

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

JESSICA CAROLINA REIS BARBOSA

SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR
***LAWSONIA INTRACELLULARIS* EM CRIATÓRIOS SUÍNOS DO ESTADO DE**
MINAS GERAIS EM 2016

Belo Horizonte
2020

Jessica Carolina Reis Barbosa

**SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR
LAWSONIA INTRACELLULARIS EM CRIATÓRIOS SUÍNOS DO ESTADO DE
MINAS GERAIS EM 2016**

Versão final

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal da Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais como
requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Área: Patologia Animal

Orientador: Prof. Roberto Maurício Carvalho Guedes.

Co-orientadora: Profa. Dra. Michelle de Paula Gabardo.

**Belo Horizonte
2020**

FICHA CATALOGRÁFICA

B238s Barbosa, Jessica Carolina Reis- 1993.
Soroprevalência e fatores de risco associados a infecção por *Lawsonia Intracellularis* em criatórios suínos do Estado de Minas Gerais em 2016/ Jessica Carolina Reis Barbosa - 2020.

60p:il.

Orientador: Roberto Maurício Carvalho Guedes
Coorientadora: Michelle de Paula Gabardo

Dissertação de Mestrado apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

1- Suíno - Teses - 2- Diarreia em animais – Teses - 3 – Intestinos - Infecções – Teses – I – Guedes, Roberto Maurício Carvalho - II – Gabardo, Michelle de Paula – III - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – IV – Título.

CDD – 636.4

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

FOLHA DE APROVAÇÃO

JÉSSICA CAROLINA REIS BARBOSA

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Patologia Animal.

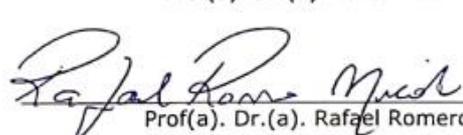
Aprovado(a) em 06 de fevereiro de 2020, pela banca constituída pelos membros:



Prof(a). Dr.(a). Roberto Maurício Carvalho Guedes
Presidente / Orientador(a)



Prof(a). Dr.(a). Talita Pilar Resende



Prof(a). Dr.(a). Rafael Romero Nicolino

Dedico este trabalho a minha mãe, que muito me apoiou e me incentivou a realizá-lo.

AGRADECIMENTOS

Não foi fácil chegar até aqui, nem tampouco tranquilo, foram dois anos de muito estudo, esforço e empenho. A realização desse sonho só foi possível devido a algumas pessoas que me acompanharam, me fortaleceram, me incentivaram, me ensinaram e me corrigiram. A todos quero manifestar os meus sinceros agradecimentos.

A Deus, por estar sempre comigo, me guiando, iluminando e me abençoando. Obrigado por me permitir errar, aprender e crescer. Obrigada por me dar a força necessária para lutar e enfrentar todos os obstáculos, sem nunca desistir.

A minha mãe, e a minha família, pelo profundo apoio e todo esforço que fizeram para que eu pudesse superar cada obstáculo em meu caminho e chegar aqui. Agradeço pela compreensão, ao serem privados em muitos momentos da minha companhia. Amo vocês!

Às amigas Gabriela Barbosa, por todos os momentos felizes compartilhados e também pelo apoio nos momentos difíceis. Amiga que Adamantina meu deu e que eu quero levar para o resto da minha vida! Muito obrigada! Mesmo com a distância você sempre esteve presente e me ajudou durante o Mestrado, com um gesto de carinho ou uma palavra amiga. É muito bom saber que tenho você sempre comigo. Amo você!

Ao meu orientador, Professor Roberto Maurício Carvalho Guedes, pela oportunidade de realizar este trabalho. Pela orientação, competência, profissionalismo, dedicação, paciência e bom humor durante todo o processo. Foi uma honra!

A minha co-orientadora, Professora Michelle Gabardo por toda a ajuda durante a realização deste trabalho. A Professora Maria Izabel Guedes e ao IMA pela contribuição que foi essencial para a concretização dessa pesquisa. Muito obrigada!

Aos Professores do Programa Pós-graduação, pela dedicação, competência, apoio e todo conhecimento compartilhado durante o curso de Mestrado.

Aos membros da banca examinadora, Dr^a Talita Resende e Professor Rafael Nicolino, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação.

A Família Oinc, por todo cuidado e atenção que recebi ao entrar no laboratório, por todos os ensinamentos e conquistas alcançadas graças à essa grande família, pelo companheirismo diário no laboratório e na vida. Obrigada pelas risadas, pelos experimentos, pelos congressos, pelas viagens, pelos brindes. Em especial á Amanda Daniel, mulher admirável e um grande exemplo de dedicação. Todas as inúmeras vezes que solicitei a sua ajuda, em todas fui atendida com paciência e tranquilidade. Agradeço do fundo do coração por todo tempo destinado a me ajudar, levarei sempre comigo.

As “minhas meninas”, *Brachyspira* e *Lawsonia* por ter vivido experiências tão satisfatórias e maravilhosas, aonde me proporcionaram momentos e sentimentos intensos, haja coração! Em especial *Lawsonia intracellularis*, obrigada por me ensinar o quão rico é cultivar!!

À Agda Leite agradeço pela paciência, pelos ensinamentos e pelo apoio que prestou, sempre que foi solicitado. Meu muito, muito obrigada.

Aos amigos do departamento, Samanta Pimentel, Clarissa Santana, Lorena, Sostenes Apolo, Fabiana Rocha, Matheus Araújo, Ayisa Rodrigues, Fabiola Costa, Matheus Lóes, Leonardo Gorza, pois passamos mais tempo juntos do que em nossa casa, com a nossa família. Conviver com cada um de vocês ao longo desses anos foi sensacional. Muito obrigada por toda forma de ajuda, pela companhia durante um café, ou almoço do bandejão, pelas inúmeras conversas, necropsias e risadas. Em especial a Gabriela Medeiros, pela amizade construída ao longo desses anos, pela atenção, e disposição a me ajudar em diversos momentos. Companheira de mestrado com quem compartilhei tanto preocupações, quanto descobertas e conquistas durante esta caminhada. Obrigada por me ajudar em todos os momentos que precisei.

À Agna Ferreira e Marcelo Coelho, vocês são muito especiais e tornaram os dias de trabalho muito mais leves e divertidos. Agradeço também à Rita Cássia Palhares pela maravilhosa companhia e altas risadas, meu muito obrigada.

À Mariana Andrioli, por todos os ensinamentos compartilhados sem hesitar e pela convivência sempre muito agradável. Obrigada por enriquecer meus conhecimentos devido as nossas discussões sobre artigos, cultivo viral e vacinas. Serei eternamente grata por toda ajuda durante esses anos.

À Fabiana Silva e Lays Meirelles, irmãs que a vida me deu aonde compartilhamos a casa, a vida, momentos alegres e também difíceis. Pessoas que eu aprendi a admirar pela determinação e compromisso com o que fazem. Agradeço por estar sempre pronta a me ajudar e pela convivência agradável ao longo desses anos. Tenho certeza de que vem muito mais por aí.

Aos funcionários do departamento do DCCV Dona Bete, Vitalina, Cida, Marcio, Thiago, Carlão, João e Wagner por toda ajuda, atenção, paciência, conversas, concelhos e risadas.

A Capes, Fapemig e CNPq pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento pessoal, profissional e na realização deste trabalho, o meu muito obrigada!

“Sem a curiosidade que me move, que me inquieta, que me insere na busca, não aprendo e nem ensino.”
Paulo Freire

RESUMO

Os problemas sanitários, em especial problemas entéricos, são responsáveis por grandes impactos econômicos na suinocultura. *Lawsonia intracellularis* agente etiológico da enteropatia proliferativa suína, sendo um importante agente causador de diarreia nas fases finais do sistema de produção, e em diversas espécies animais. A presença/ circulação desse microrganismo em criatórios de suínos de Minas Gerais é desconhecida e pode ser um importante fator na manutenção deste agente em rebanhos suínos tecnificado. Para determinar o perfil sorológico e a soroprevalência de anticorpos anti-*L. intracellularis* em criatórios de subsistência de suínos de Minas Gerais, foram amostrados 288 criatórios, obtendo-se 1100 amostras. Nesses rebanhos as amostras de soro foram obtidas de animais de diferentes idades sendo, posteriormente, analisadas pela técnica de imunoperoxidase em monocamadas de células. A prevalência geral para os anticorpos anti-*L. intracellularis* em Minas Gerais foi 97,53% e não houve diferença estatística entre as prevalências das mesorregiões amostradas. Os anticorpos anti-*L. intracellularis* estavam presentes em todos os criatórios investigados de Minas Gerais, indicando ampla circulação do agente nesse tipo de propriedade no estado.

Palavras chaves: Enteropatia Proliferativa, IPMA, ileíte, suínos, epidemiologia, anticorpo, sorologia, criatório de subsistência.

ABSTRACT

Sanitary problems, especially enteric problems, are responsible for major economic impacts on pig production. *Lawsonia intracellularis* etiological agent of swine proliferative enteropathy, being an important agent that causes diarrhea in the final stages of the production system, and in several animal species. The presence / circulation of this microorganism in pig backyard farms in of Minas Gerais is unknown and can be an important factor in the maintenance of this agent in tecnified swine herds of state. To determine the serological profile and the seroprevalence of anti-*L. intracellularis* antibodies. in pig subsistence farms in Minas Gerais, 288 farms were sampled, obtaining 1100 samples. In these herds, serum samples were obtained from animals of different ages and subsequently analyzed by the immunoperoxidase technique in cell monolayers. The general prevalence for anti-*L. intracellularis* antibodies in Minas Gerais was 97.53% and there was no statistical difference between the prevalence of the sampled mesoregions. Anti-*L. intracellularis* were present in all investigated farms in Minas Gerais, indicating wide circulation of the agent in this type of property in the state.

Keywords: Proliferative Enteropathy, IPMA, ileitis, swine, epidemiology, antibody, serology, backyard pig farms.

Lista de Figuras

Figura 1 - Micrografia eletrônica de <i>Lawsonia intracellularis</i> em cultura pura.....	19
Figura 2 - Imunocitoquímica de cultivo celular.	20
Figura 3 - Lesão macroscópica de Enteropatia Proliferativa suína (EPS) e imuno-histoquímica (IHQ) de <i>L. intracellularis</i>	24
Figura 4 - Localização das áreas de estudo em Minas Gerais.....	31
Figura 5 - Suínos de criatórios localizado no estado de estado de Minas Gerais.....	33
Figura 6 - Mapa de densidade dos criatórios de suínos localizados no estado de MG.....	36
Figura 7 – Titulação das 131 amostras de soros positivos para IgG anti- <i>L. intracellularis</i> obtidas de suínos em criatórios localizados no estado de MG.....	37

Lista de Tabelas

- Figura 1 - Soroprevalência entre as Mesorregiões. Análise das soropositividades dos animais amostrados de criatórios nas mesorregiões de Minas Gerais- MG, 2016.....38
- Figura 2 - Análise multi-interação, Intervalo de Confiança (IC), nível de significância dos fatores de risco (P), em Belo Horizonte- MG, 2016.....39

Lista de Abreviaturas

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária

DNA - Ácido desoxirribonucléico

rDNA - Ácido desoxirribonucleico ribossomal

EPS – Enteropatia proliferativa suína

IgG – Imunoglobulina G

IgA – Imunoglobulina A

IPMA – Imunoperoxidase em monocamada de célula

IL – *Lawsonia intracellularis*

IF- Imunofluorescência Indireta

PCR – Reação em cadeia da polimerase

IFA - Imunofluorescência Indireta de Anticorpo

ELISA - Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

IHQ – Imuno-histoquímica

ppm – Partes por milhão

TAP - Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba

ZM - Zona da Mata

MBH - região Metropolitana de Belo Horizonte

SSO - Sul/Sudoeste

VM - Vale do Mucuri

CM - Central Mineira

J - Jequitinhonha

VRD - Vale do Rio Doce

CV - Campo da Vertentes

OM - Oeste de Minas

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

MG – Minas Gerais

mL – Mililitro

µm – Micrometro

SFB – Soro Fetal Bovino

O₂ - Oxigênio

CO₂ – Cdióxido de carbono

N₂ - Nitrogênio

PBS - Phosphate-buffered saline

AEC - 3-amino-9-etil-carbazole

IC – Intervalo de Confiança

SICSS – Sistema Intensivo Criação

STC – Sistema Tecnificado de Criação

GRSC - Granjas de Reprodutores de Suídeos Certificados

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 HISTÓRIA	17
3.2 Etiologia	18
3.3 Cultivo	19
3.4 Caracterização da EPS	20
3.5 Resposta Imune	22
3.6 Soroperfil e Soroprevalência	24
3.7 Fatores de risco	26
3.8 Diagnóstico	27
3.9 Tratamento e Controle	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Localização geográfica e período	30
4.2 Caracterização das propriedades	31
4.3 Coleta e processamento das amostras	32
4.4 Imunoperoxidase em monocamada de células (IPMA)	34
4.5 Análise Estatística	35
5. RESULTADOS	36
5.1 Soroprevalência	37
5.2 Soroperfil	38
5.3 Fatores de riscos associados a infecção por <i>L. intracellularis</i>	38
6. DISCUSSÃO	39
7. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	46
ANEXO 1	57

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a suinocultura desempenha papel relevante para a economia brasileira. Minas Gerais se destaca em quarto lugar como maior produtor brasileiro de carne suína há alguns anos (SEAPA, 2017). Grandes impactos econômicos na suinocultura são causados por problemas sanitários, particularmente enfermidades respiratórias e entéricas (Hampson & Trott, 1995).

A criação de suínos pode ser separada por níveis diferentes de tecnologia aplicada, variando de sistemas menos tecnificados e mais rudimentares a sistemas com alta tecnificação. Criações de subsistência, mais conhecida como “fundo de quintal”, têm como objetivo abastecer a própria propriedade, na maior parte das vezes sem haver algum tipo de controle sanitário. Os animais são criados soltos, sem delimitação de espaço, em contato com outras espécies de animais e até mesmo com suínos de diferentes idades, disputando por espaço e resto de alimentos (Dalla Costa et al., 2002). A falta de controle sanitário (Sarcinelli et al., 2007), pode resultar na disseminação de doenças, uma vez que os animais excedentes podem ser comercializados regionalmente sem fiscalização (Sobestiansky et al., 1998).

De acordo com MAPA e IMA, criatórios de suídeos são estabelecimento onde se cria suídeos para consumo próprio, podendo haver comércio de pequenos excedentes. São as explorações de subsistência familiar, caseiras ou de “fundo de quintal”, sem característica industrial (MAPA, 2010). Essas criações de subsistência podem ter importância relevante para as criações de características comerciais, pois a não realização da vigilância, controle, prevenção e ausência de biosseguridade tornam os criatórios de suínos possíveis focos de disseminação de agentes economicamente impactantes. É indispensável que os sistemas de produção intensiva estejam o mais isolado possível desses criatórios ou de aglomerados de suínos e de estradas por onde transitam caminhões com animais.

Doenças infecciosas são relevantes na produção suína tecnificada e de subsistência (Guedes et al., 2002). Dentre as doenças infecciosas mais comuns na suinocultura tecnificada, destaca-se EPS (Hampson & Trott, 1995). Pouco se sabe sobre a epidemiologia da EPS em rebanhos suínos não tecnificados, mas na suinocultura industrial sabe-se que há perdas econômicas importantes relacionadas ao controle e tratamento de animais doentes e ao abate de animais debilitado com perda do rendimento da carcaça .

Dentre os problemas entéricos mais relevantes, a enteropatia proliferativa suína é responsável por perdas econômicas significativas nas fases finais do sistema de produção,

relacionada à piora da conversão alimentar, redução do ganho de peso e aumento nos índices de mortalidade (McOrist, 2005a).

