



MODELO EXPERIMENTAL DE INDUÇÃO DE PLEUROPNEUMONIA POR *Actinobacillus pleuropneumoniae* EM SUÍNOS: ESTUDO CLÍNICO E LABORATORIAL

RAQUEL REBELATTO¹, NELSON MORES¹, MARCOS A. Z. MORES¹, LUIZ C. BORDIN¹;
CÁTIA S. KLEIN^{1*}

¹ Embrapa Suínos e Aves – Concórdia/SC – catia.klein@embrapa.br

Resumo – Foi avaliado um modelo experimental de indução de pleuropneumonia em suínos desafiados com *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App). Para tal, 10 suínos *Specific Pathogen Free* (SPF) foram desafiados com 3mL de inóculo de App sorotipo 5b, por via intranasal, na concentração de 10⁷ UFC/mL. Após o desafio, foram monitorados os sinais clínicos por 14 dias e foram realizadas colheitas de material clínico aos sete e quatorze dias pós-desafio para detecção de App por PCR, onde 7/8 amostras positivaram aos sete dias pós-desafio. Aos 14 dias pós-desafio todas as amostras voltaram a negativar e, no exame bacteriológico, não foi possível reisolar App. Um suíno morreu no dia seguinte ao desafio e outro no quarto dia pós-desafio, os demais foram eutanasiados e necropsiados quatorze dias pós-desafio, para avaliação patológica e colheita de fragmentos de pulmão e de tonsilas para isolamento bacteriológico. Quanto à avaliação clínica, 9/10 suínos apresentaram febre e 8/10 apresentaram dispneia. Quanto à avaliação patológica, nenhum suíno apresentou lesão de pericárdio, mas 7/10 apresentaram pneumonia fibrinonecrose hemorrágica e pleurite fibrinosa, diferindo na porcentagem de área afetada. Para os fragmentos de pulmão, houve recuperação da cepa inoculada em 50% dos suínos, sendo que nos suínos que não houve lesão patológica, também não houve reisolamento. Concluímos que o modelo experimental utilizado é adequado para reprodução da pleuropneumonia por App em suínos.

Palavras-chave: *Actinobacillus pleuropneumoniae*; modelo experimental; suínos.

EXPERIMENTAL MODEL OF INDUCTION OF PLEUROPNEUMONIA BY *Actinobacillus pleuropneumoniae* IN SWINE: CLINICAL AND LABORATORY STUDY

Abstract – An experimental model to induce pleuropneumonia in pigs with *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) was evaluated. In this study, 10 pigs Specific Pathogen Free (SPF) were challenged, intranasally, with 3mL of App serotype 5b at 10⁷ CFU/ml. After App challenge, clinical signs of the challenged pigs were monitored for 14 days. Clinical samples were collected from the challenged animals seven and 14 days post challenge for App detection by PCR performed, which resulted in 7 out of 8 samples being positive. At 14 days post challenge, all samples were negative for App by PCR and also by bacterial isolation. One pig died one day after the challenge and another pig died four days after the challenge. The others pigs were euthanized and submitted to necropsied fourteen days post challenge. Fragments of lung and tonsil were collected to perform bacterial isolation. In the clinical assessment, 9 out of 10 pigs had fever and 8 had dyspnea. There were no pericardial lesions; however 7 out of 10 pigs had lung and pleura lesions with different percentage of affected area. There was no App isolation in the tonsils. Nonetheless, there was App isolation in 50% of the inoculated pigs that had some pathological lesion. Therefore, the experimental model used in this study is suitable for pleuropneumonia reproduction in pigs.

