetraciclina e trimetoprima, tem sido detectada. Estudos genéticos demonstram a ocorrência de genes de resistência como aac(3)-IIa, aac(3)-IIId, aadA1, aadA2, aph(6)-Id, blaCTX-M-2, blaTEM-1B, dfrA1, floR, mrc-1, strA, strB, sul1, sul2, tet(A) e tet(B), e replicons de plasmídeos como ColpVC, IncFIA, IncFIB, IncFIB(S), IncFII(S), IncHI2, IncHI2A, IncX4 e po111 (Kipper et al., 2022). O objetivo do presente estudo foi realizar uma análise filogenômica de isolados de *S. Typhimurium* do Brasil.

Material e métodos

Um total de 58 isolados de *S. Typhimurium* provenientes de suínos (n = 27), aves (n = 15), humanos (n = 13), alimentos (n = 2) e bovinos (n = 1) foram obtidos. Essas amostras foram analisadas com ensaios de PCR (reação em cadeia da polimerase). O DNA foi extraído com um kit comercial de acordo com as instruções do fornecedor (NewGene, Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS, Brasil). Duas PCRs em tempo real, uma específica para *Salmonella* e outra para *S. Typhimurium*, foram realizadas conforme descrito anteriormente (Souza et al., 2019). O sequenciamento de genoma completo foi realizado em uma plataforma Illumina NextSeq, com 150

pb leituras pareadas (Wadsworth Center, Departamento de Saúde do Estado de Nova York, Albany, NY, EUA). Dados brutos de sequenciamento para 153 genomas adicionais de *S. Typhimurium* foram baixados do banco de dados NCBI. Os genomas selecionados foram do Brasil (n = 153), provenientes de humanos (n = 53), suínos (n = 37), aves (n = 28), alimentos (n = 17), ambiente de produção (n = 13), bovinos (n = 3) e alimento de *pet* (n = 2). SISTR versão 0.3.1 foi usado para realizar a sorotipagem *in silico* de cada isolado. Os genomas também foram atribuídos a um tipo de sequência (ST) usando a tipagem de sequência multilocus (MLST).

O pipeline CFSAN SNP foi usado para identificar SNPs de alta qualidade (hqSNPs) dentro do conjunto de 211 sequências. A matriz SNP resultante de sítios preservados foi usada para construir uma filogenia usando o método de máxima verossimilhança (ML), implementado em W-IQ-TREE. ABRicate versão 0.8 foi usado para detectar genes de resistência antimicrobiana e *replicons* de plasmídeo em cada genoma montado. Para todas as pesquisas, identidade mínima de nucleotídeos e limiares de cobertura de 75% e 50% foram usados, respectivamente.

Resultados e discussão

A sorotipagem *in silico* mostrou que 185 (87,7%) sequências corresponderam a *Typhimurium* e 26 sequências (12,3%) a variantes monofásicas. A tipagem por MLST mostrou que ST19 foi predominante, correspondendo a 185 sequências (87,7%), seguido do ST313 em 10 sequências (4,7%). Os STs 1649, 1921, 3343, 4556 e 4645 também aparecem, mas em cinco sequências ou menos ($\geq 2,4\%$ cada). Até agora, ST19 foi relatado em humanos, répteis, ovinos, suínos, aves, alimentos e bovinos de países europeus e americanos. ST313 é relativamente recente e está relacionado ao ST19 (Guo e Zhao; 2021; Hurtado et al., 2022).

A avaliação filogenética mostrou que o sorotipo *S. Typhimurium* é polifilético no Brasil, apresentando diferentes linhagens (sete no total). A linhagem I agrupou 27 sequências: humanos (n = 1), aves (n = 11), alimentos (n = 1), suínos (n = 6), ambiente de produção (n = 5), bovinos (n = 1) e alimento de *pet* (n = 2). A linhagem II agrupou 14 sequências: humanos (n = 9), aves (n = 3), alimentos (n = 1) e suínos (n = 1). A linhagem III agrupou 16 sequências: humanos (n = 7), aves (n = 4), alimentos (n = 1), suínos (n = 1), ambiente de produção (n = 2) e bovinos (n = 1). A linhagem IV agrupou oito sequências: aves (n = 3), alimentos (n = 3) e suínos (n = 2). A linhagem VI agrupou 21 sequências de humanos. A linhagem VI agrupou 31 sequências: humanos (n = 14), aves (n = 6), alimentos (n = 2), suínos (n = 5) e ambiente de produção (n = 4). A linhagem VII agrupou 95

sequências: humanos (n = 14), aves (n = 16), alimentos (n = 11), suínos (n = 49), ambiente de produção (n = 3) e bovinos (n = 2). Esses resultados apoiam as evidências de que há mais de uma linhagem de *S. Typhimurium* circulando no Brasil (Almeida et al., 2018).

O conjunto de 211 sequências reportou no total 36 *replicons* de plasmídeos diferentes. Cada sequência apresentou entre zero e oito plasmídeos. Os plasmídeos que apareceram com maior frequência foram IncFIB(S) (n = 100; 47,39%), IncFII (n = 99; 46,92%) e ColRNAI (n = 78; 36,97%). Em relação aos genes que conferem resistência a antibióticos, o conjunto de 211 sequências reportou 56 diferentes genes. Cada sequência apresentou entre dois e 19 genes. Os genes que apareceram com maior frequência foram *aac(6')-Iaa* (n = 211; 100%), *mdf(A)* (n = 210; 99,53%) e *tet(B)* (n = 65; 30,81%), os quais conferem resistência às classes de aminoglicosídeos, agentes desinfetantes e anti-sépticos, e tetraciclina, respectivamente. Os demais genes apareceram em menos de 30% das sequências e conferem resistências às seguintes classes: cefalosporina, fenicol, diaminopirimidina, lincosamida, peptídico (colistina), macrolídeo, fluoroquinolona, sulfonamida, incluindo multi-classes, como é o caso do gene *oqx*. Além disso, 123 (58,29%) sequências apresentaram genes que conferiam resistência a três ou mais classes de antibióticos (MDR). Entre essas sequências, haviam isolados de suínos (n = 47; 38,21%), humanos (n = 41; 33,33%), aves (n = 21; 17,07%), alimentos (n = 12; 9,76%) e ambiente de produção (n = 2; 1,63%). Isolados de *S. Typhimurium* MDR têm sido reportados no Brasil e no mundo, inclusive cepas de animais de produção, portando genes que conferem resistência a aminoglicosídeos e agentes desinfetantes (Almeida et al., 2018; Hurtado et al., 2022; Kipper et al., 2022).

Conclusão

A avaliação de sequências de genoma completo de isolados de *S. Typhimurium* do Brasil mostrou que esse sorotipo é polifilético. Esses isolados também apresentaram genes que conferem resistência a antibióticos, sendo que 58,29% foi considerado MDR.

Referências

- ALMEIDA, F. et al. Phylogenetic and antimicrobial resistance gene analysis of *Salmonella Typhimurium* strains isolated in Brazil by whole genome sequencing. PLoS One, v. 13, p. e0201882, 2018.
- FERNANDES, S. A. et al. *Salmonella serovars* isolated from humans in São Paulo State, Brazil, 1996-2003. Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo, v. 48, p. 179-184, 2006.

GUO, L.; ZHAO, Y. Global Spread and molecular characterization of CTX-M-Producing *Salmonella Typhimurium* isolates. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), v. 10, p. 1417, 2021.

HURTADO, R. et al. WGS-Based lineage and antimicrobial resistance pattern of *Salmonella Typhimurium* isolated during 2000-2017 in Peru. *Antibiotics* (Basel), v. 11, p. 1170, 2022.

KIPPER, D. et al. Emergence, dissemination and antimicrobial resistance of the main poultry-associated *Salmonella* serovars in Brazil. *Veterinary sciences*, v. 9, p. 405, 2022.

NETO, W. S. et al. Non-typhoidal human salmonellosis in Rio Grande do Sul, Brazil: A combined source attribution study of microbial subtyping and outbreak data. *International journal of food microbiology*, v. 338, p. 108992, 2021.

SOUZA, M. N. et al. Molecular detection of *Salmonella* serovars Enteritidis, Heidelberg and Typhimurium directly from pre-enriched poultry samples. *British poultry Science*, v. 60, p. 388-394, 2019.

TAUNAY, A. E. et al. The role of public health laboratory in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, v. 38, p.119-127, 1996.

WANG, J. et al. Diversity of serotype, genotype, and antibiotic susceptibility of *Salmonella* prevalent in pickled ready-to-eat meat. *Frontiers in microbiology*, v. 10, p. 2577, 2019.

Investigação de circovírus suíno tipo 4 em amostras clínicas de circovirose suína no Brasil

Rovian Miotto^{1,2}
Carolina Reck^{3*}
Marciano Martello³
Jean Carlo Olivo Menegatt^{4,5}
Álvaro Menin⁵
Janice Reis Ciacci Zanella⁶

Investigation of porcine circovirus type 4 in clinical samples of porcine circovirus disease in Brazil

¹ Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia, Concórdia, Brasil

² Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

³ Departamento de Pesquisa e Inovação, VERTÁ Laboratórios, Curitiba, Brasil

⁴ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

⁵ Departamento Biociências e Saúde Única, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, Brasil

⁶ Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

*Correspondência: carolina@verta.vet.br

Palavras-chave: Circovírus. PCV4. Suíno.