Lawsonia intracellularis é um bacilo Gram-negativo intracelular obrigatório (McOrist et al., 1995b), agente primário da enteropatia proliferativa, caracterizada pela hiperplasia das células epiteliais das criptas intestinais e, conseqüentemente, espessamento da mucosa intestinal (Lawson et al., 1993). Essa bactéria tem capacidade de infectar também outras espécies de mamíferos, como roedores, equinos, primatas não humanos e algumas aves, mas são suínos e hamsters as espécies mais severamente afetadas (Lawson e Gebhart, 2000).

EPS pode apresentar diferentes manifestações clínicas e patológicas, a forma aguda caracteriza-se por enterite hemorrágica, com morte súbita (Lawson e Gebhart, 2000), a forma crônica é caracterizada por anorexia, diarreia e diminuição no ganho de peso, e por último, a forma subclínica, que está associada com o comprometimento no desempenho dos animais (Collins e Barchia, 2014). E essa apresentação subclínica é a principal forma de propagação da doença, pois permite que o agente, de maneira silenciosa, se dissemine por uma população de hospedeiros nas granjas, aumentando os prejuízos econômicos na suinocultura (Paradis et al., 2012; Collins e Barchia, 2014).

Para o diagnóstico da EPS não basta mensurar apenas a presença e ausência do agente na propriedade. É necessário saber o nível de circulação desse organismo entre os animais, através do soroperfil, pois cada rebanho irá apresentar um perfil de desafio distinto do outro. O soroperfil é uma ferramenta que mostra a realidade de cada granja em relação ao grau de infecção da *L. intracellularis*, além do momento de ocorrência dessa infecção, possibilitando o melhor posicionamento para o sucesso dos programas de tratamento e controle a serem adotados na propriedade (Barcellos et al., 2009).

A importância econômica da EPS difere entre os diversos países e regiões (Guedes, 2008). Na Austrália, a prevalência de rebanhos suínos positivos para *L. intracellularis* foi de 100% (Holyoake et al., 2010). Já nos EUA, encontraram 75% de prevalência em rebanhos de terminação e 78% em rebanhos de reprodução, por meio de teste de IPMA (Marsteller et al., 2003). No Brasil, alguns estudos foram conduzidos com objetivo de investigar a prevalência das enfermidades entéricas nos rebanhos (Moreno et al., 1999; Ristow et al., 2001; Moreno et al., 2002; Guedes, 2008; Viott et al., 2013a; Resende et al., 2015), caracterizando os rebanhos brasileiros com mais de 94% de positividade (Guedes, 2008).

Apesar de enteropatia proliferativa suína ser uma doença economicamente relevante e prevalente (McCorist, 2005b) não só no Brasil, mas em todos os países de produção suinícola, não existe nenhum estudo que relate a soroprevalência de *L. intracellularis* em criações de suínos de subsistência. Dessa forma, tornou-se relevante o aprofundamento e divulgação de informações relacionadas à frequência de sua detecção nesse tipo de criação para ampliação do conhecimento epidemiológico da enfermidade.

O objetivo desse estudo foi determinar a soroprevalência para *L. intracellularis* em criatórios suínos do estado de Minas Gerais, bem como reconhecer sua distribuição entre as diferentes mesorregiões onde se localizam também as os principais polos de produção tecnificada de suínos do estado, e identificar as variáveis de risco para positividade em criatórios.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar um perfil soro-epidemiológico para *L. intracellularis* em criatórios de suínos do estado de Minas Gerais, e compreender sua distribuição entre as principais mesorregiões do estado.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar levantamento e mapeamento espaço-temporal da soropositividade para *L. intracellularis* em criatórios de suíno no estado de Minas Gerais.
- Correlacionar o resultado de soroprevalência de *L. intracellularis* com os fatores de risco das mesorregiões amostradas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 História

A Enterite Proliferativa é considerada uma importante enfermidade entérica que acomete suínos nas fases de recria e terminação. Foi identificada pela primeira vez há mais de 80 anos em 1931 pela observação das criptas intestinais em suínos afetados (Rowland, Lawson, Maxwell, 1973). Em 1972 EPS foi descrita como uma síndrome intestinal hemorrágica associada à adenomatose intestinal em um rebanho suíno (Rowland e Rowntree, 1972).

A visualização do agente da adenomatose intestinal suína ocorreu em 1974 através de imunofluorescência e microscopia eletrônica (Rowland and Lawson, 1974). Por volta da década

de 1990 a bactéria foi denominada “Campylobacter-like”, porém alguns estudos demonstraram que essas bactérias não pertenciam ao mesmo gênero (McOrist et al., 1989; McOrist et al., 1990). Em 1993, a bactéria observada no intestino de animais infectados foi isolada e mantida *in vitro* (Lawson et al 1993) sendo assim possível o desenvolvimento do postulado de Koch (McOrist et al. 1993). A bactéria isolada foi renomeada temporariamente como *Ileal symbiont* (IS) *intracelular* em 1995 (Gebhart et al., 1993; McOrist et al., 1993; Lawson et al., 1995).

Dois anos depois a bactéria foi completamente caracterizada através de amplificação e sequenciamento de seu DNA ribossomal (rDNA) 16S, morfologia, testes fenotípicos, perfil eletroforético de proteínas e análise filogenética. Esses resultados revelaram que a bactéria pertencia a uma nova espécie da família Desulfovibrionacea e foi classificada como um novo gênero e espécie de microrganismo (McOrist et al. 1995b), sendo denominada *L. intracellularis*.

3.2 Etiologia

L. intracellularis é um bacilo Gram-negativo que mede entre 1,25 a 1,75µm de comprimento e 0,25 a 0,43µm de largura, microaerófilo, intracelular obrigatório (Lawson et al., 1993; McOrist et al., 1995a; Lawson e Gebhart, 2000), móvel, de forma curva ou sigmoide (McOrist et al. 1995a) (Figura 1), não esporulado.

A bactéria possui um flagelo longo e unipolar, um envelope trilaminar, frequentemente separado da membrana citoplasmática por uma zona eletroluscente (Lawson e Guebhart, 2000, Kroll et al 2005). Em seu citoplasma há um cromossomo pequeno (1,45Mb) e três plasmídeos (Gebhart e Guedes, 2010). Pertencente a divisão delta da Proteobactéria (Gebhart et al., 1993; McOrist et al., 1995ab), taxonomicamente diferente de outros patógenos intracelulares (McOrist et al., 1995ab; Lawson e Gebhart, 2000).



Figura 1 - **Microscopia eletrônica de *Lawsonia intracellularis* em cultura pura.** As setas indicam um único flagelo polar. Barra = 10 mm. (Fonte: Kroll et al., 2005).

L. intracellularis é mais comumente encontrada em suínos (Kroll et al., 2005), mas há estudos que descrevem a presença da bactéria em ampla variedade de hospedeiros, como: hamsters (Jonas et al., 1965), ovinos (Vandenberg; Hoorens, 1980), coelho (Umemura et al., 1982), equinos (Duhamel e Wheeldon, 1982), cães (Collins et al., 1983), raposas (Eriksen et al., 1990), cervos (Drolet et al., 1996), aves como emas (Lemarchand et al., 1997), avestruzes (Cooper et al., 1997ab), primatas não humanos (Cooper; Gebhart, 1998), furões (Fox; Lawson, 1998), gambás, coiotes, lebres (Pusterla et al., 2008), ratos, camundongos e ratazanas (Friedman et al., 2008), gatos (Truong et al., 2013), galinhas (Ohta et al., 2016). Apesar dos isolados apresentarem alta semelhança genética (Guedes e Gebhart, 2003b), a manifestação de sinais clínicos é variável entre espécies animais (Lawson e Gebhart, 2000).

3.3 Cultivo

Por ser uma bactéria intracelular obrigatória e microaerófila, a *L. intracellularis* necessita de cultivo celular permissivo (Figura 2) e ambiente adequado para seu crescimento

(Lawson et al.,1993; Vannucci et al., 2012). Os requisitos para o cultivo *in vitro*, o torna muito laborioso.

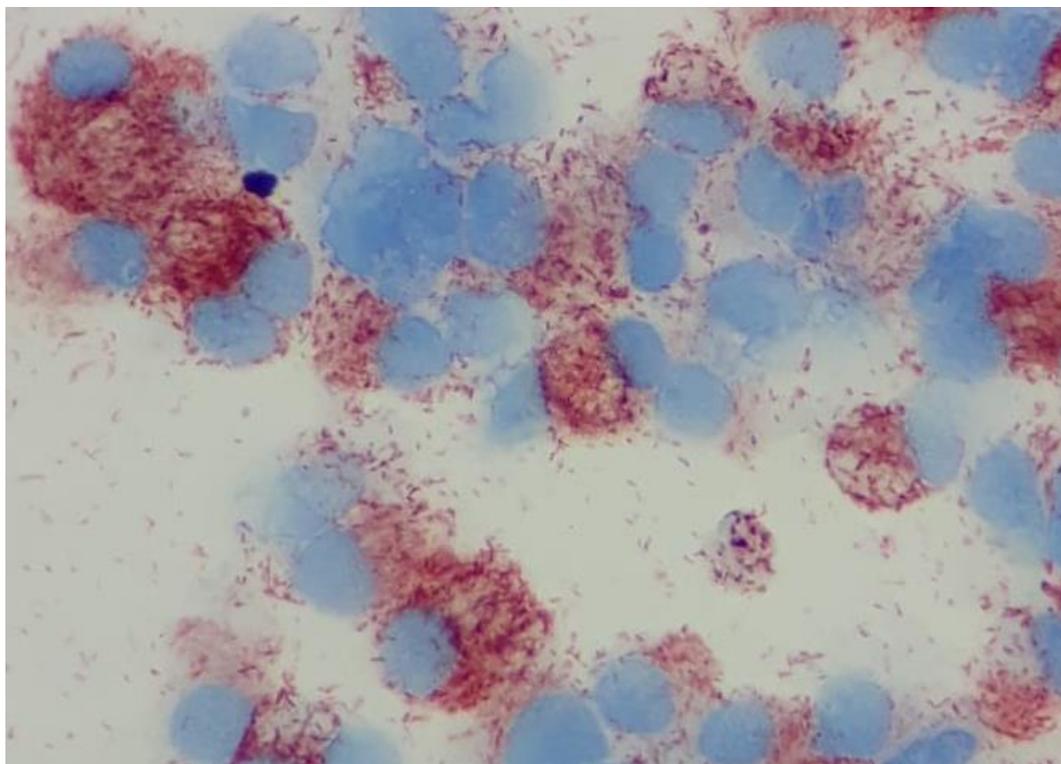


Figura 2 - **Imunocitoquímica de cultivo celular.** Detecção de *Lawsonia intracellularis* (em vermelho) no citoplasma de células McCoy (núcleo em azul) e extracelularmente (400X). (Fonte: Própria, 2019).

Além disso, a proliferação celular que é característica da lesão causada pela bactéria *in vivo*, nunca foi demonstrada *in vitro* (Lawson et al., 1993; Vannucci et al., 2012). Tal fato foi ratificado pelos achados de Resende et al (2019) que investigaram o efeito da *L. intracellularis* sobre várias linhagens celulares, baseado em ensaios de confluência celular e quantidade de DNA eucariótico medido ao longo do tempo, e não demonstrou aumento na proliferação e migração das células eucariotas infectadas quando comparada às não infectadas.

3.4 Caracterização da EPS

A transmissão da EPS ocorre via oro-fecal (Jordan et al., 2004), sendo que a infecção pode estar presente sob três formas. A forma crônica, conhecida como adenomatose intestinal suína, observada mais comumente em animais de crescimento entre 6 e 20 semanas de idade

(McOrist e Gebhart, 1999), caracteriza-se clinicamente como anorexia, diarreia, letargia, redução do ganho de peso (Lawson e Gebhart, 2000) e mortalidade baixa (Winkelman e Dee, 1996).

Os sinais clínicos da EPS crônica são discretos e mais frequentemente observados em leitões pós-desmama, e compreendem principalmente dificuldade de ganho de peso, independente do fornecimento do alimento. O comportamento varia de clinicamente normal a apático e não responsivo. Quando presente, a diarreia é moderada, com fezes amolecidas, mas de coloração normal (McOrist e Gebhart, 1999).

A forma aguda, também conhecida como enteropatia proliferativa hemorrágica, ocorre com mais frequência em animais de 4 a 12 meses de idade (McOrist e Gebhart, 1999), afetando suínos de terminação e animais de reposição, marrãs e cachaços (Vannucci e Gebhart, 2014). Essa forma de manifestação pode ocorrer de forma repentina (Ward e Winkelman, 1990), e é caracterizada por perda intestinal de sangue e fezes enegrecidas (Lawson e Gebhart, 2000).

A mortalidade entre os animais que apresentam sintomatologia clínica pode chegar a 50%. Dos que sobrevivem, alguns se recuperam rapidamente, sem grande perda de peso corporal e outros apresentam retardo no crescimento (Jacobson et al., 2010) ou casos de morte súbita (Lawson e Gebhart, 2000). O quadro clínico inicial é de anemia aguda, fezes enegrecidas ou sanguinolentas, podendo ser de consistência normal, amolecida ou aquosa. A região perineal pode estar suja de sangue ou fezes. Alguns animais, entretanto, vão a óbito sem apresentarem anormalidades nas fezes, somente uma leve palidez corporal.

Na forma subclínica da doença, animais afetados não manifestam sintomas de diarreia, mas são fontes importantes de disseminação da bactéria para o restante do rebanho (Guedes e Gebhart, 2003b; McOrist e Gebhart, 2012), levando a perdas econômicas nos sistemas de produção (Jacobson et al., 2010).

As lesões macroscópicas da EPS nem sempre são possíveis de serem observadas na necropsia (Cooper e Gebhart, 1998). Contudo, são semelhantes em todas as espécies afetadas, podendo variar a sua localização. Existem relatos de lesões no estômago e íleo de cães (Leblanc et al., 1993), íleo de ovinos (Vandenberghe e Hoorens, 1980), equinos (Williams et al., 1996), cobaios (Muto et al., 1983), coelhos (Hotchkiss et al., 1996), hamsters (Frisk et al., 1977), galinha (Ohta et al 2016) e suínos (Rowland e Lawson, 1992) e no cólon de ratos (Vandenberghe et al., 1985), furões (Fox e Lawson, 1988), raposas (Erikson et al., 1990) e

suínos (Ward e Winkelman, 1990), cloacas de emus (LeMarchand et al., 1997), intestino delgado e grosso de gatos (Truong et al., 2013), ceco tonsilar de galinha (Ohta et al., 2016) e ceco e reto de suínos (Guedes e Gebhart, 2004).

Entretanto, na maioria das vezes, as lesões características da EPS são normalmente encontradas no intestino delgado e com menor frequência no intestino grosso (Rowland e Lawson, 1992). A forma crônica consiste em espessamento da mucosa intestinal, enterite necrotizante com presença de membrana necrótica aderida à mucosa, serosa intestinal com aspecto cerebroide e espessamento da mucosa intestinal (Rowland, 1978; Knittel, 1999; Lawson e Gebhart, 2000; Vannucci e Gebhart, 2014) (Figura 3A). Na forma aguda, as lesões são caracterizadas por edema e espessamento da parede intestinal, espessamento acentuada da mucosa (McOrist e Gebhart, 1999) e necrose da superfície da mucosa, com conteúdo fibrino-hemorrágico com coágulos na luz intestinal (Figura 3B) (Ward e Winkelman, 1990).