Keywords: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, experimental model, swine

Introdução - As enfermidades respiratórias estão entre os principais problemas sanitários em todos os países com produção intensiva de suínos, sendo as pneumonias responsáveis por cerca de 50% do total de condenações de carcaças nos matadouros. As causas destas infecções são, geralmente, muito



complexas, com interações entre vários agentes infecciosos e fatores ambientais (SOBESTIANSKY et al., 2007). Um dos agentes bacterianos importantes, encontrado em lesões pulmonares, é o *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App), sendo este o causador da pleuropneumonia suína (PPS). A PPS é uma doença infectocontagiosa, caracterizada por lesões restritas a caixa torácica, envolvendo pulmões, pleura e, com frequência, pericárdio (MORES, 2006). Acomete animais de todas as idades, apresentando-se nas formas superaguda, aguda, subaguda e crônica (SOBESTIANSKY et al, 2007). O animal que apresenta a forma crônica ou assintomática se torna portador da doença, disseminando o agente que se abriga nos nódulos pulmonares necróticos, nas tonsilas ou na cavidade nasal. Uma vez o rebanho tornando-se infectado, este permanece com o agente por longos períodos. A severidade da doença depende da virulência bacteriana, do estado imunológico do rebanho e do manejo da criação. O diagnóstico é realizado com o isolamento e identificação do agente a partir de lesões características, recorrendo às técnicas utilizadas tradicionalmente em laboratório (FENWICK & HENRY, 1994). O objetivo do presente trabalho foi avaliar um modelo para reprodução experimental da pleuropneumonia por App em suínos, o qual pode ser muito útil em testes de novas vacinas e medicamentos para o controle da doença.

Material e Métodos - Foram utilizados 10 suínos de uma granja *Specific Pathogen Free* (SPF) para os patógenos respiratórios: App, *Haemophilus parasuis* (Hps), *Pasteurella multocida* (Pm) e *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhyo), de ambos os sexos, com aproximadamente 100 dias de vida. Os suínos foram transferidos da granja para o local do experimento, quatro dias antes do desafio, para aclimatação, permanecendo neste local durante todo o período experimental. Foram alojados em uma única sala, dividida em baias, com dois suínos por baia. Os animais foram alimentados *ad libitum* com ração balanceada e água. O desafio foi realizado com uma cepa padrão de App sorotipo 5b (cepa padrão – L20), armazenada na Coleção de Microrganismos de Interesse em Suinocultura e Avicultura (CMISEA) da Embrapa Suínos e Aves. Todos os suínos foram desafiados por gotejamento intranasal, com 3 mL (1,5 mL em cada narina) do inóculo de App, na concentração de 10^7 UFC / mL, com os animais em posição sentada. A partir do dia do desafio até o dia sete pós-desafio, todos os suínos foram avaliados clinicamente duas vezes ao dia. Após o dia sete, até a eutanásia, essa avaliação foi realizada uma única vez ao dia. Esta avaliação foi baseada na medição da temperatura retal, sendo considerada febre quando a temperatura foi superior a 40°C, além do comportamento e sinais respiratórios, para os quais os valores registrados foram comparados com escalas específicas. Assim, para o comportamento, foi adotada a escala descrita por Feitosa (2004): normal (zero), excitado ou estressado (1), apático (2) e em coma (3). Para os sinais respiratórios utilizou-se a escala de Wallgren et al. (1999): ausência de sinais (zero), dispneia moderada (1), dispneia moderada com tosse (2) e dispneia severa (3). Após, foi realizada análise estatística onde foi calculado o percentual de ocorrência de cada escore. Nos dias experimentais zero, sete e quatorze, foram colhidos suabe nasal e de tonsila (*pool*) para exame bacteriológico das doenças respiratórias, suabe de tonsila para teste de PCR para detecção de App e Mhyo (somente no dia zero) e sangue para detecção de anticorpos contra App e Mhyo por ELISA. Aos 14 dias pós-desafio os suínos foram eutanasiados pelo método de eletrocussão e necropsiados para avaliação patológica e colheita de pulmão e tonsila para bacteriologia a fim de recuperar a amostra inoculada no desafio. O presente estudo foi analisado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Suínos e Aves, protocolo número 006/2014, e por questões de bem estar animal, os suínos que apresentaram sinais clínicos acentuados da doença foram imediatamente eutanasiados.