Introdução

Os circovírus são os menores vírus de DNA fita simples de replicação autônoma, não envelopados e com simetria circular (Mankertz et al., 1997). Pertencem à família Circoviridae, gênero *Circovirus* (Rosário et al. 2017) e até o presente momento já foram identificados quatro tipos de circovírus suínos (PCV): PCV1, PCV2 e os mais recentes descobertos PCV3 e PCV4 (Zhai et al., 2019; Zhang et al., 2020). As espécies mais recentes

descobertas, como PCV3 e PCV4, trazem preocupações crescentes na atividade suinícola, principalmente por se saber pouco a respeito das mesmas e de não haver medidas de controle como vacinas (Opriessnig et al. 2020). O novo circovirus tipo 4 (PCV4) foi detectado no ano de 2019 em Hunan, na China, a partir de amostras de suínos com severos sinais clínicos, tais como respiratórios, entéricos e sinais de PDNS (síndrome da dermatite e nefropatia dos suínos) (Zhang et al., 2020). O PCV4 é um vírus DNA circular de fita simples com genoma de 1770 nucleotídeos que contém duas fases abertas de leitura (ORF's), sendo denominadas ORF1 e ORF2 (Zhang et al., 2020). Os resultados de análises realizadas por Sun et al. (2021) confirmaram que o PCV4 possui uma relação próxima com o MiCV (circovírus de furão) e com o circovírus associado a morcegos, seguido pelo PCV1 e PCV2. Buscando identificar a etiologia clínica de doenças associadas ao PCV2, o objetivo deste trabalho foi verificar a presença de PCV4 em diversas amostras de suínos provenientes de diferentes estados brasileiros.

Material e métodos

Amostras (n = 320) clínicas de diferentes órgãos e tecidos (pulmão, linfonodos e sistema nervoso central) e soro de diferentes regiões do Brasil foram submetidos ao protocolo de extração de DNA usando IndiMag Pathogen Kit (Indical Bioscience), com um sistema de extração automatizado IndiMag 48s (Indical Bioscience). O DNA extraído foi avaliado quantitativa e qualitativamente. A detecção do genoma do PCV4 foi

realizada através do ensaio de PCR em tempo real (qPCR), conforme descrito previamente por Zhang et al. (2020). Resumidamente, as reações de qPCR foram realizadas para um volume final de 20µL de reação, contendo 0,4µM de iniciadores (*forward/reverse*), 0,2 µM de sonda, 10 µL mastermix e água grau biologia molecular para volume final de 20µL. As condições da reação de PCR consistiram em desnaturação inicial a 95 °C por 60s, seguida de 45 ciclos de 95°C por 15s e 60°C por 30s.

Resultados e discussão

Do total de 320 amostras analisadas na qPCR das diferentes regiões do Brasil, nenhuma foi positiva para PCV4. Os resultados do presente estudo corroboram os do estudo de Franzo et al. (2020), em que foram analisadas 300 amostras de suínos com diferentes condições clínicas na Itália e na Espanha, não revelando a presença de PCV4, sendo que os rebanhos estudados naqueles países também foram negativos. Enquanto isso, diversos estudos no continente asiático demonstram a presença de PCV4. Hou et al. (2021) mostraram que o vírus estava presente em amostras coletadas no ano de 2012, enquanto Ge et al. (2021) reportaram a detecção de anticorpos para PCV4 em amostras coletadas em 2008. As amostras analisadas eram de suínos apresentando sintomatologia clínica compatível com circovirose, porém, segundo Nguye et al. (2021), o PCV4 foi encontrado em animais clinicamente doentes como também em animais clinicamente saudáveis.

A circovirose é uma importante doença para a suinocultura brasileira e mundial. Até o momento, o PCV4 foi detectado apenas no continente asiático, como em rebanhos suínos da China, Coreia e recentemente na Tailândia (Zhang, et al., 2020; Wang et al., 2022). O Brasil, por ser o quarto maior produtor e quarto maior exportador de carne suína mundial, deve estar atento, prevenindo a entrada e disseminação do PCV4 e realizando o diagnóstico quando casos suspeitos ocorrerem.

Conclusão

Sabe-se dos desafios que um novo vírus pode causar em rebanhos sem proteção ou imunidade, principalmente por saber-se tão pouco a respeito da dinâmica de infecção nos suínos e da sintomatologia clínica. Com as análises realizadas neste trabalho, não identificou-se o DNA do PCV4 em rebanhos testados. É importante, todavia, que medidas de biossegurança e monitoramento sanitário e controle das principais doenças da suinocultura ocorram para manter a competitividade do setor e saúde dos suínos.

Referências

- FRANZO, G. et al. Lack of porcine circovirus 4 genome detection in pig samples from Italy and Spain. *Pathogens*, 9. 2020.
- GE, M. et al. The seroprevalence of the newly identified porcine circovirus type 4 in China investigated by an enzyme-linked immunosorbent assay. 2021.
- HOU, C. Y. et al. Phylogenetic analysis of porcine circovirus 4 in Henan Province of China: A retrospective study from 2011 to 2021. 2021.
- MANKERTZ, A. et al. Mapping and characterization of the origin of DNA replication of porcine circovirus. *JOURNAL OF VIROLOGY*. 1997.
- NGUYEN V. G. et al. Molecular-based detection, genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus 4 from Korean domestic swine farms. 2021.
- OPRIESSNIG, T. et al. Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. *Virus Research*, v. 286, 1 set. 2020.
- ROSARIO, K. et al. Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: establishment of the genus *Cyclovirus* and removal of the genus *Gyrovirus*. *Archives of Virology*, v. 162, 2017.
- SUN, W. et al. Detection and genetic characterization of porcine circovirus 4 (PCV4) in Guangxi, China. *Gene*, v. 773, 20 mar. 2021.
- WANG, D. et al. Current knowledge on epidemiology and evolution of novel porcine circovirus 4. *Veterinary research*, v. 53, n. 1, p. 38, 31 maio 2022.
- ZHAI, S. L. et al. Reservoirs of porcine circoviruses: a mini review. *Front. Vet. Sci.* 6:319, 2019.
- ZHANG, H. Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as porcine circovirus 4, Hunan Province, China. *Transbound. Emerg. Dis.* 67, 1057-1061, 2020.

Achados histopatológicos e quantificação de agentes do complexo de doenças respiratórias suínas em animais abatidos no estado de São Paulo

Clarisse Malcher¹
Fernando Petri¹
Gabriel Aguiar¹
Laíza Arruda¹
Gabriel Storino¹
Karina Sonálio¹
Ana Karolina Panneitz¹
Leonardo Toledo²
Flávio Hirose³
Luis Guilherme de Oliveira^{1*}

Histopathological findings and quantification of swine respiratory disease complex agents in animals slaughtered in São Paulo State

¹ Departamento de Cirurgia Clínica e Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil

² Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

³ Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, Brasil

Correspondência: luis.guilherme@fcav.unesp.br

Palavras-chave: Histopatologia. qPCR multiplex. Suínos.

Introdução

As perdas decorrentes do complexo de doenças respiratórias suínas representam uma das principais causas de prejuízos econômicos na produção de suínos durante as fases de crescimento e terminação (Flabet et al., 2012). No Brasil, as lesões pulmonares, em particular as pneumonias e pleurites, estão entre as principais

causas de condenação de carcaças (Coldebella et al., 2018). Infecções pulmonares primárias por bactérias, como *Mycoplasma hyopneumoniae* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*, podem levar a infecções secundárias que resultam no surgimento de sinais clínicos e lesões respiratórias. Os agentes secundários mais relevantes para pneumonias em suínos no Brasil são o *Glaesserella parasuis* e *Pasteurella multocida* (Barcellos et al., 2008). O objetivo deste estudo foi correlacionar os achados histopatológicos com a detecção dos agentes causadores do complexo de doenças respiratórias suínas por meio da técnica de qPCR de acordo com o grau de pleurite.

Material e métodos

Realizou-se a avaliação macroscópica e coleta de amostras de 204 pulmões em um frigorífico localizado no estado de São Paulo, sob o Serviço de Inspeção Federal. Os pulmões foram classificados de acordo com o grau de pleurisia (0-4) descrito por Ostanello et al. (2007). Fragmentos de tecido pulmonar foram coletados nas áreas de transição e fixados em formol 10% para análise histopatológica. O processamento histológico seguiu uma rotina padrão, com corte em micrótomo e coloração de Hematoxilina e Eosina. As lesões agudas foram classificadas como supurativas (predominância

de neutrófilos), não supurativas (células inflamatórias mononucleares) ou mistas (graus intermediários entre supurativas e não supurativas). As lesões crônicas foram caracterizadas por fibroplasia, hiperplasia do tecido linfóide associado ao brônquio (BALT) em grau variável (2 a 4), hiperplasia do epitélio bronquial e infiltrados celulares compostos principalmente por linfócitos e células plasmáticas (Hansen et al., 2010). Para a técnica de qPCR multiplex, foram coletados fragmentos pulmonares com lesões e armazenados em tubos criogênicos. O protocolo utilizado foi adaptado de Petri et al. (2023). Os patógenos detectados e quantificados foram: *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* e *P. multocida*.

Resultados e discussão

As lesões histopatológicas mais comuns neste estudo foram as broncopneumonias agudas mistas, encontradas em 44,9% (91/204) das lâminas avaliadas. Em seguida, observou-se a presença de broncopneumonias agudas não supurativas em aproximadamente 33,7% (69/204) das lâminas e broncopneumonia crônica em 8,3% (17/204). Além disso, cerca de 98,5% (200/204) das lâminas apresentaram hiperplasia de BALT (Tabela 1, Figura 1).

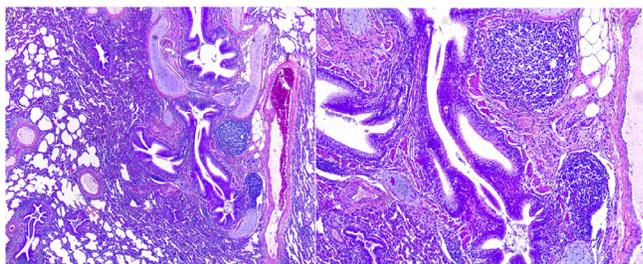


Figura 1 - Secção do pulmão, HE, 40X, 100X. Nota-se hiperplasia de BALT.