Na histologia, as lesões são indistinguíveis para todas as formas de EPS. Observa-se acúmulo extensivo de fluido proteináceo no interstício e nos vasos linfáticos da lâmina própria nas extremidades das vilosidades, com hemorragia discreta (Rowland e Lawson, 1974) e não há ocorrência de infiltrado inflamatório significativo (Rowland e Rowtree, 1972; Lawson e Gebhart, 2000). Há figuras de mitose frequentes e diminuição de células caliciformes (Figura 3C) (Lawson e Gebhart, 2000). A presença da bactéria no citoplasma apical de enterócitos pode ser demonstrada por coloração pela prata (Rowland e Lawson, 1974) ou imuno-histoquímica sendo o padrão ouro como teste de diagnóstico da EPS (Figura 3D) (Guedes et al., 2003).

3.5 Resposta Imune

A resposta imune celular produzida pelos suínos frente a infecção (Abbas et al., 2007), através de interferon gama foi detectada após estudo *in vitro* com antígenos de *L. intracellularis*, entre 11 (Riber et al., 2015) e 14 (Guedes e Gebhart, 2010) dias pós-inoculação experimental do agente, e entre a 9^o e 10^o semana pós-inoculação ocorreu o pico de produção e aumento de detecção em animais que foram desafiados por duas vezes (Cordes et al., 2012).

Em rebanhos que passaram por surto de doença aguda, a resposta humoral sistêmica, caracterizada pela detecção de IgG anti-*L. intracellularis*, pode persistir por até 90 dias (Guedes e Gebhart, 2002a). Leitões após o desmame podem permanecer soropositivos até a quinta semana de idade devido a permanência de anticorpos maternos (Guedes et al., 2002a; Stege et

al., 2004).

Entre a 5^o e 7^o semana de idade, os animais possuem uma janela imunológica com maior susceptibilidade ao patógeno, devido a queda do título de anticorpos maternos, podendo ser observado picos de eliminação da bactéria nas fezes entre a 13^o a e 16^o semanas de vida, com soroconversão de IgG específica em torno da 16^a semana até a 22^o a semana de idade (Guedes et al., 2002a).

Possuindo um papel relevante na proteção de mucosa contra *L. intracellularis*, a Imunoglobulina IgA presente no leite das porcas restringe a oportunidade da transmissão fecal/oral entre os leitões lactantes (Collins et al., 2001). A detecção de IgA anti-*L. intracellularis* na luz intestinal na região do íleo de animais experimentalmente inoculados iniciou aos 15 dias e perdura até 29 dias pós-inoculação, com variação de títulos entre 1:4 a 1:64 (Guedes e Gebhart, 2004; 2010). No soro, a detecção de IgA específica em todos os animais foi detectada a partir do 14^o dia após a inoculação (Nogueira et al., 2013)

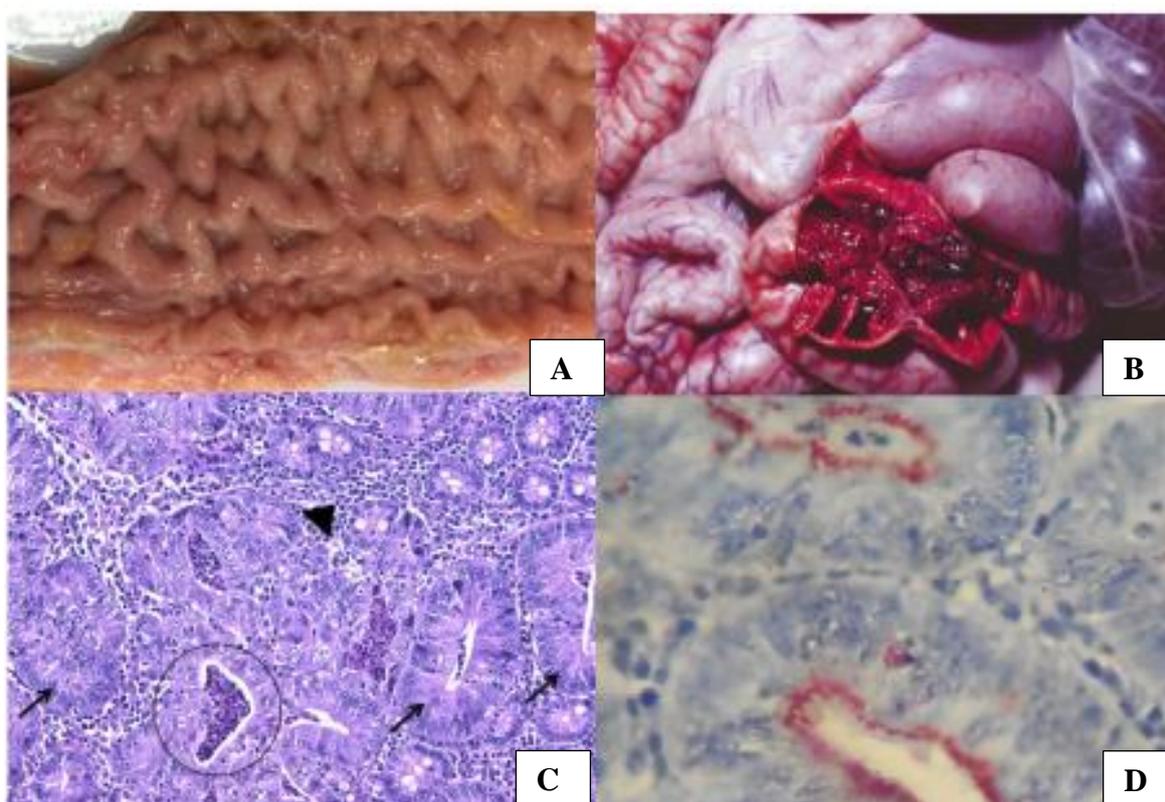


Figura 3: Lesões macro e microscópicas de enteropatia proliferativa suína (EPS) e imuno-histoquímica (IHQ) usando anticorpos específicos contra *L. intracellularis*. A. Suíno, intestino delgado, íleo. Macroscopia da forma aguda de infecção por *Lawsonia intracellularis*. Observa-se espessamento e engrossamento da serosa intestinal com conteúdo intraluminal sanguinolento. Fonte: Prof. Roberto Guedes. B. Suíno, intestino delgado, íleo, macroscopia da forma crônica de infecção por *Lawsonia intracellularis*. Observa-se espessamento e pregueamento evidente da mucosa intestinal (seta). Fonte: Prof. Roberto Guedes. C. Secção de intestino delgado de suíno apresentando discreto infiltrado inflamatório linfocitoplasmocitário multifocal na lâmina própria (cabeça de seta), evidente hiperplasia do epitélio das criptas intestinais associado a atrofia marcante de células caliciformes (setas) e abscessos de cripta multifocais (circulado) . H&E. 400x. (Fonte: Dra. Luísa Vianna). D. Suíno, intestino delgado. Detecção imuno-histoquímica de *Lawsonia intracellularis*, observa-se marcação no ápice dos enterócitos da cripta intestinal (seta) (IHQ 40X). Fonte: Ricardo Laub.

3.6 Soroperfil e Soroprevalência

As técnicas sorológicas para determinação do soroperfil de rebanhos frente a uma infecção são comumente utilizadas na suinocultura (Barcellos et al., 2009), como uma ferramenta de diagnóstico, para definir a medida de controle e tratamento da EPS (Walter et al., 2004).

A detecção direta do agente pode não ocorrer devido a forma de apresentação do quadro. Assim, as presenças de imunoglobulinas específicas são utilizadas para diagnosticar o animal que esteve exposto a determinado patógeno (Guedes e Gebhart, 2002bc; Barcellos et al., 2009).

A imunoglobulina sérica específica contra *L. intracellularis* é detectada entre o 14º dia até 3 meses após infecção (Guedes e Gebhart, 2002a). Portanto, para compor os sorosperfis e entender a dinâmica da infecção da doença no rebanho é necessário a coleta de amostras de soro de animais em diferentes fases do ciclo produtivo nas granjas (Barcellos et al., 2009).

O soroperfil pode ser realizado de duas maneiras: transversal e longitudinal. A análise transversal é realizada em diferentes animais de diferentes fases da produção, em um mesmo momento. Em termos práticos, o perfil transversal é uma imagem instantânea da granja em relação ao status de positividade a enfermidade nas distintas fases da produção. E o soroperfil longitudinal se baseia em análises seriadas sobre os mesmos.

Assim, a informação epidemiológica da fase de maior susceptibilidade à infecção, e o conhecimento da resposta imune gerada pela infecção, poderá proporcionar o sucesso dos programas de controle e tratamento a serem realizados nas granjas comerciais (Resende et al., 2015). A importância do soroperfil e soroprevência não é apenas identificar a presença da infecção em rebanhos não vacinados, mas também conhecer a dinâmica de infecção da população em estudo.

O principal teste utilizado no diagnóstico sorológico de *L. intracellularis* em suínos é o de imunoperoxidase em monocamada de células (IPMA). Esse teste se baseia na reação antígeno-anticorpo e em reação enzimática que dá origem a coloração característica (Guedes et al., 2002a).

A presença da EPS em rebanhos suínos varia de acordo com diferentes países, regiões, granjas e criatórios. Algumas pesquisas já descreveram a prevalência em determinados país e/ou estado, utilizando métodos sorológicos. Marsteller et al. (2003) encontraram 75% de prevalência em rebanhos de terminação e 78% em rebanhos de reprodução localizados em Iowa, Nebraska, Minnesota, and Illinois, por meio de teste de IPMA.

Mas na Alemanha detectou-se 33,7% de prevalência dos rebanhos analisados (403/826), encontrando maior prevalência de anticorpos contra o patógeno em soros de marrãs e matrizes (71,8% e 74,4%, respectivamente) (Wendt et al., 2004), seguida de animais em terminação (60,4%), e na Suécia, Löfstedt et al. (2004) encontraram positividade de porcentagem foi de 48% (50/105).

McOrist (2005b) estimou que todos os rebanhos da Coreia do Sul, Malásia, Tailândia, China e Japão apresentaram o agente, variando apenas a soroprevalência entre eles, utilizando

IPMA e teste de imunofluorescência indireta (IFA). Paradis et al (2007), também utilizando IFA na mesma província, encontraram 91,7% de prevalência em rebanhos de ciclo completo, 50% em rebanhos de terminação e 16,7% em rebanhos com sítios separados.

Em Ontário, o resultado foi de 87,5% em granjas com ciclo completo e 95,5% em propriedades terminadoras. Em Quebec, 100% dos rebanhos apresentaram-se positivos. Holyoake et al. (2010) mostraram a prevalência de rebanhos suínos positivos para a *L. intracellularis* de 100% na Austrália. Kukushkin e Okovytaya (2012) relataram que 86,5% das propriedades pesquisadas na Rússia foram positivas na sorologia.

Em um primeiro levantamento sorológico da EPS em rebanhos de Minas Gerais, 2398 amostras de sangue de animais em terminação foram coletadas de 109 rebanhos distribuídos entre as regiões de produção tecnificada do estado, apresentando 96,33% de prevalência, com 530 animais positivos distribuídos em 105 das 109 granjas amostradas (Ristow et al., 2001).

O mais recente trabalho foi de Resende et al. (2015) que mostrou uma soroprevalência de 37,7% a nível de animais, 100% dos rebanhos foram positivos. Essa pesquisa foi realizada com 2999 amostras de suínos, abrangendo cada categoria do ciclo de produção (porcas-maternidade e gestação, leitões de maternidade, creche, recria e terminação) em granjas comerciais, dentro das quatro principais mesorregiões de produção suinícola tecnificada do estado de Minas Gerais.

Até o presente momento não existe relato sobre o soroperfil e a soroprevalência de EPS em criatórios de suínos no estado de Minas Gerais.

3.7 Fatores de risco

Segundo Kroll et al. (2005) idade, nutrição, status sanitário, manejo e tipo de sistema produtivo são elementos que contribuem para alta prevalência de *L. intracellularis* em rebanhos de suínos. Bane et al. (2001) detectaram elementos predisponentes para ocorrência da doença nos rebanhos, como construções antigas (> 12 anos), pisos de concreto e mistura de lotes.

Corzo et al. (2005) ressaltam que dentro das granjas que adotam o sistema semi-intensivo na engorda de seus animais, em comparação àquelas que utilizam de sistema confinado em piso de concreto, tendem a ter menor prevalência da bactéria em seu rebanho, e ser mais susceptíveis quando recebe rotinamente uso de antibiótico.

As propriedades que adotam técnicas adequadas de manejo (lavar e desinfetar baias),

diminuem os níveis de exposição a *L. intracellularis*. Paradis et al. (2007), com isso descrevem que, a soroprevalência de *L. intracellularis* varia conforme o sistema de criação (reprodução, engorda ou ciclo completo).

No estudo de Resende et al. (2015), os autores concluíram que a infecção por *L. intracellularis* é disseminada entre as granjas suínolas tecnificadas do estado de MG, e apresentaram relevância a um único fator de risco dentre as variáveis selecionadas dos questionários, somente “frequência de introdução de animais de outros rebanhos” apresentou significância.

Os fatores mais usualmente considerados em planejamento epidemiológico podem ser referentes ao meio ou às características dos animais que compõem a população estudada:

- fatores relacionados com o meio ambiente; fatores físicos (temperatura, grau de umidade, composição do solo, vetores biológicos), fatores químicos (excesso ou a falta de determinados componentes químicos, no solo ou na água) e fatores biológicos (natureza da fauna).
- fatores relacionados com a composição da população; como dito anteriormente a idade, sexo, ocupação e estado socioeconômico (renda familiar, tipo de habitação e sua localização), grupos específicos (herança biológica comum), estado geral de saúde dos animais que abrange o estado fisiológico, estado nutricional, doenças intercorrentes ou preexistentes, tensão e condições de vida (inter-relação das condições naturais) (Leser et al., 1988).

Todos esses fatores, podem colaborar com a propagação e permanência da doença EPS em criatórios suínos (Corzo et al., 2005).

3.8 Diagnóstico

O diagnóstico de suínos infectados por *L. intracellularis* é feito através da associação dos sinais clínicos com a realização de testes de diagnóstico (Al-Ghamdi, 2006). Por não ser uma doença de sinais clínicos específicos, a EPS não é facilmente diagnosticada sem exames complementares. São várias as doenças que cursam com os mesmos sinais clínicos da EPS como espiroquetose colônica (*Brachyspira pilosicoli*), disenteria suína (*B. hyodysenteriae*), salmonelose (*Salmonella enterica* sorovar Typhimurium), ou hipersensibilidade à soja (Stevenson, 2001).

O diagnóstico ante-mortem da EPS pode ser feito através de PCR ou sorologia. A técnica qualitativa de PCR detecta especificamente DNA da bactéria em amostras fecais (Jones et al., 1993), podendo determinar se o animal testado está eliminando a *L. intracellularis* (Jordan et al., 1999). Entretanto, esta técnica apresenta baixa sensibilidade (Guedes et al., 2002a), devido ao fato da técnica ser incapaz de detectar suínos excretando pouca quantidade de bactérias e/ou de forma intermitente, podendo ocasionar resultados falsos negativos, com valores variando entre 40 e 70%, em amostras viciadas (de animais com diarreia), pela presença da grande quantidade de inibidores fecais da reação em cadeia da polimerase (Knittel et al., 1997).

Apesar disso, a PCR ainda é a melhor forma de identificar animais vivos infectados (Guedes et al., 2002ac). No entanto, justamente pela baixa sensibilidade da técnica, uma amostragem significativa entre 15 a 20 animais é fundamental para a interpretação correta dos resultados (Guedes, 2003a).