Resultados e Discussão – Todos os suínos foram considerados livres de patógenos respiratórios pelo exame bacteriológico e ELISA, realizados antes do desafio. Dos 10 suínos desafiados, um foi encontrado morto um dia pós-desafio e outro foi eutanasiado quatro dias pós-desafio; os demais (8/10) foram acompanhados até o dia 14 pós-desafio. Todas as amostras, de todas as colheitas realizadas, foram negativas para App na detecção de anticorpos por ELISA. Na detecção de App por PCR, todas as amostras de suabes de tonsilas foram negativas na colheita anterior ao desafio, 7/8 amostras positivaram na colheita do 7º dia pós-desafio e todas voltaram a negativar na colheita dos quatorze dias pós-desafio, porém não foi possível isolar App das colheitas de suabe de tonsila, provavelmente devido à contaminação das amostras, demonstrando que este não é um método útil para a pesquisa do agente em animais portadores. Os dados descritos na Tabela 1 nos permitem inferir que, quanto à avaliação clínica, 9/10 suínos apresentaram febre e 8/10 apresentaram dispneia. Quanto à avaliação



patológica, 7/10 suínos apresentaram pleuropneumonia fibrinonecrohemorrágica, características de infecção por App. Nas amostras de pulmão houve reisolamento de App em 50% dos suínos, sendo que nos suínos que não houve lesão patológica, também não houve reisolamento. Assim, como houve indução de pleuropneumonia característica de App na maioria dos suínos (7/10), podemos afirmar que o modelo de desafio utilizado foi adequado, sendo aceitável que alguns suínos não adoeçam, pois há possibilidade de deglutição de parte do inóculo. Ainda, a recuperação da amostra, por isolamento bacteriológico, está na dependência da presença de lesões. Este modelo poderá ser utilizado em futuros testes de antimicrobianos ou vacinas que visam tratar ou prevenir a infecção por App em suínos.

Tabela 1 – Avaliações clínica e patológica e isolamento de App

Suíno	Sinais Clínicos		Avaliação Patológica					Isolamento App	
	Febre	Dispnéia	Pulmão D	Pulmão E	Pleura D	Pleura E	Pericárdio	Pulmão/Pleura /Pericárdio	Tonsila
968	S	S	2	2	2	2	0	S	NR / NP
952	S	S	0	1	0	1	0	S	NR / NP
958	S	S	2	0	2	0	0	N	NR / NP
963	S	S	0	2	0	2	0	S	N
945	N	N	2	2	2	2	0	S	N
970	S	S	0	0	0	0	0	N	NR / NP
960	S	S	1	0	1	0	0	S	NR / NP
969	S	N	0	0	0	0	0	N	NR / NP
959	S	S	0	2	0	2	0	N	NR / NP
966	S	S	0	0	0	0	0	N	NR / NP

Onde: S = Sim, N = Não; NR/NP = não realizado e ou não possível devido ao excesso de contaminantes; Pericárdio (Pericardite): 0 = normal, 1 = presente; Pleura (pleurite): 0 = normal, 1 = atingindo até 33%, 2 = 33% a 66% e 3 = \geq 66%; Pulmão (nódulo necro-hemorrágico): 0 = normal, 1 = atingindo até 30% do pulmão e 2 = atingindo mais que 30% do pulmão.

Conclusões - Concluímos que o modelo experimental utilizado é adequado para a reprodução da pleuropneumonia por App em suínos.

Referências Bibliográficas

- FEITOSA, F.L.F. Semiologia Veterinária: A Arte do Diagnóstico. 1ed., São Paulo: Editora Roca, p.424, 2004.
- FENWICK, B. & HENRI, S. Porcine Pleuropneumonia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 204, n.9, p. 1334-1340, 1994.
- MORES, M. A. Z. Anatomopatologia e bacteriologia de lesões pulmonares responsáveis por condenações de carcaças em suínos. 2006. Curitiba, Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós – Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná.
- SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. Doenças dos Suínos. Goiânia: Cânone Editorial, p. 182-186, 2007.
- WALLGREN, P.; SEGALL, T.; PEDERSEN MORNER, A. GUNNARSSON, A. Experimental infections with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs--I. Comparison of five different parenteral antibiotic treatments. *J. Vet. Med. B*, 1999, n. 46, p. 249-260.