Estudos recentes demonstraram que a prevalência de animais com consolidação no abate é preocupante no Brasil, com prevalências semelhantes encontradas em diferentes regiões do país. Em um estudo realizado nos anos de 2016 e 2017, por exemplo, foram avaliados pulmões de 21 fazendas no estado de São Paulo, onde constatou-se prevalência de 79,8%, com uma média de 12% de área pulmonar consolidada (Baraldi et al., 2019). Em outro estudo, conduzido em Minas Gerais, relatou-se que 68,5% (333/486) dos pulmões avaliados em um lote de terminação apresentavam lesões pulmonares macroscópicas (Ferraz et al., 2020).

Os resultados obtidos através da qPCR multiplex permitiram quantificar a presença dos agentes *M. hyopneumoniae* e *A. pleuropneumoniae* em todos os graus de pleurisia, além de observar a associação de ambos com *P. multocida* nos graus de 0-4 (Tabela 1). Esses resultados sugerem que vários fatores ambientais e agentes infecciosos estão associados à ocorrência de lesões pulmonares em suínos. *M. hyopneumoniae* e *A. pleuropneumoniae* são considerados os patógenos primários bacterianos mais importantes no complexo de doenças respiratórias em suínos (Hernández et al., 2017).

Conclusão

A combinação da histopatologia com a técnica de qPCR multiplex, aliada a outros métodos de diagnóstico, constitui um conjunto poderoso e eficaz de ferramentas para o diagnóstico diferencial de lesões pulmonares em suínos. Essas abordagens complementares fornecem informações detalhadas sobre as lesões presentes, o que possibilita uma compreensão mais precisa da etiologia e do impacto dos patógenos envolvidos. A integração dessas técnicas diagnósticas é fundamental para estabelecer protocolos de controle adequados e eficazes na produção suína.

Tabela 1 - Número de pulmões avaliados (204) em relação aos achados de grau de pleurisia, padrões morfológicos identificados por histopatologia e a quantificação dos patógenos *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhyo), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) e *Pasteurella multocida* (Pm)

Graus	Total de amostras	Achados histopatológico			Quantificação de agentes patogênicos		
		BALT	BPAM	BPC	Mhyo	App	Pm
0	3	2	0	0	4,33 ± 00	1,13 ± 06	0,00 ± 00
1	11	2	1	0	3,16 ± 03	1,30 ± 02	3,47 ± 05
2	40	2	0	0	2,65 ± 02	2,91 ± 05	3,20 ± 05
3	89	2	0	0	3,76 ± 02	2,90 ± 03	1,88 ± 03
4	61	2	0	0	7,19 ± 01	4,80 ± 03	5,06 ± 04

Nota: BALT = hiperplasia de BALT; BPAM = broncopneumonia aguda mista; BCP = broncopneumonia crônica.

Referências

- BARCELLOS, D.E.S.N. et al. Relação entre ambiente, manejo e doenças respiratórias em suínos. *Acta Sci. Vet.* 36, p.87-93, 2008.
- BARALDI, T.G. et al. Antibodies against *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and influenza virus and their relationships with risk factors clinical signs and lung lesions in pig farms with one-site production systems in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine* 171:104748, 2019.
- COLDEBELLA, A. et al. Avaliação dos dados de abate e condenações/desvios de suínos registrados no Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal nos anos de 2012 a 2014. Embrapa Suínos e Aves-Documents (Infoteca-E), 2018.
- FABLET, C. et al. Bacterial pathogens associated with lung lesions in slaughter pigs from 125 herds. *Research in Veterinary Science* v. 93, p. 627-630, 2012.
- FERRAZ, M.E.S. et al. Lung consolidation caused by *Mycoplasma hyopneumoniae* has a negative effect on productive performance and economic revenue in finishing pigs. *Preventive Veterinary Medicine* 182:105091, 2020.
- HANSEN, M.S. et al. An Investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *J. Comp. Pathol.* v.143: p.120-131, 2010.
- HERNÁNDEZ, G.J. The use of oral fluids to monitor key pathogens in porcine respiratory disease complex. *Porc. Health Manag* 3:7, 2017.
- OSTANELLO, F. et al. Pneumonia disease assessment using a slaughterhouse lung-scoring method. *Journal of Veterinary Medicine A. Physiology, Pathology, Clinical Medicine* v.54, p.70-75, 2007.
- PETRI, F.A.M. et al. Associations between pleurisy and the main bacterial pathogens of the porcine respiratory diseases. *Animals*, v. 13, n. 9, p. 1493, 2023.

Surto de poliencefalomielite viral em leitões de maternidade e creche no Sudeste do Brasil: relato de caso

Viral poli-encephalomyelitis outbreak in suckling and nursery piglets in Southeast Brazil: case report

Aline Beatriz da Rosa¹
Roberta da Rocha B. dos Santos¹
Jiceli Paola Pospieka¹
Paula Rodrigues de Almeida¹
Fernando Rosado Spilki¹
Mayara de Souza Costa Tamanini²
Carlos Diel Neto³
Karine Ludwig Takeuti^{1*}

¹ Universidade Feevale, Campo Bom, Brasil

² Vaxxinova, Vargem Grande Paulista Brasil

³ Médico Veterinário autônomo, São Paulo, Brasil

Correspondência: karinetakeuti@feevale.br

Palavras-chave: Doença neurológica. Suínos. Teschovírus.

Introdução

Teschovírus (PTV) é um vírus representante da família Picornaviridae, que acomete suínos e javalis. Animais em fase de crescimento são os mais predispostos à infecção, e a existência de diferentes tipos de PTV circulantes pode caracterizar diferentes manifestações clínicas, entre elas a neurológica (Malik et al., 2020). Devido à gravidade da doença e ao aumento de mortalidade em granjas tecnificadas, o objetivo deste estudo foi descrever um surto de poliencefalomielite em leitões lactentes e desmamados em uma granja tecnificada de suínos localizada no estado de São Paulo.

Material e métodos

O seguinte relato descreve o aumento de mortalidade de leitões nas fases de maternidade e creche

em decorrência de sintomatologia nervosa em uma granja localizada no Sudeste do Brasil. Leitões lactentes apresentavam sinais neurológicos como vocalização, nistagmo, opistótono e paresia de membros posteriores. Os animais de creche, além de apresentarem estes mesmos sinais neurológicos, também apresentavam sinais respiratórios, como secreção nasal, tosse, batadeira e febre. Foram eutanasiados 7 animais, 2 em fase de maternidade e 5 em fase de creche, que cursavam com os sinais clínicos relatados para a realização de necropsia e coleta de vísceras congeladas ou em formol a 10% para exames de PCR e histopatológico, respectivamente. Para o exame de PCR, amostras de fezes, cérebro e medula dos 7 animais foram avaliadas quanto à detecção de agentes virais, como teschovírus (PTV), astrovírus (PoAstV), enterovírus (EV-G) e sapelovírus (PSV-A). Para a extração do material genético foi utilizado o kit King Fisher Duo - MagMAX CORE Nucleid Acid e, em seguida, foi sintetizado o cDNA utilizando o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit. A RT-PCR foi utilizada para identificar PTV, EV-G e PSV-A (Krumbholz, 2003) e PoAstV (Chu, 2008).

Resultados e discussão

Os resultados dos exames laboratoriais estão descritos na Tabela 1. Na descrição histopatológica das amostras de medula espinhal foram observadas lesões como gliose, neuroniofagia mais direcionada para substância cinzenta e ocorrência de manguito perivascular nas substâncias cinzenta e branca que, conforme descrito por Deng et al. (2012) e Hammerschmitt et al. (2021), caracterizam lesões de teschovirus. Estes achados sugerem a ocorrência de polioencefalomielite linfoplasmocítica de provável causa viral. Após confirmação de envolvimento de teschovirus por PCR, concluiu-se que este vírus estava envolvido no

surto relatado. O envolvimento de outros agentes virais testados foi descartado, já que o PCR foi negativo para todos eles.

Conclusão

Com base nos sinais clínicos relatados, associados aos achados histopatológicos e moleculares, concluiu-se que o quadro clínico neurológico descrito foi compatível com a infecção por *porcine teschovirus*, que vem se tornando um agente cada vez mais frequente na suinocultura tecnificada e que deve ser considerado no diagnóstico diferencial de doenças nervosas de suínos.

Tabela 1 - Resultados laboratoriais dos exames solicitados

ID	Fase	Material coletado	PCR para teschovirus
1	Maternidade	Cérebro, medula e fezes	Positivo nas fezes e negativo em cérebro e medula
2	Maternidade	Cérebro, medula e fezes	Positivo
3	Creche	Cérebro e medula	Positivo
4	Creche	Cérebro e medula	Positivo
5	Creche	Cérebro	Positivo
6	Creche	Cérebro	Positivo
7	Creche	Cérebro	Negativo

Referências

CHU, D.K.W. et al. Novel astroviruses in insectivorous bats. *Journal of Virology*. v. 82, n. 18, p. 9107-9114, 2008.

DENG, M.Y. et al. Diagnóstico da encefalomielite por teschovirus suíno na República do Haiti. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. v. 24, n. 4, p. 671-678, 2012.

FERREYRA, F.M. et al. Experimental porcine astrovirus type 3-associated polioencephalomyelitis in swine. *Veterinary Pathology*. v. 58, n. 6, p. 1064-1074, 2021.

HAMMERSCHMITT, M.E. et al. Swine polioencephalomyelitis in Brazil: identification of *Teschovirus A*, *Sapelovirus A*, and *Enterovirus G* in a farm from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 52, n. 3, p. 1617-1622, 2021.

MALIK, Y.S. et al. Emerging and transboundary animal viruses. Editora Springer Singapore. *Livestock Diseases and Management*. 2020. p. 123-136.

OPRIESSNIG, T. et al. Porcine astrovirus type 5-associated enteritis in pigs. *Journal Of Comparative Pathology*. v. 181, p. 38-46, 2020.