Outro meio diagnóstico ante-mortem amplamente utilizado são os testes sorológicos. Há três tipos de testes sorológicos que podem ser utilizados para a realização do soroperfil para *L. intracellularis*: imunofluorescência indireta de anticorpos (IFA), imunoperoxidase em monocamadas de células (IPMA) e teste de ELISA (ELISA de bloqueio, Enterisol Eleitis, BioScreen, Germany).

Essas técnicas fornecem informação histórica da infecção dos animais com a bactéria (Guedes, 2004) e são uma ferramenta diagnóstica utilizada para avaliar a cinética da infecção em grupos de animais e estabelecer soroperfis necessários para formulação de estratégias de vacinação ou medicação em rebanhos com problemas de enteropatia proliferativa suína (EPS) (Walter et al., 2004). É relevante destacar que a infecção por *L. intracellularis* pode estar presente subclínicamente (Collins e Barchia, 2014). Nesse caso, a detecção de anticorpos contra a bactéria é uma forma de se reconhecer a sua presença no rebanho (Barcellos et al., 2009).

IPMA é o padrão ouro para o diagnóstico de EPS ante-mortem, apesar da preparação das placas ser complexa (Magtoto et al., 2014), o teste tem especificidade de 100% e sensibilidade de 89% em soros com diluição 1:30, demonstrando ser uma ferramenta apropriada para o diagnóstico em rebanhos, mas não para o diagnóstico de indivíduos (Guedes et al., 2002abc). A técnica de IPMA é de fácil interpretação, e a cor da reação é estável por vários meses dando um registro permanente dos resultados que podem ser armazenados por longo

tempo.

Além disso, diferente da IFA, a IPMA tem a vantagem de não precisar de microscópio fluorescente (Guedes et al., 2002abc) e em relação com a ELISA, a IPMA é uma técnica mais econômica para o diagnóstico de EPS, devido a única opção de Elisa comercial (Kit ELISA de bloqueio, Enterisol Ileitis, BioScreen, Germany), depender da importação da Alemanha, elevando o seu custo de realização no Brasil (Resende et al, 2015). No diagnóstico de EPS através do IPMA em amostras de soro, o anticorpo detectado é a IgG (Guedes et al., 2002a).

O diagnóstico post-mortem é baseado nos achados macroscópicos e histopatológicos das lesões do intestino delgado (Jordan et al., 1999). Exames histopatológicos de rotina de fragmentos de intestino afetados em associação com a técnica de coloração pela prata (Warthin Starry), permite a visualização em microscópio ótico dos bacilos intracelulares no interior das células epiteliais intestinais (Ladinig et al., 2009) morfologicamente compatíveis com *L. intracellularis* no interior do citoplasma apical de enterócitos.

Já as técnicas de imuno-histoquímica (IHQ) (Figura 3d) e imunofluorescência (IFI) permitem a detecção da *L. intracellularis* em fragmentos de tecido intestinal (Knittel et al., 1997), sendo considerado métodos de confirmação da doença (Rowland e Lawson, 1974; Williams et al., 1996; Cooper et al., 1997b), pois, tanto IHQ e a IFI, apresentam alta sensibilidade e especificidade para *L. intracellularis* (Guedes et al., 2002^a).

A microscopia eletrônica é mais uma alternativa de diagnóstico utilizada para visualização de bacilos curvos ou retos no interior do citoplasma de enterócitos (Duhamel e Wheeldon, 1982; Williams et al., 1996;), mas por ser uma técnica pouco prática, não é normalmente incorporada na rotina de diagnóstico da EPS.

3.9 Tratamento e Controle

O controle da EPS em rebanhos suínos é realizado através de vacinação ou antibioticoterapia preventiva na ração, na água de beber (Bane et al., 2001).

A vacina viva atenuada contra *L. intracellularis* (Enterisol® Ileitis, Boehringer Ingelheim Vetmedica), é administrada via oral ou via água de consumo (Guedes, 2002). Os suínos devem ser vacinados com idade superior a 5 semanas de idade. A vacina inativada contra *L. intracellularis* (Porcilis® Ileitis), é administrada via intamuscular em leitões com 3 semanas de idade antes do desmame (Roerink et al., 2018) .

De forma geral ambas devem ser administrada antes do início previsto da infecção com *L. intracellularis*, de modo que a imunidade protetora esteja presente quando eles forem expostos pela primeira vez à infecção (Walter et al., 2004), proporcionando a prevenção e o controle da EP em rebanhos suínos.

O fornecimento dos antimicrobianos devem ser programados a partir dos dados do soroperfil dos rebanhos, assim nos períodos que os animais se infectam, seguido de período sem medicação. Em um estudo realizado *in vitro* com cepas norte-americanas e europeias da bactéria, Wattanaphansak et al. (2009) relataram que carbadox, tiamulina e valnemulina foram os antimicrobianos mais ativos, clortetraciclina e tilosina intermediariamente ativos, e lincomicina pouco ativa contra *L. intracellularis*.

No Brasil, leucomicina melhora conversão alimentar, ganho de peso diário e consumo de animais desafiados com homogeneizado de mucosa intestinal de animais portadores da doença (França et al., 2010), mas em um estudo recente mostrou que tiumulina e valmulina são os compostos mais ativos contra os isolados brasileiros de *L. intracellularis* (Wattanaphasak et al., 2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi realizado em parceria entre o Instituto Federal de Minas Gerais, Campus Bambuí, a Escola de Veterinária da UFMG, e o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA).

As amostras de soro de suínos foram sedidas pelo banco de soros do IMA, coletadas entre os meses de setembro e dezembro de 2016 de 320 criatórios de subexistência, para um estudo de Peste Suína Clássica no estado de Minas Gerais, totalizando 1.112 amostras de soro de suínos.

A pesquisa compreendeu um estudo epidemiológico transversal de abordagem quantitativa em que foi determinada a situação da exposição de suínos de criatórios em Minas Gerais à *L. intracellularis*.

4.1 Localização geográfica e período

O experimento foi realizado no total de 288 criatórios familiares distribuídos em núcleos rurais localizados nas mesorregiões do estado de Minas Gerais: Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba (TAP), Zona da Mata (ZM), região Metropolitana de Belo Horizonte (MBH), Oeste

de Minas (OM), Campo da Vertentes (CV), Norte de Minas (NM), Noroeste de Minas (NOM), Vale do Rio Doce (VRD), Jequitinhonha (J), Central Mineira (CM), Vale do Mucuri e Sul/Sudoeste (SSO) (Figura 4). Tratavam-se de propriedades particulares com atividade de criação suína para consumo próprio.

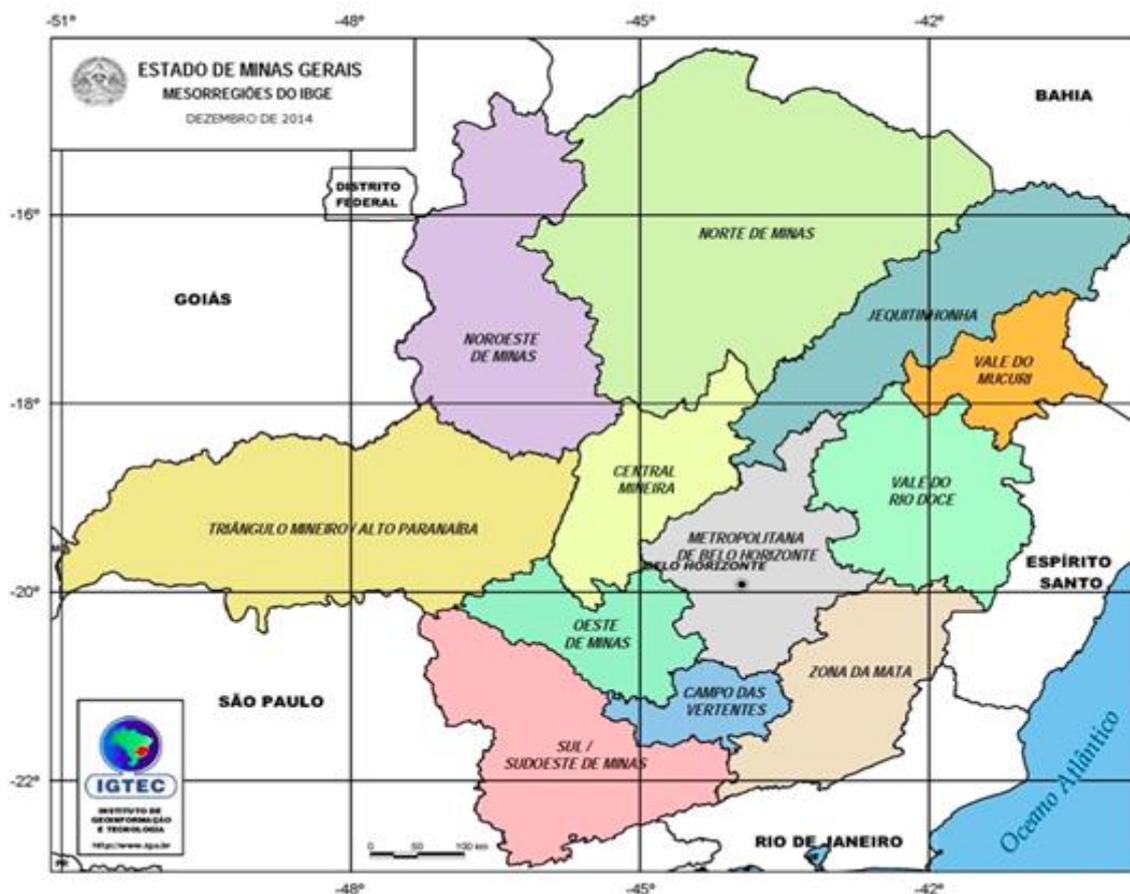


Figura 4: Localização das áreas de estudo em Minas Gerais. Fonte: IBGE, 2014.

4.2 Caracterização das propriedades

O sistema de criação variou entre as propriedades, desde propriedades com suínos criados soltos em piquetes com gramínea, terra e/ou lamaçal (Figura 5A e B), a propriedade com suínos em confinamentos. Os recintos de contenção dos animais variaram desde locais feitos de material improvisado como placas, restos de madeira e cerca de arame, até construções de alvenaria com cocho para ração e água por sistema tipo chupeta.

A maioria dos criatórios apresentaram precárias condições de manejo higiênico-sanitário, aonde os animais ficavam juntos, independente de idade ou estágio de produção (Figura 5C). Mesmo nos locais em que havia separação por idade, as condições precárias de

instalações permitiam o trânsito dos animais entre os piquetes.

Algumas propriedades faziam uso habitual de vermífugos comerciais, outras utilizam esporadicamente produtos naturais (plantas), adicionados aleatoriamente ao alimento. Em geral, a alimentação desses animais era feita com ração comercial, restos de comida, de hortaliças, soro de leite e, fornecida duas vezes ao dia, pela manhã, e pela tarde. Água era fornecida *ad libitum*.

4.3 Coleta e processamento das amostras

Foram realizadas coletas de amostras de sangue provenientes de suínos machos e fêmeas, entre 2 meses a 6 anos de idade por agentes do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) em criatórios de suínos de Minas Gerais. A numeração sequencial das amostras foi baseada no total de criatórios amostrados, podendo variar de 001 a 320. Os Códigos MAPA foram gerados de acordo com o número de criatórios a serem amostrados por município.

A seleção dos criatórios amostrados em cada município ficou a cargo dos Médicos Veterinários responsáveis pelas Unidades Veterinárias Locais do Órgão Estadual de Defesa Sanitária Animal, a partir dos seguintes critérios de risco: proximidade a reservas naturais, áreas de proteção ambiental ou parques nacionais com fauna de suídeos silvestres; áreas periurbanas ou comunidades carentes; áreas com suídeos criados extensivamente; assentamentos rurais ou reservas indígenas; fornecimento de resíduos alimentares (lavagem) aos suídeos; proximidade a lixões; proprietário com propriedade em outro país ou em área endêmica; proximidade a graxarias; proximidade a quarentenários de suídeos.



Figura 5: Suínos de criatórios localizado no estado de estado de MG. A: Suínos, criados em lamaçal. B: Suíno criado solto em terra. C: Suínos criados em grupos desiguais de tamanho e idade. Fonte: Michelle Gabardo

Para a coleta de sangue, e remessa das amostras para minimizar possíveis riscos sanitários, foi recomendado que os trabalhos de visita aos criatórios e coleta de amostras obedecessem aos procedimentos usuais de biossegurança. A adoção de boas práticas no processo de coleta, conservação e remessa de amostras constitui um dos principais fatores para o sucesso na obtenção de material para diagnóstico laboratorial. Preenchimento do Formulário de Colheita de Amostras (Anexo I) foi preenchido com letra legível e assinado pelo Médico Veterinário do MAPA responsável pela coleta.

Amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular ou cava cranial, utilizando

um conjunto de seringa estéril de 10mL, sem anticoagulante, agulha descartável calibre 25x7mm e tubo previamente identificado para cada animal. O volume colhido foi de no mínimo, 7,0 mL por animal. Indivíduos amostrados recebiam uma marcação temporária, de forma a evitar que fossem coletadas duas amostras de um mesmo animal. As amostras foram processadas por centrifugação para separação do soro, as amostras sendo posteriormente armazenadas à -20°C até a realização da técnica de IPMA.

Os suínos utilizados no estudo foram oriundos de propriedades particulares, tendo os responsáveis pelas mesmas autorizado e auxiliado na contenção dos animais por ocasião da coleta. Durante as visitas às granjas, foi aplicado questionário semiestruturado para coleta de informações relevantes sobre o rebanho e seu manejo, a fim de se caracterizar a propriedade e determinar a ocorrência de fatores de risco relacionados à soropositividade do rebanho para anticorpos anti-*L. intracellularis* (anexo 1).

4.4 Imunoperoxidase em monocamada de células (IPMA)

Amostras de soro foram testadas para a presença de anticorpos (IgG) anti-*L. intracellularis* por meio da técnica de imunoperoxidase em monocamada de células (IPMA) em placas, conforme descrito por Guedes et al. (2002d).

Brevemente, placas de cultura estéreis de 96 poços contendo Células McCoy (fibroblastos de rato, ATCC# CRL-1696; American Type Culture Collection, Rockville, Maryland) infectadas com *L. intracellularis* foram utilizadas para realização do teste. Os poços foram semeados com 100 microlitros de células McCoy (5×10^3 células/mL), as quais foram mantidas em crescimento por 24 horas em estufa com atmosfera de CO₂, a 37°C até a inoculação com *L. intracellularis*. Culturas puras de *L. intracellularis* cepa PHE/MN1-00, previamente obtida de suíno com a forma hemorrágica da doença (Guedes e Gebhart, 2002a) foram adicionadas a um meio de cultura (Dulbecco's modified Eagle's – JRH Lenxa, KS), com 5% de soro fetal bovino (SFB) e então, 100 microlitros dessa preparação, contendo cerca de 10^5 organismos de *L. intracellularis* foram adicionados em cada poço com a cultura de McCoy previamente preparada. As placas foram incubadas por cinco dias em concentração de gás: 8% de O₂, 8,8% de CO₂ e 83,2% N₂ e temperatura de 37°C. Solução de acetona e metanol (1:1) foi usada para fixar as células infectadas após este período. Placas fixadas foram mantidas a -20°C até sua utilização.

Cada placa produzida e armazenada em freezer foi reidratada com 100 µL de água destilada por 10 minutos em câmara úmida a 37°C. Após essa incubação, a água era então descartada. A amostra de soro a ser testada, diluída 1:30 em PBS (tampão fosfato salino, pH 7,2), era adicionada em cada poço no volume de 50 µL. A placa foi então incubada durante 30 minutos a 37°C e lavada 5 vezes com PBS. Anticorpo anti-IgG suíno conjugado com peroxidase (Sigma-Aldrich Biochemical Co, St Louis, Missouri), diluído 1:600 em tampão IPMC (PBS com 2,5% SFB, 1% de soro suíno inativado e 0,08% de Tween 80) foi adicionado em quantidade de 30 µL por poço, e incubado durante 45 minutos à 37°C, em câmara úmida e escura. Após outra lavagem com PBS, 100 µL de cromógeno AEC ([3-amino-9-etil-carbazole]; Sigma-Biochemical Aldrich) em peróxido de hidrogênio, foi adicionado a cada poço. A placa foi então incubada à temperatura ambiente durante 20 minutos, lavada cinco vezes com água destilada, secada em estufa e examinada usando um microscópio de luz invertido.

Em cada placa, foram adicionadas amostras controle positivas provenientes de animais diagnosticados com a doença, e amostra sabidamente negativa. Esses controles foram utilizados como referência para avaliação do resultado das amostras investigadas. A leitura dos resultados foi realizada por profissional experiente e foi considerada positiva se, à observação em microscópio invertido, eram encontradas bactérias marcadas no citoplasma de células eucariotas (McCoy) e extracelularmente à cultura de células. Para que um rebanho fosse considerado positivo, pelo menos uma amostra deveria ser positiva. Para os animais considerados positivos, foram realizadas diluições de 1:30, 1:120, 1:480, 1:1920 e 1:7680, para avaliação de titulação dos soros.

4.5 Análise Estatística

Para determinação da soroprevalência para *L. intracellularis* nos rebanhos, utilizou-se análise ponderada que considera a população suína de cada criatório, o estrato em que o criatório estava classificado e a população suína da mesorregião na qual cada rebanho estava localizado, de acordo com Dohoo et al. (2010). Após análise dos questionários, foi realizada a associação dos fatores de risco para as amostras tituladas, que demonstra infecção recente. Para a modelagem se optou pelo Modelo de Poisson com variância robusta, definindo assim a razão de prevalência, com nível de significância de 0,05. Análises estatísticas foram realizadas no programa Stata 14.0 e pelo ARCGIS 10.3.

5. RESULTADOS

As 1100 amostras de soro de suínos foram obtidas de 288 criatórios de fundo de quintal, coletada nas 10 mesorregiões do Estado de Minas Gerais, sendo elas o Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba (TAP), a Zona da Mata (ZM), a região Metropolitana de Belo Horizonte (MBH), Oeste de Minas (OM), Campo da Vertentes (CV), Norte de Minas (NM), Noroeste de Minas (NOM), Vale do Rio Doce (VRD), Jequitinhonha (J), Central Mineira (CM), Vale do Mucuri (VM) e o Sul/Sudoeste (SSO). A distribuição geográfica dos rebanhos amostrados no estado se encontra na (Figura 6).

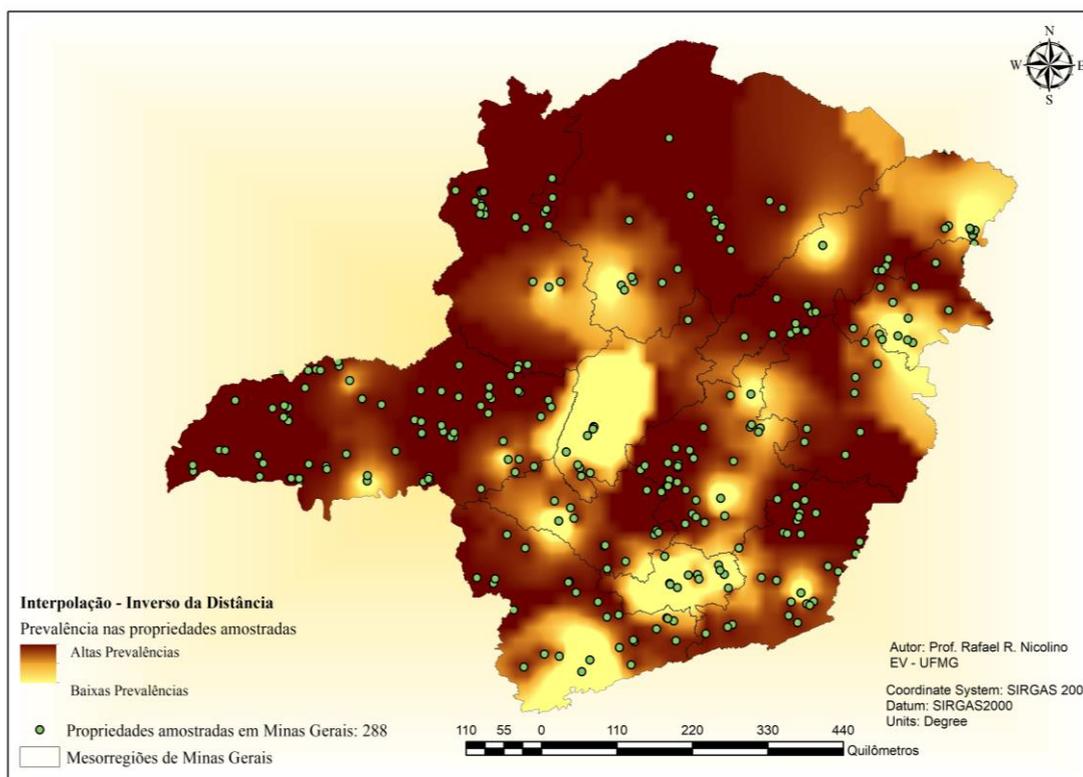


Figura 6: Mapa de densidade dos criatórios de suínos localizados no estado de MG e distribuição das propriedades amostradas para o presente estudo.

Sobre os animais amostrados, não foi possível obter determinadas informações, tais como: convivência e divisão de pastagens com outras espécies como equinos, cães, gatos e aves nas propriedades amostradas; se ocorria ou não a introdução de animais de outras propriedades nas diferentes fases de criação, e também se havia ou não presença de área reservada para quarentena dos animais caso adquiridos. Entretanto, todos os animais apresentavam-se clinicamente saudáveis sem sinais de doenças infecciosas no momento da coleta de sangue. Destes,

a idade mínima foi de 2 meses e a máxima de 6 anos, sendo esta a idade limite dos animais desta pesquisa.

Para se buscar entender o padrão espacial, realizou-se a análise de densidade da prevalência animal dentro de cada propriedade. A soroprevalência para anticorpos IgG anti-*L.intracellularis* foi de 97,7% (IC 96,7 – 98,46), considerando todas amostras testadas (1.084/1.100). A menor titulação de anticorpos considerada positiva foi de 1:30 e a maior foi de 1:7680 (Figura 7). Desses animais positivos, a idade mínima foi de 6 meses e a máxima de 48 meses. Dentre 1100 amostras coletadas, não foi observada nenhuma diferença estatística entre as idades.

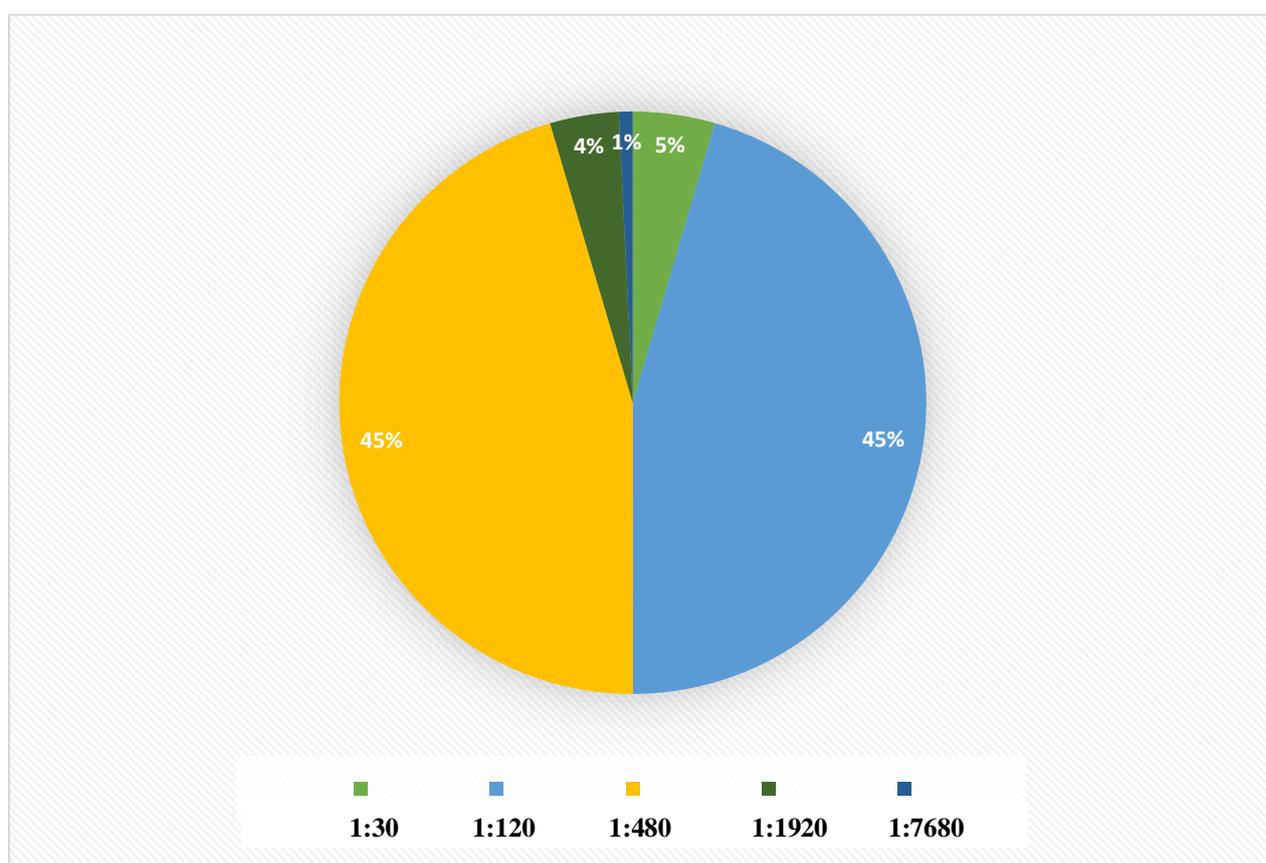


Figura 7: Titulação das 131 amostras de soros positivos para IgG *anti-L.intracellularis*, obtidas de suínos em criatórios localizados no estado de MG.

5.1 Soroprevalência

Todos os rebanhos amostrados foram positivos para anticorpos anti-*L. intracellularis*.

Com relação às soroprevalências, o Vale do Rio Doce foi a mesorregião que apresentou maior prevalência com 100%. A Zona da Mata teve prevalência intermediária com 96.8% (IC 87,9 – 99,6), mas bem próxima à de Campo das Vertentes com 90,9%(IC 75,6 – 98,0) que foi a menor prevalência animal entre as mesorregiões analisadas (Tabela 1).

Tabela 1: Soroprevalência entre as Mesorregiões. Análise das soropositividades dos animais amostrados de criatórios nas mesorregiões de Minas Gerais- MG, 2016.

MESORREGIÃO	CRIATÓRIOS AMOSTRADOS	ANIMAIS AMOSTRADOS	SOROPREVALÊNCIA	IC 95% (Min - Max)
Campo das Vertentes	11	33	90.91	75.6 – 98.0
Central Mineira	10	38	92.11	78.6 -98.3
Vale do Mucuri	12	48	93.70	82.8 – 98.6
Sul/Suldoeste	27	70	95.71	87.9 – 99.1
Zona da Mata	28	63	96.80	87.9 – 99.6
Metropolitana	29	109	97.25	92.1 – 99.4
Jequitinhonha	25	79	97.47	91.1 – 99.6
Oeste de Minas	14	50	98.00	89.3 – 99.9
Norte de Minas	18	60	98.33	91.0 – 99.9
Noroeste de Minas	29	91	98.90	94.0 – 99.9
Triângulo Mineiro	70	400	99.25	98.0 – 99.8
Vale do Rio Doce	10	27	100.0	-
TOTAL	288	1.100	97.7	96.7 - 98.4

5.2 Soroperfil

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre as faixas etárias das criações e nem diferenças entre mesorregiões, devido a alta positividade das amostras testadas.

5.3 Fatores de riscos associados a infecção por *L. intracellularis*

As variáveis selecionadas a partir do questionário (anexo 1) foram relacionadas à soropositividade para *L. intracellularis* para análise estatística.

Devido a alta soropositividade demonstrada no presente estudo, foram utilizadas apenas

amostras fortemente positivas, para avaliar diferença significativa dos fatores de risco através da análise multivariada.

As variáveis, “áreas periurbanas ou próximas á comunidades” com “áreas com suínos criados extensivamente” e “proximidade a lixões” foram estatisticamente relevantes devido a interação entre elas ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2: Análise multi-interação, Intervalo de Confiança (IC), nível de significância dos fatores de risco (P), em Belo Horizonte- MG, 2016.

MODELO	FATORES DE RISCO	Valor de P	COEFICIENTE DE REGRESSÃO	ERRO PADRÃO	RAZÃO DE PREVALÊNCIA 95%
0 - 0	**Fora das áreas periurbanas ou comunidades e fora das áreas com suínos criados extensivamente	0	-	-	Baseline
0 - 1	**Fora das áreas periurbanas ou comunidades e dentro de áreas com suínos criados extensivamente	0,513	1,2	0,34	0,61 – 2,11
1 - 0	**Dentro de áreas periurbanas ou comunidades e fora das áreas com suínos criados extensivamente	0,021	1,8	0,46	1,09 – 2,98
1 - 1	**Dentro de áreas periurbanas ou comunidades e dentro de áreas com suínos criados extensivamente	0,000	3,7	0,86	2,40 – 5,89
	Proximidade á lixões	0,052*	2,2	0,89	0,99 – 4,89

6. DISCUSSÃO

Estudos sobre aspectos epidemiológicos de diversas doenças infecciosas dos suínos têm sido descritos na literatura no Brasil (Sobestianky et al.; 2001, Matos et al.; 2004, Barthasson et al., 2009, Resende et al., 2015, Gabardo et al., 2015), entretanto todos evidenciam dados relativos aos sistemas intensivos de criação de suínos (SICS) destinados à exploração comercial.

Em Minas Gerais, semelhante a outros estados brasileiros, a criação de suínos de forma extensiva e/ou de subsistência é uma prática comum. Estudos relativos a essa população de

subsistência são escassos.

A disseminação da *L. intracellularis* por todos os criatórios incluídos nessa pesquisa foi confirmada pela positividade do teste pela IPMA, sendo o primeiro trabalho a avaliar a prevalência de anticorpos IgG anti-*L. intracellularis* em criatórios de suínos no estado de Minas Gerais.

A escolha da técnica sorológica utilizada, é justificada por possuir alta sensibilidade e especificidade, (Guedes et al., 2002ab) e por se tratar de um teste rotineiramente utilizado no laboratório de patologia molecular, do Departamento Clínica e Cirurgia Veterinária, no campus Pampulha da Universidade Federal de Minas Gerais.

Todos os rebanhos incluídos na presente pesquisa apresentaram positividade para *L. intracellularis* em pelo menos uma amostra de soro ao teste de IPMA, sendo que, como mencionado anteriormente, nenhum desses rebanhos adotavam protocolo de imunização vacinal contra a EPS. Pode-se inferir então que os anticorpos detectados pela IPMA são provenientes da reação imune à exposição direta dos animais ao agente etiológico e que, portanto, a infecção por *L. intracellularis* é disseminada entre os criatórios do estado.