Causas de morte em suínos de creche no estado de Santa Catarina: dados preliminares

Causes of death in nursery pigs in Santa Catarina State: preliminary data

Jean Carlo Olivo Menegatt^{1*}
Fernanda Felicetti Perosa¹
Anderson Hentz Gris¹
Manoela Marchezan Piva¹
Diego Luiz Bordignon²
Guilherme Athos Biombo²
Elaer de Matos²
Carolina Reck³
Álvaro Menin⁴
David Driemeier¹

¹ Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

² Nutron, Cargill, Chapecó, Brasil

³ Departamento de Pesquisa e Inovação, VERTÁ Laboratórios, Curitiba, Brasil

⁴ Departamento Biociências e Saúde Única, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, Brasil

Correspondência: menegattjean2@gmail.com

Palavras-chave: Estreptococose. Mortalidade. Necropsia.

Introdução

Durante a fase de creche, os suínos são muito suscetíveis a infecções bacterianas e virais por diversos fatores, como mistura de lotes, exposição a novos agentes infecciosos, modificação da dieta, além de novo ambiente (Kummer et al., 2009; Hopkins et al., 2018). São limitados os estudos quanto à mortalidade em leitões de creche, sendo a maioria deles retrospectivos ou focados em fatores de risco (Maes et al., 2004; Serrano et al., 2014; Gebhardt et al., 2020). O objetivo deste trabalho é apresentar os dados parciais sobre o estudo das causas de morte em leitões de sistemas comerciais de creche no estado de Santa Catarina, sul do Brasil.

Material e métodos

Um total de 18 crechários foram visitados durante o ano de 2022 em Santa Catarina. As visitas ocorreram por um período de cinco dias em cada crechário para acompanhamento das mortalidades. Todos os suínos que morreram nos sistemas neste período de visita foram necropsiados e colhidos fragmentos de órgãos para exame histopatológico. Fragmentos de órgãos, swabs e/ou exsudatos obtidos de lesões também foram coletados e submetidos para análise bacteriológica dentro de 24h. As colônias foram caracterizadas fenobioquimicamente (Quinn et al., 2011). Imunohistoquímica (IHQ) e reação da cadeia da polimerase (PCR) foram aplicadas, quando necessárias, para complementação diagnóstica.

Resultados e discussão

Ao total, 14 grupos de diagnóstico foram estabelecidos e os com maior frequência estão discriminados na Tabela 1. Das 18 unidades de creche analisadas neste estudo, 557 necropsias foram realizadas, sendo possível alcançar diagnóstico conclusivo em 93,4% (520/557). Resultados inconclusivos contabilizaram 6,6% (37/557) dos casos. A maioria dos casos de mortalidade concentrou-se entre 41-50 dias de vida.

Enfermidades infecciosas representaram a maioria absoluta dos diagnósticos conclusivos, com 87,3% de frequência (454/520), enquanto as doenças não infecciosas foram responsáveis por 12,7% (66/520). A maior frequência de causas infecciosas é esperada na mortalidade de suínos, sobretudo na creche, em decorrência da mistura de lotes, colonização e interação com novas cepas e agentes infecciosos, além da queda da imunidade materna protetora (Kummer et al., 2009).

A principal causa de morte foi relacionada à infecção por *Streptococcus suis*, agente etiológico da estreptococose, doença infecto-contagiosa sistêmica que causa lesões em múltiplos órgãos (Zimmerman et al., 2019). Surtos da

doença vêm ocorrendo no mundo (Goyette-Desjardins et al., 2014; Segura et al., 2020), principalmente associado ao sorotipo 9 (Hammerschmitt et al., 2022).

As polisserosites bacterianas tiveram isolamento de *Glaesserella parasuis* (doença de Glässer - DG). A DG é uma enfermidade de carácter agudo e sistêmico grave, que ocorre principalmente a partir da segunda semana de alojamento na creche (entre 35-50 dias de vida) (Barcellos e Guedes, 2022). Adicionalmente, observa-se maior ocorrência de casos de DG quando há infecções concomitantes por agentes primários, como o vírus da influenza suína (SIV) (Zimmerman et al., 2019), observado em 79,5% dos casos de polisserosite de nossa pesquisa.

Tabela 1 - Principais causas de morte diagnosticadas em suínos de creche provenientes de 18 crechários no estado de Santa Catarina

Diagnóstico	Total	Porcentagem	Intervalo de idade (dias)	Média de idades (mediana)
Infecção por <i>Streptococcus suis</i>	118	21,2	22-64	49 (50)
Polisserosite bacteriana	93	16,7	27-70	45 (45)
Enterite atrófica crônica	75	13,5	25-60	42 (40)
Salmonelose	49	8,8	32-66	50 (50)
Pneumonias	48	8,6	27-66	44 (45)
Colibacilose	34	6,1	28-51	37 (38)
Outros	103	18,5	28-70	51 (50)
Inconclusivos	37	6,6	24-70	43 (43)
Total	557	100,00	-	-

Pneumonias bacterianas corresponderam a 56,3% dos diagnósticos (27/48), onde 74,1% (20/27) dos casos havia lesões de pneumonia por SIV concomitante. As pneumonias virais totalizaram 43,7% (21/48) dos casos, todas com lesão morfológica compatível com infecção por SIV. O SIV tipo A é um agente difundido nos rebanhos brasileiros e um importante facilitador de doenças bacterianas pulmonares secundárias (Rech et al., 2018).

As enterites atróficas foram outro grupo de representatividade neste trabalho. A atrofia de vilosidades intestinais é uma condição patológica comum que resulta na má absorção de nutrientes pelos enterócitos, o que leva à redução de peso, caquexia, desidratação, diarreia e, em casos mais graves, morte (Maxie, 2016). Colibacilose e salmonelose também foram diagnósticos frequentes. A colibacilose ocorre na creche em leitões até a terceira semana após o desmame, sobretudo associada a infecções por *Escherichia coli* entererotoxigênica (Barcellos e Guedes, 2022). A salmonelose ocorreu em suínos a partir da segunda semana de alojamento da creche e foi diagnosticada até o fim da fase. A maioria dos casos foram agudos ou subagudos, mas casos crônicos também foram notados, assim como relatado em outros estudos (Piva et al., 2020).

Conclusão

As doenças de origem infecciosa foram responsáveis pela maior parte das causas de morte neste trabalho, com destaque para às infecções por *S. suis* e polisserosites por *G. parasuis*. A maior frequência das mortalidades ocorreu entre 41-50 dias de vida dos suínos. Uma grande variedade de condições foi diagnosticada, a maioria facilmente confirmada através de análise de necropsia, histopatologia e isolamento bacteriano das lesões.

Referências

- BARCELLOS, D.; GUEDES, R. Doenças dos suínos. 3 ed. Porto Alegre: Copyright; 2022.1060 p.
- Gebhardt, J.T. et al. Postweaning mortality in commercial swine production II: review of infectious contributing factors. *Translational Animal Science*, v. 4, n. 2, p. 485-506, 2020.
- GOYETTE-DESJARDINS, G. et al. *Streptococcus suis*, an important pig pathogen and emerging zoonotic agent - An update on the worldwide distribution based on serotyping and sequence typing. *Emerging Microbes & Infections*, v. 3, p. 1-20, 2014.

HAMMERSCHMITT, M.E. et al. Clinical and pathological aspects of an outbreak of *Streptococcus suis* serotype 9 infection in pigs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 42, 2022.

HOPKINS, D. et al. Factors contributing to mortality during a *Streptococcus suis* outbreak in nursery pigs. *Canadian Veterinary Journal*, v. 59, p. 623-630, 2018.

KUMMER, et al. Fatores que influenciam o desempenho dos leitões na fase de creche. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 37, n. 1, p.195-209, 2009.

MAES, D.G. et al. Risk Factors for mortality in grow-finishing pigs in Belgium. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 51, p. 321-326, 2004.

MAXIE, M.G. Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol. 3, 6 ed, Elsevier: St. Louis, 2016.

PIVA et al. Causes of death in growing-finishing pigs in two technified farms in southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 40, n. 10, p. 758-775, 2020.

QUINN, P.J. et al. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2 ed. Willey-Blackwell. 2011. 908p.

RECH, R.R. et al. Porcine respiratory disease complex after the introduction of H1N1/2009 influenza virus in Brazil. *Zoonoses Public Health*, v. 65, p. 155-161, 2018.

SEGURA, M. et al. Update on *Streptococcus suis* research and prevention in the era of antimicrobial restriction: 4th International Workshop on S. suis. *Pathogens*, v. 9, n. 5, p. 374, 2020.

SERRANO, E. et al. The use of null models and partial least squares approach path modelling (PLS-PM) for investigating risk factors influencing post-weaning mortality in indoor pig farms. *Epidemiology and Infection*, v. 142, p. 530-539, 2014.

ZIMMERMAN, J.J. et al. *Diseases of Swine*. 11 ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2019.1132p.

Experimental infection of piglets with different *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates

Karina Sonalio^{1,2*}
 Filip Boyen¹
 Irene Santamarta³
 Dominiek Maes¹
 Luís Guilherme de Oliveira²

Infecção experimental de leitões com diferentes isolados de Mycoplasma hyopneumoniae

¹ Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Merelbeke, Belgium

² Universidade Estadual Paulista, School of Agricultural and Veterinarian Sciences, Jaboticabal, Brazil

³ Laboratorios Syva SAU, León, Spain

Correspondence: karina.sonalio@unesp.br

Keywords: Enzootic pneumonia. Lung consolidation. Pathogenicity.