Não foi realizado o soroperfil dos rebanhos no presente estudo. Com quase 100% de positividade não houve como diferenciar estatisticamente as mesorregiões, os criatórios e faixas etárias dos suínos, o que, conseqüentemente, impossibilitou a comparação direta dos resultados obtidos com outras publicações (Resende et al., 2015; Gabardo et al., 2017).

Do total de amostras testadas no presente estudo, 132 amostras positivas foram submetidas a titulação, das quais 122 amostras apresentaram elevados níveis de anticorpos. Com títulos entre 1:120 a 1:7680 (Figura 7). A maioria dos títulos de IgG eram entre 1:120 (60/132) e 1:480 (62/132). Resultados similares foram observados por Gabardo (2015) aonde a maioria dos animais apresentaram títulos de IgG > 1:480, indicando início da infecção.

Em relação ao estado de Minas Gerais, o resultado de soroprevalência encontrado no presente estudo foi maior do que o obtido por Resende et al. (2015). O que pode explicar essa diferença de soroprevalência, é a diferenciação das populações dos animais utilizados em cada estudo. Resende utiliza animais de criação intensiva, diferentemente do presente estudo que utiliza animais de criação extensiva.

Essa diferenciação de criações entre os estudos é importante, devido a ausência de inúmeros passos de biossegurança em criatórios de subsistência tende de aumentar o risco de

infecção ou disseminação da *L. intracellularis*.

E considerando essa diferença de sistemas de produção, comparamos nossos resultados com o de Resende et al. (2015), devido a utilização da mesma técnica sorológica (IPMA) para estudo de anticorpos IgG anti-*L. Intracellularis* e obtiveram positividade em todas as propriedades amostradas, demonstrando que a infecção por esse agente está amplamente disseminada em granjas comerciais e em criatórios no estado de Minas Gerais.

Analisando e comparando o total de amostras avaliadas no estudo de Resende et al (2015), com 3000 amostras, 34,66% de prevalência em Minas Gerais, e o presente estudo, com 1100 amostras, 97,7% de prevalência, observou-se uma diferença entre elas. Possíveis justificativas para essa diferença poderiam estar relacionadas a ampla utilização de antimicrobianos em sistemas confinados, objeto do estudo de Resende et al (2015), onde 97% das propriedades relataram o uso tanto para tratamento de doença clínica quanto de forma preventiva ou ainda como promotor de crescimento dos animais.

Essa característica, todavia, não impediu a disseminação da bactéria entre os animais, mas, aparentemente, reduziu. Além disso, ao contrário de criatórios, onde existe ampla possibilidade de contato com outras espécies animais, possíveis carreadores de *L. intracellularis*, como ratos, camundongos, galinhas, gatos, animais em sistemas confinados apresentam menor chance desse contato. Assim, a ausência de utilização de antimicrobianos associada a real possibilidade de contato com carreadores silvestres ou domésticos de *L. intracellularis* justificariam a elevada prevalência observada no presente estudo (97,7%).

Outra possível explicação à menor prevalência em sistemas confinados seria a janela de negatividade que é observada em animais de 5 a 8 semanas de idade (Guedes e Gebhart, 2002a), justificada pela ausência de anticorpos maternos e ainda ausência de produção de resposta imune ativa contra a bactéria. No caso do presente estudo as amostras coletadas foram de animais mais velhos, entre 2 meses e 6 anos de idade considerado ser uma faixa etária onde os animais já entraram em contato com a bactéria em condições de desenvolver resposta imunológica específica.

No Brasil, existem padrões de biossegurança para Granjas de Reprodutores de Suídeos Certificados (GRSC) (Brasil. Instrução Normativa 19, 2002), e para granjas comerciais (EMBRAPA, 2017). Entretanto, inexitem padrões de biossegurança para os criatórios, sendo um ponto relevante na propagação de doenças a considerar.

No rebanho adotar práticas de biossegurança pode evitar a introdução de agentes patogênicos e a disseminação ou a exacerbação de doenças na propriedade, se tornando outro fator relacionada a alta taxa de positividade nos criatórios com *L. intracellularis* nesse estudo.

É visto na maioria dos criatórios a ausência de monitoria sanitária, sem nenhum controle de barreiras para limitar as oportunidades de entrada de diferentes espécies selvagens e domésticas infectadas ou materiais contaminados podendo levar a susceptibilidade da doença, assim ser indicado como um fator de risco.

Alguns estudos de detecção de *L. intracellularis* em animais silvestres já foram realizados. Na Europa estudou-se a presença desse agente em veado-vermelho, raposas vermelhas, lobos cinza, lebres marrom (Tomanova et al., 2003). No EUA foram estudados coelhos de cauda preta, gambás listrados, gatos selvagens, melro-preto, gambás da Virgínia, guaxinins, esquilos terrestres da Califórnia e coiotes (Pusterla et al., 2008). A Ásia foram avaliados cervos aquáticos coreanos, cervos siberianos e guaxinins (Hossain et al., 2016).

Todos os trabalhos citados anteriormente demonstraram infecção por *L. intracellularis* através de PCR em amostras fecais e Hossain et al. (2016) utilizaram também teste sorológico, entretanto, não foi encontrada infecção em todas as espécies estudadas, tendo sido negativos o veado vermelho, as lebres marrons (Tomanova et al., 2003), o gato selvagem, os gaxinins e o esquilo (Pustela et al., 2008). Com esses relatos, demonstra-se que a maioria das espécies infectadas pela *L. intracellularis* são assintomáticas e excretam a bactéria nas fezes (Tomanova et al., 2003).

Os animais do presente estudo também não apresentaram sinais clínicos no momento da coleta mas, causam impacto na produção desses suínos e na disseminação do agente pois, eles disseminam a *L. intracellularis* por onde defecam, mantendo a infecção sempre presente no rebanho, podendo diminuir a conversão corporal de alguns dos animais.

E associado a ausência de tratamento em animais silvestres, a infecção pode persistir por longos períodos, se tornando fonte de infecção para outros animais (Hossain et al., 2016). No presente estudo, possivelmente existiu contato de suínos com animais silvestres já que não eram adotadas medidas de biossegurança. Decorrente a esse fator, a propagação e permanência da *L. Intracellularis* pode ter sido mais duradoura e constante, justificando a elevada prevalência encontrada.

A análise dos fatores de risco do questionário foi realizada com o modelo de Regressão

Poisson, aonde distribuiu-se a probabilidade da variável aleatória discreta, expressando a probabilidade de uma “série” de eventos ocorridos num certo período de tempo independentemente de quando ocorreu o último evento, explicando que todas as variáveis estão no mesmo modelo com um fator de risco inicial em comum, interagindo com outros fatores progressivamente (multifatorial) (Tabela 2). Como por exemplo, as áreas periurbanas ou comunidades com suínos criados extensivamente que estavam associadas ao número de animais positivos apresentou 2.1 vezes (0,61 – 2,11) maior prevalência. Quando comparado esses mesmos fatores de forma univariável não foi demonstrada significância. Assim, apenas as 131 amostras positivas que sofreram titulação foram utilizadas para analisar a possível significância entre todos os fatores de risco devido a alta taxa de positividade das amostras.

Poucos estudos foram conduzidos com o objetivo de esclarecer os fatores de risco para positividade de sistema de criação comercial (Resende et al., 2015), e não há nenhuma publicação em relação a criatórios, mesmo sendo considerada uma doença economicamente relevante e prevalente (McCorist, 2005).

Dentre as 12 variáveis selecionadas do questionário para análise de relevância como fatores de risco, somente “áreas periurbanas ou comunidade; áreas com suínos criados extensivamente e proximidade a lixões” foram significativas, quando analisados por multi-interação utilizando amostras de animais fortemente positivos.

De maneira geral, sabe-se que animais de criação extensiva ficam permanentemente soltos, sem divisão de fases, sem controle de reprodução e utilizam os recursos locais, ou seja, restos de alimentos, pastagem nativa e o baixo nível sanitário, o que facilita a ocorrência da intrusão ou disseminação do agente entres os animais do criatório.

Área "periurbana" refletiu um aumento de quase 3 vezes (IC 1,09 – 2,98) da prevalência, sendo considerada um limite; dentro ou fora de um plano de área e com poucos serviços básicos" (Smit et. al. 1996), pode aparecer como áreas com menor cobertura florestal e maior densidade humana, ou seja, mesmo que tenha um menor risco a intrusão de animais selvagens; são áreas que a população não se preocupa com a biossegurança.

A proximidade a lixões é importante para a disseminação de doenças pois além de ser um problema econômico e de limpeza geral, envolve a formação de criadouros de roedores e de insetos, que podem participar na transmissão de doenças, como reservatórios de agentes infecciosos ou como vetores (Leser et al., 1988). No presente estudo, essa importância foi

demonstrada com o aumento em quase 5x (IC 0,99 – 4,89) de prevalência quando associou esse fator as amostras.

A infecção de roedores por *L. intracellularis* foi investigado anteriormente em estudos a campo e em experimentos controlados. Como exemplos, Friedman et al. (2008) detectaram DNA de *L. intracellularis* no intestino de camundongos e ratos selvagens capturados em granjas onde EP era endêmica. Collins et al. (2011) relataram que roedores coletados de granja eram capazes de eliminar quantidade suficiente de *L. intracellularis* para infectar um suíno. Além disso, Murakata et al. (2008) relataram que ratos e camundongos de laboratório desafiados experimentalmente com cepas de *L. intracellularis* de suínos desenvolveram lesões no ceco e cólon de EP.

Já Gabardo et al. (2017) comprovaram a teoria de que *L. intracellularis* eliminada nas fezes de roedores é capaz de infectar suínos, potencialmente semelhante ao que ocorre a campo. Essas informações podem justificar a alta soroprevalência observada nesse estudo, pois esses suínos em contato com roedores infectados, ou com alimentos infectados com as fezes desse roedores em lixões permite a infecção e transmissão à outros animais. Ou seja, esse suíno infectado pelas fezes do roedor ao “voltar” no seu criatório, pode se tornar o responsável em disseminar a infecção entre animais do mesmo grupo.

Alguns dos estudos de prevalência de *L. intracellularis* em rebanhos utilizaram diferentes técnicas sorológicas, e nelas observaram diferença de resultados entres os rebanhos, em diferentes países e regiões (Marsteller et al., 2003; Paradis et al., 2007; Holyoake et al., 2010; Kukushkin e Okovytaya., 2012; Wu et al., 2014; Arnaod et al., 2019). Comparado ao presente estudo, houve também uma variação de prevalência entre as mesorregiões avaliadas (Tabela 1).

Vários fatores poderiam estar envolvidos na explicação dessa variância, como diferença entre idades amostradas, manejo, tipo de sistema produtivo (Krollet al., 2005), regiões, objetivo final dos rebanhos, programas de limpeza e desinfecção das instalações, qualidade da matéria prima para rações, qualidade da água (Corzo et al., 2005), presença de possíveis vetores nas granjas como roedores (Gabardo et al., 2017), além do uso rotineiro de antibiótico (Paradis et al. 2007) .

A possível utilização de diferentes tipos de alimentos aos suínos nas propriedades avaliadas, também pode ser um fator predisponente a infecção, pois os restos ou sobras de

alimentos, e as vezes ração produzida na propriedade, pode induzir a um desvio do estado nutricional do animal e constituir em alterações do estado de saúde. Segundo Leser et al. (2008), as carências nutricionais podem reduzir a resistência do hospedeiro aos processos infecciosos.

Amaral et al. (2005) ressaltam que a água é uma das principais vias de transmissão de patógenos aos animais domésticos. Associado a isso também tem relevância a frequência de higienização das instalações de todos os criatórios que poderá impedir/ evitar a contaminação do solo e da água com agentes infecciosos (Leser et al., 1988), como por exemplo *L. intracellularis*. Já foi relatado por Pusterla et al (2008) que a transmissão da *L. intracellularis* pode ocorrer através de alimentos ou água contaminados com fezes infectadas de animais domésticos ou de vida livre.

Pouca informação está disponível sobre a prevalência de *L. intracellularis* em javalis (*Sus scrofa*), mas, já foi demonstrada por alguns estudos a presença do agente em suídeos selvagens (Tomanova et al., 2002, Phillips et al. 2009, Reiner et al., 2010), como também em um rebanho comercial do Brasil (Zlotowski et al. 2008). Com essas informações as fazendas de javalis e javalis silvestres mostram ser potenciais reservatórios de doenças infecciosas para suínos domésticos.

Entretanto, na literatura não existe informações sobre a prevalência de *L. intracellularis* em catetos e queixadas, mas, existem pesquisas que analisaram soros de diversas espécies animais de vida livre no Pantanal Sul-Mato-grossense e no Parque Nacional das Emas - Suldeste de Goiás, e observaram soropositividade em amostras de queixadas (*Tayassu pecari*) demonstrando, assim que estes suídeos constituem reservatório natural de *Brucella* sp. (Freitas et al., 2004). Esses dados indicam que suídeos asselvajados em geral (javalis, catetos e queixadas), são importantes na disseminação de doenças, potencialmente também de *L. intracellularis*.

Os criatórios de subsistência desse estudo são positivos, muito possivelmente com excreção de bactérias nas fezes, representando um o possível risco sanitário para suínos comerciais, pois se tornam potenciais mantenedores da infecção. Em termos práticos, com o presente resultado nos leva a pensar em novas ações para esse sistema de criação, devido a questão epidemiológica.

7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados, existe uma alta circulação do agente em fazendas de sistemas de produção de suínos de quintal no estado de Minas Gerais, Brasil. Nossos resultados mostram que a interação de animais criados próximos a áreas peri-urbanas, criados extensivamente e próximos a aterros sanitários, são fatores de risco para a disseminação do agente.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. Effective mechanisms of cell-mediated immunity. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, orgs. Cellular and molecular immunology. 6th ed. New York: WB Saunders, 2007.
- AL-GAHMDI, G.M.; GEBHART, C.J.; HAYDEN, D.W.; AMES, T.R. Documentation of proliferative enteropathy in foals. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*. v.7, n. 2, p. 147-153, 2006.
- AMARAL, L. A.; ROSSI, Jr., O. D.; NADER FILHO, A.; SOUZA, M. C. I.; ISA, H. Água utilizada em suinocultura como fator de risco à saúde humana e animal. *Ars Veterinaria*. v. 21, n. 1 p. 41-46, 2005.
- ARNOLD, M., CRIENEN, A., SWAM, H. *et al.* Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in pig herds in different European countries. *Porc Health Manag.* v. 5, p. 31, 2019.
- BARTHASSON, D. L.; BRITO, W. M. E. D.; SOBESTIANSKY, J.; *et al.* Ocorrência de infecção por parvovírus suíno e gastroenterite transmissível em suínos, criados de forma extensiva, em Goiás. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.61, n.5, p.1227-1229, 2009.
- BANE, D. P.; NEUMANN, E.; GEBHART, C. *et al.* Porcine proliferative enteropathy: a case control study in swine herds in the United States. *J. Swine Health Prod.* v.4, p.155-158, 2001.
- BARCELLOS, D. E. S. N. *et al.* Uso de perfis sorológicos e bacteriológicos em suinocultura. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v.37, (Supl 1) p.117-128, 2009.
- BRASIL. Instrução Normativa/SDA nº 19 de 15/02/2002 Normas para a Certificação de Granjas de Reprodutores Suídeos. Diário Oficial da União de 2002, Poder Executivo, Brasília – DF, 01 mar.2002
- COLLINS, A.M.; BARCHIA, I.M. The critical threshold of *Lawsonia intracellularis* in pig faeces that causes reduced average daily weight gains in experimentally challenged pigs. *Vet. Microbiol.* v.168, p.455–458, 2014.
- COLLINS, A.M., DIJK, M.V.; VU N.Q.; *et al.* Immunity to *Lawsonia intracellularis*. In: Allen

- D. Leman Swine Conference, 2001, Minneapolis. Allen D. Leman Swine Conference. Saint Paul: Veterinary Outreach Programs/University of Minnesota, 2001. p. 115-120.
- COLLINS, J.E., LIBAL, M.C. e BROST, D. Proliferative enteritis in two pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v.183, p.886-889, 1983.
- COLLINS, A.M.; FELL, S.; PEARSON, H.; et al. Colonisation and shedding of *Lawsonia intracellularis* in experimentally inoculated rodents and in wild rodents on pig farms. *Vet Microbiol*, v.150, p.384–388, 2011.
- COOPER, D.M.; GEBHART, C.J. Comparative aspects of proliferative enteritis. *J. Am. Vet. Med. Ass.* v.212, p.1446-1451, 1998.
- COOPER, D.M., SWANSON, D.L., BARNES, S.M., GEBHART, C.J. Comparison of the 16S ribosomal DNA sequences from the intracellular agents of proliferative enteritis in a hamster, deer, and ostrich with the sequence of a porcine isolate of *Lawsonia intracellularis*. *Int J Syst Bacteriol.* v.47, n.3, p.635-9, 1997(a).
- COOPER, D.M.; SWANSON, D.L.; GEBHART C.J. Diagnosis of proliferative enteritis in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from a hamster, horse, deer and ostrich using a *Lawsonia intracellularis*-specific multiplex PCR assay. *Vet Microbiol.* v,54, n.1, p.47-62, 1997(b).
- CORDES, H.; RIBER, U.; JENSEN, T.K. et al. Cell-mediated and humoral immune responses in pigs following primary and challenge-exposure to *Lawsonia intracellularis*. *Vet. R.* v.43, p.1-11, 2012.
- CORZO, C.A.; RAJIC, A.; FRIENDSHIP, R. et al. Risk factors associated with seropositivity to *Lawsonia intracellularis* in Alberta finishing swine. *Am. Ass. Swine Vet.* p.373-374, 2005.
- DALLA COSTA, O. A.; DIESEL, R.; LOPES, E. J. C.; et al. Sistema intensivo de suínos criados ao ar livre – SISCAL, 2002. – Embrapa Suínos e Aves e Extensão – EMATER/RS. 2002 (Boletim Informativo de Pesquisa & Extensão. BIPERS – EMBRAPA, junho de 2002).
- DOHOO, IAN.; MARTIN, W.; STRYHN, H. Modelling count and rate data. 2Nd Ed. *Veterinary Epidemiologic Research.* p. 445-466, 2010.
- DROLET, R.; LAROCHELLE, D.; GEBHART, C.J. Proliferative enteritis associated with *Lawsonia intracellularis* (ileal symbiont intracellularis) in white-tailed deer. *J Vet Diagn Invest.* v.8, n.2, p.250- 253, 1996.
- DUHAMEL, G. E.; WHEELDON, E. B. Intestinal adenomatosis in a foal. *Vet. Pathol.* v. 19,

p. 447-450, 1982.

EMBRAPA. Biosseguridade mínima para granjas de suínos que produzem animais para abate-
Concórdia: Embrapa Suínos e Aves; 185, p.:8-21, 2017. ISSN 01016245.

ERICKSEN; LANDSVERK, K. T.; BRATBERG, B. Morphology and immunoperoxidase studies of intestinal adenomatosis in the blue fox, *Alopex lagopus*. *J. Comp. Pathol.* v. 102, p. 265-278, 1990.

FOX, J.G.; LAWSON, G.H.K. Campylobacter-like omega intracellular antigen in proliferative colitis of ferrets. *Lab An Scie.* v.38, p.34-36, 1988.

FRANÇA, S.A.; MACHADO, G.S.; ANDREOLIM, P.R. et al. In-feed macrolide Leucomycin (Leucomag 30% PR) for prevention of proliferative enteropathy in experimentally infected pigs. *Ciência Rural.* v.40, p.1378-1384, 2010.

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

FRIEDMAN, M.; BEDNA, V.; KLIMES, J. et al. *Lawsonia intracellularis* in rodents from pig farms with the occurrence of porcine proliferative enteropathy. *J. Society Applied Microbiol.* v.47, p.117-121, 2008.

FRISK, C. F.; WAGNER, J. E. Experimental Hamster Enteritis: An Electron Microscopic Study. *Am. J. Vet. Res.* v. 38, n. 11, p.1861-1868, 1977.

GABARDO, M. P. *Lawsonia intracellularis*: Estudo da transmissão interespecies e da utilização do fluido oral na detecção de imunoglobulinas. Dissertação (Doutorado em Ciência Animal). 2015. f 40-51– Programa de Pós-graduação em Ciência Animal na área de Patologia Animal da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GABARDO, M. P.; Sato, J.P.H.; DANIEL, A. G.S.; et al. Evaluation of the involvement of mice (*Mus musculus*) in the epidemiology of porcine proliferative enteropathy. *Vet Microb.* 205, p.75-79, 2017.

GUEDES, R.M.C. Update on epidemiology and diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *J. Swine. Health Prod.* v 12, p.134-138, 2004.

GUEDES, R.M.C. Infecção por *Lawsonia intracellularis*: um problema recorrente na suinocultura do Brasil. *Acta Sci. Vet.* v.36, p.77-80, 2008.

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J. Onset and duration of fecal shedding, cell-mediated and

humoral immune responses in pigs after challenge with a pathogenic isolate or attenuated vaccine strain of *Lawsonia intracellularis*. *Vet. Microbiol.* v.91, p.135-145, 2003(a).

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J. Preparation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies against *Lawsonia intracellularis*. *J. Vet. Diagn. Invest.* v.15, p.438–446, 2003(b).

GUEDES, R. M. C.; GEBHART, C. J. Comparison of intestinal mucosal homogenate and pure culture of the homologous *Lawsonia intracellularis* Isolate in reproducing proliferative enteropathy in swine. *Vet. Microbiol.* v. 93, p. 159-166, 2003(c).

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J. Progression of *L. intracellularis* infection and mucosal immune response in pigs. In: International Pig Veterinary Society, 2004, Hamburgo. Proceedings of the IPVS Congress. v. 18. p. 65, 2004.

GUEDES, R.M. C.; GEBHART, C.J. Evidence of cell-mediated immune response and specific local mucosal immunoglobulin (Ig) A production against *Lawsonia intracellularis* in experimentally infected swine. *Can J Vet Res.* v.74, n.2, p.97-101, 2010.

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; ARMBRUSTER, G.A.; et al. Serologic follow-up of a repopulated swine herd after an outbreak of proliferative hemorrhagic enteropathy. *Can J Vet Res.* v.66, n.4, p.258-63, 2002(a).

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; WINKELMAN, N.L.; et al. A comparative study of an indirect fluorescent antibody test and an immunoperoxidase monolayer assay for the diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *J Vet Diagn Invest.* v.14, n.5, p.420-423, 2002 (b).

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; WINKELMAN, R.; MACKIE-NUSS, T. A.; MARSTELLE.; et al. Comparison of different methods for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *Can J Vet Res.* v.66, p.99-107, 2002(c).

GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; WINKELMAN, R.; MACKIE-NUSS, T. A.; MARSTELLE.; et al. Validation of an immunoperoxidase monolayer assay as a serologic test for porcine proliferative enteropathy. *Vet. J. Diagn. Invest.* v. 14, p. 420-423, 2002(d).

GEBHART, C.J.; BARNS, S.M.; MCORIST, S.; et al. Ileal symbiont *intracellularis*, an obligate intracellular bacterium of porcine intestines showing a relationship to *Desulfovibrio* species. *Int J Syst Bacteriol.* v.43 n.3, p.533–538, 1993.

HAMPSON, D. J.; TROTT, D. J. A review - intestinal spirochaetal infections of pigs: an overview with an Australian perspective. In *Manipulating Pig Production V.* Eds D. P. Henessy,

- P. D. Cranwell. Werribee, Australasian Pig Society. P 139-169. 1995.
- HOLYOAKE, P.K.; MULLAN, B.P.; CUTLER R.S. Prevalence of antibodies to *Lawsonia intracellularis* in pig herds in Australia. *Aust. Vet J.* v.88, p.186-188, 2010.
- HOSSAIN, M.; OH, Y.; CHO, H. Prevalência de anticorpo e DNA de *Lawsonia intracellularis* em amostras de animais selvagens na coreia. *J Wildlife Diss.* v.52, n. 4, p. 803-808. 2016.
- HOTCHKISS, C. E.; SHAMES, B.; PERKINS, S. E.; FOX, J. G. Proliferative Enteropathy of Rabbits: the Intracellular Campylobacter-like Organism is Closely related to *Lawsonia intracellularis*. *Lab An Scie.* v. 46, n. 6, p. 623-7, 1996.
- HOLYOAKE, P.K.; MULLAN, B.P.; CUTLER R.S. Prevalence of antibodies to *Lawsonia intracellularis* in pig herds in Australia. *Aust. Vet J.* v.88, p.186-188, 2010.
- JACOBSON, M., FELLSTROM, C., JENSEN-WAERN, M. Porcine proliferative enteropathy: An important disease with questions remaining to be solved. *The Vet. J.* v. 184, p. 264–268. 2010.
- JACOBSON, M.; EBGLUND, S.; BALLAGI- PORDANY, A. The use of a mimic to detect polymerase chain reaction-inhibitory factors in feces examined for the presence of *Lawsonia intracellularis*. *J. Vet. Diagn. Invest.* v. 15, p.268-273, 2003.
- JONAS, A.M., TOMITA, Y. e WYAND, D.S. Enzootic intestinal adenocarcinoma in hamsters. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v.147, p.1102-1108, 1965.
- JONES GF, WARD GE, MURTAUGH MP, LIN G, GEBHART CJ. Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in feces by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* v. 31, p. 2611–2615. 1993.
- JORDAN, D.M., KNITTEL, J.P., SCHWARTZ, K.J., ROOF, M.B., HOFFMAN, L.J. A *Lawsonia intracellularis* transmission study using a pure culture inoculated seeder-pig sentinel model. *Vet Microbiol.* v.104, n.1-2, p.83-90, 2004.
- JORDAN DM, KNITTEL JP, ROOF MB, SCHWARTZ KJ, LARSON DJ AND HOFFMAN LJ. Detection of *Lawsonia intracellularis* in Iowa swine using polymerase chain reaction methodology. *J Vet Diag Invest.* v. 11, p. 45–49. 1999.
- KNITTEL JP e ROOF MB. United States patent for *Lawsonia intracellularis* cultivation, anti-*Lawsonia intracellularis* vaccines and diagnostic agents. United States Patent No. 8,885,823. 1999.
- KROLL, J.J.; ROOF, M.B.; HOFFMAN, L.J.; DICKSON, J.S. Proliferative enteropathy: a

global enteric disease of pigs caused by *Lawsonia intracellularis*. *Anim. Health Res Reviews*. v.6, n.2, p.173–197, 2005.

KUKUSHKIN, S.; OKOVYTAYA, T. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and PCV2 in commercial pig farms in Russia. *Vet. Rec.* v. 171, n.5, 2012.

LADINIG, A.; SOMMERFELD-STUR, I.; WEISSENBOCK, H. Comparative Evaluation of Diagnostic Methods for *Lawsonia intracellularis* Infection in Pigs, with Emphasis on Cases Lacking Characteristic Lesion. *J Comp Pathol.* v. 140, n. 2-3, p. 140-148, 2009.

LAWSON, G. H. K., MACKIE, R. A., SMITH, D. G. E., & MCORIST, S. Infection of cultured rat enterocytes by Ileal symbiont *intracellularis* depends on host cell function and actin polymerisation. *Vet Microbiol.* v. 45, n. 4, p. 339–350. 1995.

LAWSON, G.H.; McORIST, S.; JASNI, S.; MACKIE, R.A. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: cultivation and maintenance in vitro. *J Clin Microbiol.* v.31, n.5, p.1136–1142, 1993.

LAWSON, G.H. e GEBHART, C.J. Proliferative enteropathy. *J Comp Pathol.* v.122, n.2-3, p.77–100, 2000.

Leblanc B, Fox JG, Le-Net JL, Masson MT, Picard A. Hyperplastic gastritis with intraepithelial *Campylobacter*-like organisms in a beagle dog. *Vet Pathol.* v. 30, p. 391–394, 1993.

LEMARCHAND, T. X.; TULLY, T. N.; SHANE, S. M. Intracellular *Campylobacter*-like organisms associated with rectal prolapse and proliferative enteroproctitis in emus (*Dromaius novaehollandiae*). *Vet. Pathol.* v. 34, p. 152-156, 1997.

LESER, W.; BARBOSA, V.; BARUZZI, R. G.; et al. Epidemiologia Geral das Doenças Transmissíveis. Elementos de Epidemiologia Geral. ed. Livraria Atheneu, Rio de Janeiro. São Paulo. P 89-103. 1988.

LÖFSTEDT, M.; HOLMGREN, N.; JACOBSON, M.; FELLSTROW, C.; LUDNDEHEIM, N. *Lawsonia intracellularis* and *Brachyspira* species in Swedish growers. Proceedings 18th IPVS Cong. v.1, p.28, 2004.

MAGTOTO, R. L.; VEGI, A.; WANG, C.; et al. Evaluation and use of a serological assay for the detection of antibodies to *Lawsonia intracellularis* in swine. *Int. J. Vet. Sci. Med.* v.2 p.109-113, 2014.

MAPA. Sistema de Vigilância Sanitária na Zona Livre de Peste Suína Clássica. Manuals de

Padronização Inquérito soroepidemiológico em criatórios de Suídeos Programa Nacional de Sanidade dos suídeos- PNSS. Brasília, p. 2, 2010.

MARSTELLER, T.A.; ARMBRUSTER, G.; BANE, D.P.; et al. Monitoring the prevalence of *Lawsonia intracellularis* IgG antibodies using serial sampling in growing and breeding swine herds. *J. Swine Health Prod.* v.11, p. 127-130, 2003.

MATOS, M. P. C.; SOBESTIANKY, J.; PORTO, R. N. G.; MEIRINHOS, M. L. G. Ocorrência de Ac para *Brucella* sp. Em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia, estado de Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, v. 5, n. 2, p. 105-108, 2004.

McORIST, S. Defining the full costs endemic porcine proliferative enteropathy. *The Vet. J.* v.170, p.8-9, 2005a.

McORIST, S. Prevalence and impact of proliferative enteropathy (ileitis) in East Asia. *Proceedings 2nd Asian Pig Vet. Soc. Cong.* p.24-37, 2005b.

McORIST, S.; BOID, R.; LAWSON, G.H. Antigenic analysis of *Campylobacter* species and an intracellular *Campylobacter*-like organism associated with porcine proliferative enteropathies. *Infect Immun.* v.57, n.3, p.957-62, 1989.

McORIST, S.; GEBHART, C.J.; BOID, R.; et al. Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov., sp. nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. *Int J Syst Bacteriol.* n.45, n.4, p.820-825, 1995(b)

McORIST, S.; GEBHART, C. J. Proliferative enteropathy. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, et al, eds. *Diseases of Swine*. 10th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell: 811–820. 2012.

McORIST, S., GEBHART, C.J. Porcine proliferative enteropathies. In: STRAW, B.E., ALLAIRE, S.D., MENGELING, W.L. (Ed.) *Disease of swine*, 8. ed. Iowa State University Press Ames, 1999. p. 521-534.

MCORIST S, JASNI S, MACKIE RA, et al. Entry of the bacterium ileal symbiont *intracellularis* into cultured enterocytes and its subsequent release. *Res Vet Sci.* v.14, n.3, p.255–260, 1995(a).