Introduction

Mycoplasma hyopneumoniae is one of the most important respiratory pathogens in swine production and is the primary etiological agent of enzootic pneumonia (Pieters and Maes, 2019). Considering that pigs can be infected with more than one *M. hyopneumoniae* strain and that the severity of the lung lesions is influenced by differences in pathogenicity (Vicca et al. 2003; Betlach, Maes et al. 2019; Pieters and Maes, 2019), investigating the disease development and clinical parameters of different field isolates are of great interest. Therefore, we aimed at evaluating the virulence of two recently isolated *M. hyopneumoniae* strains.

Material and methods

Thirty-two pigs, originating from a *M. hyopneumoniae*-free farm, were randomly allocated into four different groups (n = 8/group), one negative control group (NCG), and three infected groups (G1, G2, and G3). Upon arrival, a thermal microchip was implanted intramuscularly in the neck of each piglet to assess intramuscular temperature (IMT). Then, piglets were able to acclimatize for 11 days, until challenge (D0), where pigs of the infected groups (G1-G3) were endotracheally inoculated with 7 ml of the different *M. hyopneumoniae* isolates (S1, S2, or S3), respectively. On the next day, all animals from G1-G3 were inoculated with 7 ml of a low virulent strain (S4). All inoculums contained 10⁸ CCU/ml. The NCG group received 7ml of sterile Friis medium on both days (D0 and D1). The S2 and S3 strains are field isolates of *M. hyopneumoniae* isolated from slaughtered pigs in Belgium with *Mycoplasma*-like lung lesions in 2021, while S1 and S4 are two already known strains (Beuckelaer et al., 2022; Vicca et al., 2003).

Biological samples, like blood and bronchoalveolar lavage fluid (BALF), were collected on D0 and D28 to evaluate the presence of antibodies using a commercial ELISA and the *M. hyopneumoniae* bacterial load using digital PCR (dPCR) (Beuckelaere et al., 2022), respectively. The respiratory disease score (RDS) (Halbur et al., 1996) and IMT were monitored daily throughout the study (D-11 to D28). Rectal temperature (RT) was measured for five consecutive days (D-7 to D-3) to assess the correlation with IMT. Animals were weighed on D-11, D0, and D28 to

calculate the average daily weight gain (ADWG). Macroscopic lung consolidated lesions (MLCL) were evaluated at necropsy (D28). Descriptive analyses and Spearman's correlation test were performed on the data ($p < 0.05$).

Results and discussion

Mean MLCL, IMT, RT, RDS, dPCR, ELISA, and ADWG values are shown in Table 1. No significant differences were observed between the infected groups (G1-G3) for the abovementioned parameters. However, when evaluating associations irrespectively of the groups, a positive correlation was reported between MLCL and RDS (D0 to D28; $\rho = 0.65$; $p < 0.05$), MLCL and ELISA ($\rho = 0.73$, $p < 0.05$), and between MLCL and dPCR ($\rho = 0.63$, $p < 0.05$). The dPCR data was associated with RDS ($\rho = 0.70$, $p < 0.05$) while ELISA was associated with RDS and dPCR ($\rho = 0.72$, and $\rho = 0.74$, $p < 0.05$, respectively). A moderate correlation was observed between IMT and BT ($\rho = 0.49$, $p < 0.05$), along with a mean difference of $0.25\text{ }^{\circ}\text{C}$, where the IMT was slightly higher than the RT. When comparing the NCG with the infected groups, significant differences were observed for all parameters, but for body temperature (IMT and RT). These data suggest that the new *M. hyopneumoniae* isolates (S2, S3) were capable of inducing

similar MLCL when compared to the known virulent strain (S1). Other authors (Vicca et al., 2003) reported similar MLCL values for other tree *M. hyopneumoniae* isolates, which were later categorized as low and moderate virulence. Regarding the mean RDS data (post-inoculation), the values indicate that, overall, the occurrence of the main clinical sign (dry-cough) was very much alike between the infected groups and very similar to the values observed by Vicca et al. (2003) for isolates of moderate and high virulence. Positive and significant correlations were observed between most parameters, except for ADWG. This is likely related to the fact that *M. hyopneumoniae* is associated with chronic disease, and its impact on weight gain is mostly seen at the finishing phase. Lastly, although no statistical analyses were performed to compare the infected groups, the descriptive results indicate that the values among these groups were similar for all parameters evaluated in this study.

Conclusion

The above-mentioned results indicate that most parameters (MLCL, RDS, ELISA, and dPCR) were directly affected by infection, and the challenge with *M. hyopneumoniae* successfully induced the disease, regardless of the isolate used.

Table 1 - Mean values of macroscopic lung consolidation lesion score (MLCL), intramuscular temperature (IMT), rectal temperature (RT), respiratory disease score (RDS), *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterial load (dPCR), serum antibody levels (ELISA), and average daily weight gain (ADWG) of the infected groups (G1-G3) and the negative control group (NCG)

Parameter	Study day	NCG	G1	G2	G3
MLCL	D28	0.6	3.9	4.4	4.7
IMT ($^{\circ}\text{C}$)	D-7 to D-3	39.7	39.9	39.8	39.6
	D0 to D28	39.6	39.6	39.7	39.7
RT ($^{\circ}\text{C}$)	D-7 to D-3	39.5	39.5	39.7	39.3
RDS	D-11 to D-1	0.0	0.0	0.0	0.0
	D0 to D28	0.1	1.1	0.8	1.0
dPCR (log10)	D28	0.0	4.7	4.3	4.3
ELISA	D28	0.0	0.9	0.6	0.6
ADWG (kg/pig/day)	D0 to D28	0.4	0.4	0.5	0.4

References

- BETLACH, A. M. et al. *Mycoplasma hyopneumoniae* variability: Current trends and proposed terminology for genomic classification. *Transbound Emerg Dis.* 66(5):1840-1854, 2019.
- BEUCKELAERE, L. et al. Different local, innate and adaptive immune responses are induced by two commercial *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterins and an adjuvant alone. *Front Immunol.* 13, 2022.
- HALBUR, P. G. et al. Comparative pathogenicity of nine US porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.* 8(1): 11-20, 1996.
- PIETERS, M. G.; D. MAES. *Mycoplasmosis. Diseases of Swine.* 863-883, 2019.
- VICCA, J., T. et al. Evaluation of virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates. *Veterinary microbiology.* 97(3-4): 177-190, 2003.

Presença e grau de contaminação de micotoxinas em matéria-prima destinada à alimentação de suínos no centro-oeste brasileiro

Carlos Damian Segovia*
Sarah Rodrigues Chagas
Isadora de Sousa Lima
Lívia Mendonça Pascoal

Mycotoxins presence and degree of contamination in raw material intended for swine feed in the Brazilian Midwest

Setor Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

Correspondência: carlosdsegovia511@gmail.com

Palavras-chave: Aflatoxinas. Desoxinivalenol. Fumonisinias.

Introdução

As rações formuladas na suinocultura contêm uma mistura de grãos, os quais são suscetíveis a desenvolver fungos que produzem toxinas (Palhari et al., 2019). As micotoxinas são compostos tóxicos produzidos por fungos filamentosos que podem afetar os suínos nas diferentes etapas da produção e causar grandes prejuízos à suinocultura (Freitas et al., 2012; Palhari et al., 2019). O objetivo desse estudo, portanto, foi avaliar a presença de micotoxinas em amostras de matéria-prima destinada a formulações de ração para suínos no centro-oeste brasileiro durante os anos de 2021 e 2023.

Material e métodos

Para o estudo foram avaliadas 251 amostras entre milho, farelo de soja, sorgo e farelo de trigo destinados a formulações de dietas de suínos dos estados de Goiás, Mato Grosso e Distrito Federal. As amostras foram coletadas entre maio de 2021 e junho de 2023 e processadas no Laboratório de Pesquisa e Inovação da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Para as análises das amostras das matérias-primas, utilizou-se a Plataforma de Análise Integrada Raptor® com o intuito de determinar a contaminação pelas micotoxinas zearalenona (ZEA), aflatoxina (AFLA), desoxinivalenol (DON) e fumonisina (FUMO). Em relação à concentração das micotoxinas analisadas, foram obtidas as médias em partes por bilhão (ppb) dos quatro ingredientes, nos dois estados e no Distrito Federal.

Resultados e discussão

Das 251 amostras de matérias-primas analisadas, 100% foram positivas para pelo menos uma micotoxina, 96% (n = 241) para DON, 89% (n = 223) para FUMO, 80% (n = 201) para AFLA e 52% (n = 131) para ZEA. Os resultados encontrados mostram que DON é a micotoxina mais prevalente nos estados avaliados, o que está de acordo com Prange et al. (2005), que concluíram que DON é a micotoxina mais comumente encontrada

em grãos. Calori-Dominguez et al. (2007) determinaram a presença de DON em 94% de amostras de trigo de origem brasileira, o que também demonstra uma semelhança com os resultados obtidos na presente pesquisa. Silva et al. (2004) encontraram 91,5 e 64,4% de amostras de grãos de sorgo brasileiro positivas para FUMO e AFLA respectivamente, obtendo valores próximos aos determinados no presente estudo. Analisando a contaminação de amostras para ZEA, Oliveira et al. (2009) detectaram essa micotoxina em 75% dos grãos de milho provenientes da região sul do Brasil; logo, os resultados obtidos neste trabalho estão abaixo dos valores estimados (Oliveira et al., 2009). Os níveis de DON obtidos foram entre 100 e 150 ppb (Figura 1A). Esses valores estão abaixo do permitido para rações de suínos segundo o Food and Drug Administration (FDA), que determina como valor máximo tolerável 5000 ppb em grãos e subprodutos, assim como recomenda que esses ingredientes contaminados não superem 20% da formulação total da ração. Além disso, até 1000 ppb não há a ocorrência de sinais clínicos em suínos (Osweiler e Ensley, 2012). O FDA também determina que os valores para FUMO no milho e derivados não supere 20.000 ppb, assim como não recomenda-se a inclusão de mais de 50% desses ingredientes na formulação da ração. Comparando com os resultados obtidos (Figura 1B), é possível verificar que os valores encontrados da micotoxina foram inferiores ao permitido para alimentação de suínos, sendo o valor máximo detectado de 1.283 ppb no milho.

Os níveis de AFLA detectados nas amostras analisadas foram de 0,5 a 2,7 ppb (Figura 1C), o que, segundo o FDA,

estariam abaixo dos valores toleráveis, já que em suínos na fase de terminação e acima de 100 quilogramas de peso vivo, o permitido é de 200 ppb e de 100 ppb para suínos de outras idades. Os resultados referentes à ZEA (Figura 1D), por sua vez, foram de 0,5 a 130 ppb. Esses valores são inferiores aos limites estabelecidos pelo FDA, que determina que os valores da micotoxina devem ser abaixo de 500 ppb para matéria-prima destinada à ração de suínos. A concentração de ZEA encontrada não induz sinais clínicos nos animais, já que para que isso são necessários mais de 1000 ppb (Osweiler, 2000). Apesar dos valores encontrados estarem abaixo dos limites aceitáveis e não serem suficientes para causar sinais clínicos, a presença dessas micotoxinas pode implicar em potencial impacto sobre o desempenho de suínos, além da possibilidade de comprometimento da imunidade do animal (Sobestiansky e Barcellos, 2022).

Conclusão

As diferentes matérias primas destinadas à formulação de ração de suínos nos estados estudados apresentaram um valor de contaminação com micotoxinas similar aos obtidos por outros autores. Sobre a concentração das micotoxinas analisadas, estas estavam abaixo dos valores aceitáveis em todas as matérias-primas analisadas nos dois estados e no Distrito Federal, o que indica um baixo risco para a produção suína, porém não exclui a possibilidade de alterar a ingestão alimentar, a saúde intestinal, a imunidade e a produtividade dos animais.

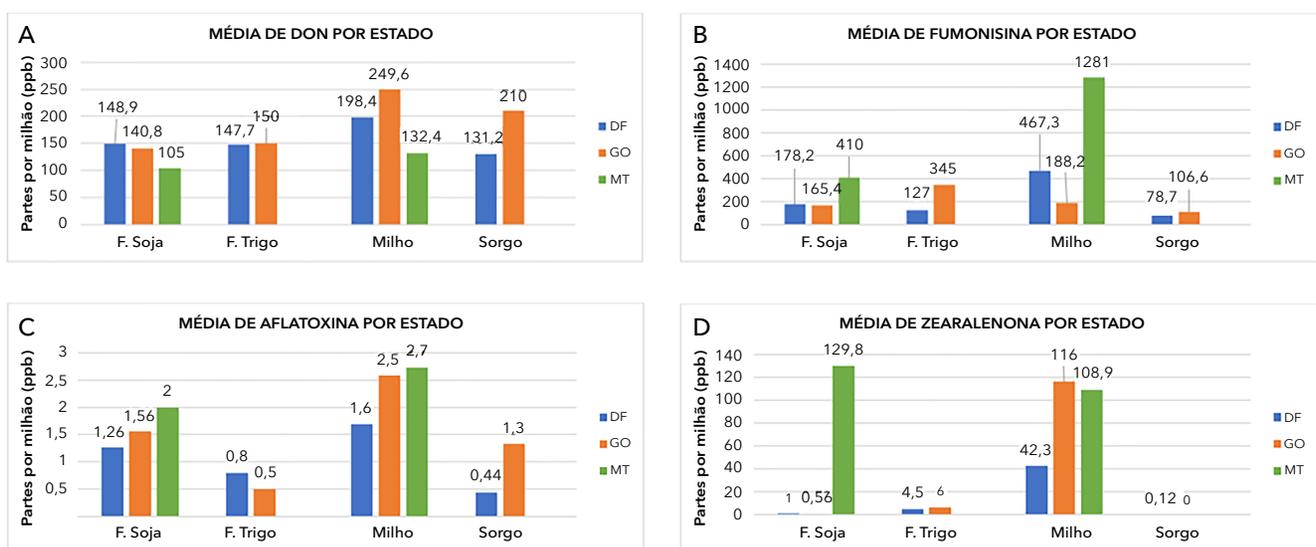


Figura 1 - Média de desoxinivalenol (DON), fumonisina, aflatoxina e zearalenona por estado.

Referências

- CALORI-DOMINGUES, M. A. et al. Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.27, p.181-185, 2007.
- PALHARI, C. C. et al. Intoxicação aguda por micotoxina em suínos: relato de caso. *UNINGÁ Review*. v.34, 2019.
- SILVA, J.B. et al. Production of aflatoxins by *Aspergillus Flavus* and of fumonisins by *Fusarium* species isolated from Brazilian sorghum. *Brazilian Journal of Microbiology*. v.35, p. 182-186, 2004.
- OLIVEIRA, T. R. Et al. Maize (*Zea Mays* L) landraces from the southern region of Brazil: contamination by *Fusarium* sp., zearalenone, physical and mechanical characteristics of the kernels. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. v.52, p.11-16, 2009.
- FDA - Food and Drug Administration. Food and Drug Administration Mycotoxin Regulatory Guidance. National Grain and Feed Association; Washington, DC, USA: 2011.
- FREITAS, B. V. et al. Micotoxicose em suínos: uma revisão. *J An Product Adv*. v.2(4), p.174-181, 2012.
- OSWEILER G.D. Mycotoxins. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. v.15, p.33-46, 2000.
- OSWEILER, G.D.; ENSLEY, S. M. Mycotoxins in grains and feeds. *Diseases of Swine*. 10 ed. Oxford, England: John Wiley & Sons; 2012. 938-952.
- PRANGE, A. et al. *Fusarium* inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time. *Food Control*. v.16, p.739-745, 2005.
- SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. *Doença dos Suínos*. 3 ed. Goiânia: Cãnone Editorial, 2022. p. 783.

Comparação de testes comerciais de qPCR para *Mycoplasma hyopneumoniae* ante um teste *in house*

Caroline Pissetti¹
Gustavo Simão^{2*}
Luís Henrique Gouvêa Saraiva²
Suzana Satomi Kuchiishi¹
Eduardo de Freitas Costa³

Comparison of commercial qPCR tests for Mycoplasma hyopneumoniae against an in-house test

¹ Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal - CEDISA, Concórdia, Brasil

² Agroceres PIC, Rio Claro, Brasil

³ Department of Epidemiology, Bio-Informatics and Animal Models, Wageningen Bioveterinary Research, Holanda

Correspondência: gustavo.simao@agroceres.com

Palavras-chave: Diagnóstico. Monitoramento. qPCR.

Introdução

Mycoplasma hyopneumoniae é um agente do complexo respiratório suíno, causador da pneumonia enzootica suína, uma importante doença pulmonar crônica de suínos. Tanto a infecção quanto as coinfeções por *M. hyopneumoniae* podem afetar significativamente a produtividade e lucratividade dos sistemas de produção de suínos (Maes et al., 2021). Desta maneira, o monitoramento contínuo do status do rebanho e testes em animais de reposição é de extrema importância.

Existem diferentes técnicas de amostragens e ferramentas para o diagnóstico disponíveis, detectando tanto

antígenos quanto anticorpos. O isolamento do agente é desafiador, devido a sua complexidade e crescimento lento da bactéria (Garcia-Morante et al., 2018). Desta forma, testes detectando o agente através da PCR em tempo real (qPCR) cada vez mais são utilizados para este propósito. Existem kits comerciais de qPCR para detecção do agente, por isso, o objetivo deste trabalho foi comparar o desempenho de um qPCR *in house* ante dois kits comerciais em amostras de swab traqueal em animais positivos e negativos para *M. hyopneumoniae*.

Material e métodos

Foram utilizadas 65 amostras de swabs traqueais de suínos com resultado conhecido. As amostras foram processadas de acordo com os procedimentos padrão do Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal - CEDISA. Após o pré-tratamento dos swabs com o ATL (Qiagen®), o DNA foi extraído pelo kit IndiMag Pathogen (Indical Bioscience) através de extração automatizada (IndiMag 48, Indical Bioscience) e armazenado congelado. Todos os DNAs extraídos foram submetidos a três reações de qPCR, sendo dois kits comerciais (Kit 1 e Kit 2), realizado de acordo com as instruções dos fabricantes, e um teste *in house*, previamente publicado (Dubosson et al., 2004). As reações foram rodadas no termociclador de tempo real QuantStudio™ 6 Flex (Applied Biosystems) e o sinal de fluorescência foi detectado no final da fase de extensão de cada ciclo. Os dados de todas as amplificações foram analisados com o software QuantStudio™

Real-Time PCR System, versão 1.3 (Applied Biosystems). Em todas as etapas do processo foram utilizados controles positivos e negativos independentes do controle interno dos kits comerciais. A comparação do teste *in house* com os testes comerciais foi feita por meio de um modelo linear misto, em que a variável resposta é o *cycle threshold* (Ct), incluindo como efeitos fixos o teste (*in house* vs comerciais) e como efeito randômico, a amostra. Valores de Ct ≥ 40 foram considerados dados censurados (i.e., limite de detecção). Para avaliar o ajuste dos modelos, foram realizadas análises de resíduos e teste de Levene para homogeneidade de variância. As análises foram realizadas com o pacote lme4cens (Kuhn et al., 2023), em linguagem R (R Core Team, 2023).

Resultados e discussão

Foram observadas 11, 7, e 13 amostras com Ct ≥ 40 nos testes *in house*, Kit 1 e Kit 2, respectivamente (Figura 1). No teste *in house*, a média do Ct encontrada foi de 31,31, não apresentando diferença estatística quando comparado com o Kit 1 ($p = 0,128$). Entretanto o Kit 2 apresentou detecção com aproximadamente 2 Cts a mais nas mesmas amostras, comparado com o *in house* ($p < 0,001$; Tabela 1). Normalmente, são necessários 40 ciclos na qPCR para detectar a menor quantidade do agente na amostra. O Ct (ou valor Cq) é definido em cada ciclo de qPCR, no qual a fluorescência atinge um nível de limite predefinido. Quanto mais agente-alvo estiver presente inicialmente na amostra, menor será o valor de Ct na qPCR.

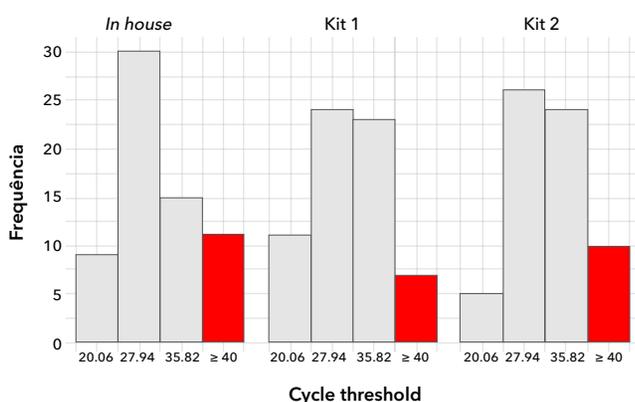


Figura 1 - Distribuição do *cycle threshold* (Ct) nos diferentes testes utilizados nas 65 amostras.

Nota: A barra vermelha sobre o Ct ≥ 40 representa o número de amostras censuradas.

O desempenho de qualquer teste depende do material coletado, qualidade da amostra enviada ao laboratório e método de extração de DNA (Silva et al., 2022). Neste trabalho, todas essas variáveis são iguais para os três testes e, desta forma, pode-se afirmar que o Kit 2 necessita em média mais ciclos para detectar *M. hyopneumoniae* quando comparado com os demais testes. Esta diferença tem implicações em práticas de vigilância do agente, uma vez que reflete menor sensibilidade do teste diagnóstico, aumentando, portanto, a probabilidade de uma amostra positiva ser erroneamente classificada como negativa.

Tabela 1 - Comparação de *cycle threshold* (Ct) médio entre os testes *in house* vs (Kit 1 e Kit 2).

Teste	Ct'	IC 95%	Valor-p
<i>In house</i>	31,31	(30,75 - 31,88)	-
Kit 1	30,79	(30,11 - 31,46)	0,128
Kit 2	33,12	(32,45 - 33,81)	<0,001

Nota: *Valor esperado de Ct. IC = intervalo de confiança.

Conclusão

A comparação do teste desenvolvido por Dubosson et al. (2004) antes os dois kits comerciais disponíveis demonstrou que o qPCR *in house* possui poder de detecção comparável ao Kit 1 e maior que o Kit 2, sendo considerado uma boa opção para monitoramentos e detecção precoce do agente.

Referências

- DUBOSSON, C. R. et al. Development of two real-time PCR assays for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in clinical samples. *Vet Microbiol.* 19;102(1-2):55-65, 2004.
- GARCIA-MORANTE, B., et al. Assessment of the in vitro growing dynamics and kinetics of the non-pathogenic J and pathogenic 11 and 232 *Mycoplasma hyopneumoniae* strains. *Vet Res* 49:45, 2018.
- KUHN, M. et al. lenz99/lme4cens, v0.1.14. Zenodo, 2023.
- MAES, D. et al. Perspectives for improvement of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccines in pigs. *Vet Res.* 52(1): 52-67, 2021.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2023.
- SILVA, A. P. S. P. et al. Effect of testing protocol and within-pen prevalence on the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* DNA in oral fluid samples. *Prev Vet Med.* 204, 2022.

Classificação filogenética e análise evolutiva de circovírus suíno tipo 2 (PCV-2) de amostras de suínos no Brasil

Vagner Ricardo Lunge*
Diéssy Kipper
André Salvador Kazantzi Fonseca
Nilo Ikuta

Phylogenetic classification and evolutionary analysis of porcine circovirus type 2 (PCV-2) from swine samples in Brazil

Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, Brasil

Correspondência: lunge@simbios.com.br

Palavras-chave: Capsídeo viral. Genótipos de PCV-2. Sequenciamento de DNA.

Introdução

A síndrome sistêmica do definhamento do leitão (PMWS) é uma doença altamente contagiosa causada pelo circovírus suíno tipo 2 (PCV-2). Esse vírus está amplamente disseminado nos rebanhos de produção comercial de suínos no Brasil e no mundo, sendo normalmente controlado por programas de vacinação.

O PCV-2 possui uma partícula viral não envelopada, com uma cápsula constituída basicamente da proteína Cap3 e genoma circular de fita simples de DNA (~1770 pares de nucleotídeos). O genoma apresenta três *open reading frames* (ORFs): a ORF1 codifica as proteínas da replicase Rep, a ORF2 sintetiza a proteína do capsídeo Cap3, e a ORF3 produz uma proteína associada com

apoptose. O sequenciamento de DNA da ORF2 é utilizado para a classificação em oito genótipos, denominados de PCV-2a até PCV-2h, e a proteína Cap3 (principalmente de PCV-2b e PCV-2d) é a mais utilizada como antígeno nas vacinas dos protocolos atuais de imunização. A ampla distribuição geográfica do PCV-2, com destaque para três genótipos principais (PCV-2a, PCV-2b e PCV-2d), tem sido associada às cadeias de produção de suínos e suas rotas comerciais. Estudos revelaram que o PCV-2a foi detectado pela primeira vez na Alemanha em 1962, sendo o mais prevalente nas décadas seguintes (Jacobsen et al., 2009). Gradualmente, cepas epidêmicas de PCV-2b passaram a ser disseminadas nos anos 2000, ainda antes do uso das primeiras vacinas comerciais (Franzo et al., 2016). Nos últimos anos, o PCV-2 passou por uma segunda mudança genotípica, com a emergência do genótipo PCV-2d (Franzo e Segalés, 2018). Os objetivos do presente estudo foram: realizar um estudo filogenético e filodinâmico amplo de sequências de ORF2 dos principais genótipos de PCV-2, com a inclusão de novas sequências de PCV-2 do Brasil; e avaliar alterações específicas de aminoácidos na estrutura da proteína do capsídeo viral das sequências de PCV-2b e PCV-2d circulantes no país.

Material e métodos

Vinte e nove amostras de suínos com manifestações clínicas de PMWS de diferentes rebanhos comerciais do

Brasil foram analisadas após extração de DNA e ensaios de PCR específicos para PCV-2. O DNA foi extraído com um conjunto de reagentes Prep e PreAmp. Após amplificação por PCR, realizou-se com os reagentes PCVAmp, de acordo com as instruções (Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS, Brasil). Posteriormente, os DNAs extraídos foram utilizados para sequenciamento parcial da região ORF2 pela metodologia de Sanger. Sequências do gene ORF2 completo de 162 amostras foram obtidas do GenBank a partir de um conjunto de dados (*dataset*) elaborado por Franzo e Segalés (2018). Esse *dataset* possuía sequências de PCV-2 identificadas em animais da Ásia, Américas do Norte e do Sul e Europa no período de 1996 a 2017, sendo classificadas como PCV-2a (n = 50), PCV-2b (n = 53), PCV-2c (n = 1), PCV-2d (n = 27), PCV-2e (n = 7), PCV-2f (n = 8), PCV-2g (n = 7) e PCV-2h (n = 9). As amostras sequenciadas no presente estudo (n = 29) foram incorporadas ao *dataset* e o alinhamento foi realizado usando MAFFT v.7. A árvore filogenética radial foi construída usando o método de máxima verossimilhança e o modelo de substituição de nucleotídeos ideal foi selecionado usando ModelFinder, com 1 mil réplicas do método de *bootstrap* ultrarrápido. Os eventos de recombinação foram verificados com o RDP5 v. 5.34, usando oito diferentes algoritmos (RDP, GENECONV, BootScan, MaxChi, Chimaera, SiScan, 3Seq e LARD). Eventos de recombinação foram considerados significativos quando observados em quatro ou mais algoritmos.

O sinal temporal foi avaliado por regressão linear no programa TempEst v. 1.5. O alinhamento gerado (sem amostras recombinantes) foi analisado usando a abordagem bayesiana serial coalescente no programa BEAST v. 1.8.2. Os arquivos de log resultantes foram visualizados no Tracer v. 1.6 para garantir que os valores de ESS (*effective sample size* - tamanho de amostra efetivo) fossem suficientemente altos. TreeAnnotator v. 1.8.2 foi usado para construir uma árvore de máxima credibilidade de clado.

As sequências de aminoácidos das proteínas Cap3 obtidas a partir das 191 sequências da ORF2 de PCV-2 foram alinhadas com MAFFT v. 7. As principais substituições de aminoácidos entre a Cap3 de PCV-2b e PCV-2d de amostras brasileiras foram inspecionadas visualmente no Geneious v. 2021.2.2.

Resultados e discussão

A árvore filogenética mostrou a distribuição dos genótipos em oito cladogramas (PCV-2a a PCV-2h), conforme previamente apresentado por Franzo e Segalés (2018). Entre as mais reportadas, destacam-se as sequências de PCV-2b (n = 63; 33%) e PCV-2d (n = 46; 24%). Com relação a todas as sequências de PCV-2 de amostras obtidas no Brasil, foram identificados PCV-2a (n = 2), PCV-2b (n = 19), PCV-2c (n = 1), PCV-2d (n = 22) e PCV-2f (n = 1). As 29 novas sequências de PCV-2 reportadas nesse estudo agruparam-se nos cladogramas PCV-2b (n = 10) e PCV-2d (n = 19), sendo que as sequências PCV-2b agruparam-se em dois subcladogramas e as de PCV-2d em pelo menos três subcladogramas, sugerindo eventos de introdução independentes no país.

A avaliação de recombinantes mostrou 12 eventos em 15 sequências, que foram removidas da análise temporal. A análise filodinâmica desse novo *dataset* (n = 177) demonstrou que PCV-2 provavelmente tem um ancestral comum no século XIX (~1850). Com relação aos genótipos, PCV-2a tem uma origem mais antiga (~1918) em comparação a PCV-2b (~1977) e PCV-2d (~1964). As amostras de PCV-2 sequenciadas nesse estudo parecem apresentar ancestrais do presente século (~2012 para PCV-2b e ~2003 para PCV-2d).

A análise das sequências de aminoácidos da Cap3 de PCV-2b e PCV-2d mostrou onze *host spots* específicos para cada genótipo (Tabela 1). Não foram detectadas substituições específicas de aminoácidos que caracterizassem as sequências de Cap3 das amostras brasileiras de PCV-2.

Conclusão

O presente estudo demonstra a circulação recente de genótipos PCV-2b e PCV-2d em rebanhos de produção comercial de suínos no Brasil. A análise temporal demonstrou provável introdução desses genótipos ao longo dos últimos 20 anos em diferentes momentos. Ainda não foram registradas alterações nas sequências de aminoácidos da Cap3 de PCV-2b e PCV-2d ("assinaturas moleculares") nas amostras do Brasil.

Tabela 1 - Posição de *hot spots* nos quais existem diferenças de aminoácidos entre os genótipos PCV-2b e PCV-2d

PVC	8	53	57	59	89	90	121	134	169	210	215
2b	Y (98,4)	F (98,4)	I (90,6)	R (90,6)	R (98,4)	S (98,4)	S (95,3)	T (82,8)	S (98,4)	E (95,3)	V (96,8)
2d	F (95,5)	I (93,3)	V (100)	K (93,3)	L (95,5)	T (97,7)	T (93,3)	N (93,3)	R (82,2)	D (93,3)	I (91,1)

Nota: Os valores entre parênteses indicam a porcentagem de ocorrência do aminoácido na posição de cada genótipo dentro do gene ORF2

Referências

FRANZO, G. et al. Porcine circovirus type 2 (PCV2) evolution before and after the vaccination introduction: A large scale epidemiological study. *Scientific Reports*, v. 6, p. 39458, 2016.

JACOBSEN, B. et al. Retrospective study on the occurrence of porcine circovirus 2 infection and associated entities in Northern Germany, *Veterinary Microbiology*, v. 138, p. 27-33, 2009.

FRANZO, G. E.; SEGALÉS, J. Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *PloS one*, v. 13, p. e0208585, 2018.

Avaliação e prevalência de lesões pulmonares relacionadas à pneumonia enzoótica e pleuropneumonia no Brasil

Pedro Filsner*
Juliana Calveyra
Felipe Betiolo
Marina Wlter
Cíntia Sortori
Cristian Postal

Prevalence and scoring of lung lesions related to enzootic pneumonia and pleuropneumonia in Brazil

Ceva Saúde Animal, São Paulo, Brasil

Correspondência: pedro.filsner@ceva.com

Palavras-chave: Lesões pulmonares. Pleuropneumonia. Pneumonia enzoótica.

Introdução

Mycoplasma hyopneumoniae é um patógeno primário causador da pneumonia enzoótica, uma enfermidade respiratória crônica, e um dos principais agentes envolvidos no complexo das doenças respiratórias dos suínos. Distribuído mundialmente, o *M. hyopneumoniae* é responsável por perdas importantes para a suinocultura industrial (Pieters, 2018). Outro agente de grande relevância para a sanidade respiratória dos suínos é o *Actinobacillus pleuropneumoniae*, causador da pleuropneumonia suína, uma doença de apresentação fibrino-hemorrágica com uma pleurite adesiva, culpada pelo aumento de condenas em plantas frigoríficas, impactando diretamente os ganhos econômicos de boa parte da cadeia produtora de suínos (Vaz, 2004). Uma prática

para o monitoramento destes dois agentes é a inspeção de pulmões no frigorífico, já que esta pode mostrar os impactos populacionais das doenças, a efetividade dos protocolos vacinais, bem como relacionar os níveis de lesão pulmonares com os impactos produtivos a campo. O objetivo desse estudo foi mensurar os níveis de lesões sugestivas de pneumonia enzoótica e pleuropneumonia em granjas brasileiras durante o período de 2020 a 2023, utilizando a ferramenta CEVA Lung Program.

Material e métodos

Entre os anos de 2020 e 2023 foram realizadas 1.487 inspeções de pulmões ao abate, totalizando 142.176 pulmões avaliados através da metodologia do sistema CEVA Lung Program. Os animais utilizados para o estudo tinham origem de diversas regiões produtoras de suínos do Brasil, como Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e Mato Grosso. Os valores médios foram calculados para porcentagem de pulmões broncopneumônicos, superfície afetada dos pulmões, índice de EP, lesões AP *like* e pleurisia dorso-caudal.

Resultados e discussão

Entre o período de 2020 e 2023, uma média de 95 pulmões por lote foram inspecionados. Pulmões broncopneumônicos estavam presentes em 59,99% das amostras (Figura 1); 3,95 foi o percentual médio de superfície

afetada dos pulmões. Este último dado é relevante, uma vez que cada ponto percentual acumulado na superfície afetada dos pulmões corresponde a 1,8 g de impacto negativo no ganho de peso diário dos animais (Ferraz et al., 2019). A incidência de pleurisia dorso-caudal foi de 9,33 % no total de pulmões avaliados. Este indicador é um importante marcador para lesões sugestivas de App e foi descrito por Tucker (2013) com uma forte correlação com perdas ao abate. O mesmo autor relata que a cada 1% no acréscimo de pleurisias, 70g de carne por animal é perdida, tanto pelo desempenho quanto por condenações na planta frigorífica.

Quando comparados os níveis de lesões pulmonares estratificando as informações de acordo com a região de produção (Tabela 1), nota-se que o estado do Paraná sofreu com menores desafios respiratórios quando comparado com os outros estados da região Sul (Rio Grande

do Sul e Santa Catarina), contudo este resultado deve ser investigado com maior profundidade. Considerando as lesões relacionadas ao App, pode-se destacar o estado do Mato Grosso, onde as pleurisias craniais e dorso-ventrais superaram significativamente os percentuais médios dos outros estados, com 7% e 9,11% respectivamente.

Conclusão

O CEVA Lung Program demonstra ser uma ferramenta útil para monitorar e avaliar com uma perspectiva epidemiológica as lesões pulmonares relacionadas à pneumonia enzoótica e a pleuropneumonia suína. Com um banco de dados robusto é possível comparar as diferenças populacionais de cada região do país, relacionando as lesões com a sazonalidade, protocolo vacinal e granjas.

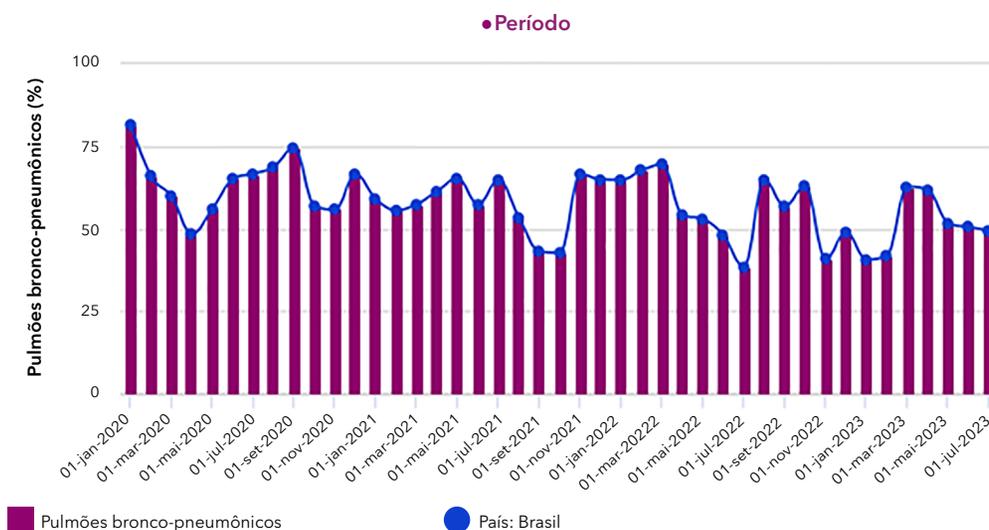


Figura 1 - Pulmões bronco-pneumônicos por período.

Tabela 1 - Graus de lesões pulmonares por estado (%)

Lesões]	Brasil	RS	SC	PR	SP	MG	MT
Pleurisia dorso-caudal	9,33	8,87	7,19	1,02	2,01	7,04	9,11
Pleurisia cranial	3,70	2,89	2,49	1,82	1,27	4,40	7,00
Cicatriz	8,91	7,85	9,47	6,98	1,02	11,30	2,65
Broncopneumonia	54,99	64,73	69,39	51,59	64,24	43,13	68,64
Área afetada - Todos os pulmões	3,95	5,13	4,80	3,40	6,10	2,63	7,6
Área afetada - Pulmões pneumônicos	6,04	6,38	6,17	5,64	8,00	5,21	9,9

Nota: RS = Rio Grande do Sul; SC = Santa Catarina; PR = Paraná; SP = São Paulo; MG = Minas Gerais; MT = Mato Grosso.

Referências

CMAES, D. et al. Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: Knowledge Transboundary and emerging diseases. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65 (Suppl. 1):110-124, 2018.

VAZ, C. S. L.; SILVA, S. C. Aspectos recentes da patogênese e diagnóstico da pleuropneumonia suína. *Ciência Rural*, 34 (2):, 635-643, 2004.

FERRAZ, M.E.S. et al. Lung consolidation caused by *Mycoplasma hyopneumoniae* has a negative effect on productive performance and economic revenue in finishing pigs. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 182, 2020.