McORIST, S.; JASNI, S.; MACKIE, R. A.; et al. Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure culture of Ileal symbiont *intracellularis*. *Infect. Immun.* v. 61, p. 4286-4292, 1993.

MORENO, A.M.; BACCARO, M.R.; COUTINHO, L.L. et al. Frequência de detecção de

Lawsonia intracellularis através da PCR de suínos no período de dezembro de 1996 a fevereiro de 1999. IX Cong. Brasil. Vet. Especial. Suínos, p.205-206, 1999.

MORENO, A. M.; BACCARO, M. R.; COUTINHO, L. L. Lawsonia intracellularis detection in swine feces from important producing regions in Brazil. *Arq. Inst. Biol.* v.69, p.5-8, 2002.

MURAKATA, K.; SATO A.; YOSHIYA, M. et al. Infection of different strains of mice with Lawsonia intracellularis derived from rabbit or porcine proliferative enteropathy. *J Comp Pathol.* v.139, n.1, p.8-15, 2008.

MUTO, T.; NOGUSHI, Y; SUZUKI, K.; ZAW, K. M. Adenomatous Intestinal Hiperplasia in Guinea Pigs Associated with Campylobacter-like Bacteria. Japanese *J Med Scien Biol.* v. 36, n. 6, p. 337-342, 1983.

NOGUEIRA, M. G.; COLLINS, A. M.; DONAHOO, M., & Emery, D. Respostas imunológicas à vacinação após desafio experimental virulento de Lawsonia intracellularis em porcos. *Vet Microbiol.* v. 164, n. 1-2, p. 131–138, 2013.

OHTA, T.; KIMURA, K., KATSUDA, K.; et al. Proliferative Enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis* in Chickens. *J Comp Pathol.* v. 156, n. 2-3, p. 158-161, 2017.

PARADIS, M. A.; GEBHART, C. J.; TOOLE D.; et al. Subclinical ileitis: Diagnostic and performance parameters in a multi-dose mucosal homogenate challenge model. *J Swine Health Prod.* v.20, n. 3, p. 137–141, 2012.

PARADIS, M.; GOTTSCHALK, M.; RAJIC, A.; et al. Seroprevalence of Lawsonia intracellularis in different swine populations in 3 provinces in Canada. *Can. Vet. J.* v.48, p.57-62, 2007.

PHILLIPS, N. D.; LA, T.; ADAMS, P. J. et al. Detection of Brachyspira hyodysenteriae, Lawsonia intracellularis and Brachyspira pilosicoli in feral pigs. *Vet. Microbiol.* v. 134, p. 294-299, 2009.

PUSTERLA, N.; MAPES, S.; REJMANEK, D.; et al. Detection of Lawsonia intracellularis by Real-time PCR in the Feces of Free-living Animals from Equine Farms with Documented Occurrence of Equine Proliferative Enteropathy. *J Wildl Dis.* v.44, n.4, p. 992–998, 2008.

REINER, G.; WINKELMANN, M.; WILLEMS, H. Prevalence of Lawsonia intracellularis, Brachyspira hyodysenteriae, and Brachyspira pilosicoli infection in hunted wild boars (Sus scrofa) in Germany. *Eur. J. Wildl. Res.* v. 57, p. 443-448, 2011.

RESENDE, T.P.; REAL, C.P.; GABARDO M.; et al. Serological profile, seroprevalence and

risk factors related to *Lawsonia intracellularis* infection in swine herds from Minas Gerais State, Brazil. *BMC Vet Res.* v.11, n.306, 2015.

RESENDE, T. P.; PEREIRA, C. E. R.; DANIEL, A. G. S; et al. Effects of *Lawsonia intracellularis* infection in the proliferation of different mammalian cell lines. *Vet. Microbiol.* Vol.228: p.157-164, 2019.

RISTOW, L. E.; SILVA, L. G. C.; PEREZ, J.R. Levantamento sorológico da enteropatia proliferativa dos suínos (ileíte) no estado de Minas Gerais. X Cong. Brasil. Vet. Especial. Suínos, p.43-44, 2001.

RIBER, U.; HEEGAARD, P. M. H., CORDES, H. et al. Vaccination of pigs with attenuated *Lawsonia intracellularis* induced acute phase protein responses and primed cell-mediated immunity without reduction in bacterial shedding after challenge. *Vaccine.* v.33, p.156- 162, 2015.

ROERINK, F.; MORGAN, C. L.; KNETTER, S. M.; et al. A novel inactivated vaccine against *Lawsonia intracellularis* induces rapid induction of humoral immunity, reduction of bacterial shedding and provides robust gut barrier function. *Vaccine.* v.36, p.1500-1508, 2018.

ROWLAND, A. C. Necrotic enteritis and regional ileitis in pigs at slaughter. *Veterinary Record.* v100: 338–339. 1978.

ROWLAND, A. C., E G. H. K LAWSON. Porcine proliferative enteropathies, In A. D. Leman, B. E. Straw, W. L. Mengeling, S. D'Allaire, and D. J. Taylor (ed.). *Diseases of Swine*, 7 ed. Iowa State University Press, Ames, IA. p.560-569, 1992.

ROWLAND, A. C. and LAWSON, G. H. K. Intestinal Adenomatosis in the Pig: Immunofluorescent and Electron Microscopic Studies. *Res, Vet. Scie.* 323–330, 1974.

ROWLAND, A. C., LAWSON, G. H. K., & MAXWELL, A. Intestinal adenomatosis in the Pig: Occurrence of a bacterium in affected cells. *Nature*, 243(5407), 417, 1973.

ROWLAND, A. C.; ROWNTREE, P. G. M. A haemorrhagic bowel syndrome associated with intestinal adenomatosis in the pig. *Vet. Rec.* v. 91, p. 235-241, 1972.

SARCINELLI, M. F. BENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. Características da Carne Suína. Espírito Santo: Universidade Federal do Espírito Santo, 7p. 2007. (Boletim Técnico, PIE-UFES: 00907).

SEAPA Relatório 2017. Disponível em:

[http://www.reformaagraria.mg.gov.br/images/documentos/suinocultura_abr_2019\[1\].pd](http://www.reformaagraria.mg.gov.br/images/documentos/suinocultura_abr_2019[1].pd)

f. Acesso em: 23 Dezembro de 2019.

SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, S. R. P.; SESTI, C. A. L. Suinocultura Intensiva. Serviço de Produção de Informação – SPI Brasília. 1998.

SMIT D., v. R. A. a. J. C. Diagnostic Evaluation Studies - Peri-Urban Kwazulu-Natal. South Africa: Land and Agriculture Policy Center. p38, 1996.

STEGE, H.; JENSEN, T.K., MØLLER, K. et al. Infection dynamics of *Lawsonia intracellularis* in pig herds. *Vet. Microbiol.* v.104, p.97–206, 2004.

STEVENSON, G.W. Differential diagnosis of diarrhea in grow-finish swine. In: 32nd Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians, 359- 363, 2001.

TRUONG, Q. L.; SEO, T. W.; YOON, B. et al. Prevalence of Swine Viral and Bacterial Pathogens in Rodents and Stray Cats Captured around Pig Farms in Korea. *J. Vet. Med. Scie.* v. 75, p 1647-1650. 2013.

TOMANOVÁ, K.; LITERÁK, I.; KLIMES, J.; et al. *Lawsonia intracellularis* em mamíferos selvagens nos Cárpatos eslovacos. *Journal of Wildlife Diseases.* v. 39, n. 2, pp. 407-411, 2003.

TOMANOVÁ, K.; BARTAK, P.; SMOLA, J. Detection of *Lawsonia intracellularis* in wild pigs in the Czech Republic. *T. Vet. Recd.* v. 151, p.765-767, 2002.

UMEMURA, T., TSUCHITANI, M., TOTSUKA, M. et al. Histiocytic enteritis of rabbits. *Vet. Pathol.* v.19, p.326-328, 1982.

VANNUCCI FA E GEBHART CJ. Recent advances in understanding the pathogenesis of *Lawsonia intracellularis* infections. *Vet Pathol.* v.51, n.2, p.465-477, 2014.

VANNUCCI, F.A.; WATTANAPHANSAK, S.; GEBHART, C.J. An alternative method for cultivation of *Lawsonia intracellularis*. *J Clin Microbiol.* v.50, n.3, p.1070–1072, 2012

VANDENBERGHE, J.; HOORENS, J. *Campylobacter*-species and regional enteritis in Lambs. *Res Vet Scien.* v. 29, n. 3, p. 390-391, 1980.

VIOTT, A.M.; LAGE A.P.; CRUZ JUNIOR, E.C.C. et al. The prevalence of swine enteropathogens in Brazilian grower e finish herds. *Braz. J. of Microbiol.* v.44, p.145-151, 2013a.

VIOTT, A.M.; FRANÇA, S.A.; VANNUCCI, F.A. et al. Infection of sparrows (*Passer domesticus*) and different mice strains with *Lawsonia intracellularis* *Pesq. Vet. Bras.* v. 33, p.372-378, 2013b

WARD, G. E.; WINKELMAN, N. L. Diagnosing, treating and controlling proliferative enteritis

in swine. *Vet Med.* v. 85, n. 4, p. 312-318, 1990

WALTER, D.; GEBHART, C.; KROLL, J.; et al. Serologic profiling and vaccination timing for *Lawsonia intracellularis*. *J Swine Health Prod.* v.2(6), p.310-31, 2004.

WATTANAPHANSAK, S.; SINGER, R. S.; GEBHART, C. J. In vitro antimicrobial activity against 10 North American and European *Lawsonia intracellularis* isolates. *Vet Microb.* v.134, p.305-310, 2009.

WATTANAPHANSAK, S.; PEREIRA, C. E. R.; KAENSON, W.; et al. Isolation and in vitro antimicrobial susceptibility of porcine *Lawsonia intracellularis* from Brazil and Thailand. *BMC Microbiol.* 19:27, 2019.

WENDT, M.; SCHULZE-JOHANN, R.; VERSPOHL, J. Epidemiological investigations on *Lawsonia intracellularis* infections in German pig herds. *Proceedings 18th IPVS Cong.* v.1, p.52, 2004.

WINKELMAN, N.L., DEE, S. Ileitis: an update. *Compendium of Continuing Education of Practicing Veterinarians.* 18, S19–S25. 1996.

WILSON, J. B.; HONOUR, S.; PAULING, G.E.; et al. Surveillance for porcine proliferative enteropathy in Alberta by using routine diagnostic laboratory data. *Can. Vet. J.* v. 43, p. 604-606, 2002.

WILLIAMS, N.M.; HARRISON, L.R.; GEBHART; C.J. Proliferative enteropathy in a foal caused by *Lawsonia intracellularis*-like bacterium. *J Vet Diagn Invest.*, v.8, p.254-256, 1996.

WU, Z.; LING, Y.; TIAN, D. et al. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* antibodies in intensive pig farms in China. *BMC Vet. Res.* v.10, p.1-5, 2014.

ZLOTOWSKI, P.; CORRÊA, A. M. R.; BORDA, M. R. et al. Enterite associada com infecção por *Lawsonia intracellularis* e circovírus suíno tipo 2 em um rebanho de javalis no Sul do Brasil. *Cienc. Rural* [online]. 2008. vol.38, n.9, p.2540-2544. Epub Apr 08, 2008.

ANEXO 1

 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL - DSA		 Governo do Estado de Minas Gerais Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais Instituto Mineiro de Agropecuária									
Sistema de vigilância sanitária na zona livre de peste suína clássica Formulário de colheita de amostras - Inquérito por amostragem em CRIATÓRIOS DE SUÍNOS 2016											
1. Identificação da propriedade e do proprietário											
1.1 UF	1.2 Município	1.3 Cod. MAPA UF _____ N° sequencial _____									
1.4 Nome do estabelecimento		1.5 Código do estabelecimento na UVL									
1.6 Nome do proprietário		1.7 Código do proprietário na UVL									
1.8 Coordenadas geográficas <small>Graus Minutos Segundos</small> Latitude (S) _____ Longitude (W) _____		1.9 Telefone(s) de contato (DDD + número)	2. Data da colheita das amostras _____/_____/_____								
3. Critério(s) de risco utilizado(s) para seleção do estabelecimento											
fronteira internacional ou divisa da zona livre PSC	fornecimento de resíduos alimentares (lavagem) aos suínos	proximidade a reservas naturais, áreas de proteção ambiental ou parques nacionais com presença de suínos silvestres									
assentamentos rurais ou reservas indígenas	proximidade a quarentenários de suínos	proprietário com propriedade em outro país ou em área endêmica									
áreas periurbanas ou comunidades carentes	proximidade a lixões										
áreas com suínos criados extensivamente	proximidade a graxarias										
4. Composição do rebanho no momento da colheita											
4.1 Matrizes	4.2 Cachos	4.3 Leitores*	4.4 Animais castrados acima de 8 meses								
			4.5 Total envolvido na amostra (somatório dos itens 4.1 ; 4.2 ; e 4.4)								
*Animais que não estão em fase reprodutiva (leitores em maternidade e/ou terminação abaixo de 8 meses)											
5. Convivência com susceptíveis de outros estabelecimentos?		6. Convivência/contato com susceptíveis selvagens ?									
<table border="1"> <tr><td>Sim</td><td>Não</td></tr> <tr><td></td><td></td></tr> </table>		Sim	Não			<table border="1"> <tr><td>Ingresso</td><td>Egresso</td></tr> <tr><td></td><td></td></tr> </table>		Ingresso	Egresso		
Sim	Não										
Ingresso	Egresso										
7. Trânsito nos últimos 60 dias		<table border="1"> <tr><td>Cria/Engorda</td><td>Abate</td></tr> <tr><td></td><td></td></tr> </table>		Cria/Engorda	Abate						
Cria/Engorda	Abate										
8. Informações sobre as amostras colhidas											
	Número da amostra	Idade *	Sx		Número da amostra	Idade *	Sx		Número da amostra	Idade*	Sx
1				11				21			
2				12				22			
3				13				23			
4				14				24			
5				15				25			
6				16				26			
7				17				27			
8				28				28			
9				19				29			
10				20				30			
*meses											
9. Resultado da vistoria geral do rebanho e exame clínico dos animais amostrados / Observações:											
10. Médico Veterinário responsável pela colheita											
Nome:						Assinatura:					
UVL:						N° CRMV:					



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Secretaria de Defesa Agropecuária
DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL - DSA



Governo do Estado de Minas Gerais
Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais
Instituto Mineiro de Agropecuária

INSTRUTIVO DE PREENCHIMENTO
Formulário de colheita de amostras
Inquérito por amostragem em CRIATÓRIOS DE SUÍNOS

1. Identificação da propriedade e do proprietário

- 1.1 UF: sigla da Unidade Federativa onde se localiza o criatório.
1.2 Município: nome do município onde se localiza o criatório.
1.3 Código MAPA: código do estabelecimento no inquérito, composto pela UF + número seqüencial de 001 a 320 (UF-001 a UF-320).
1.4 Nome do estabelecimento: nome completo do estabelecimento onde se encontram os animais. Quando não há um nome, preencher o campo utilizando o nome do proprietário.
1.5 Código do estabelecimento na UVL: código do estabelecimento no cadastro do Órgão Estadual de Defesa Sanitária Animal. Código da UF junto ao IBGE (2 dígitos) + Número seqüencial do estabelecimento (9 dígitos).
1.6 Nome do proprietário: nome completo do proprietário dos animais.
1.7 Código do proprietário na UVL: Informar o CNPJ ou CPF do proprietário.
1.8 Coordenadas geográficas: a localização geográfica deverá corresponder à sede da propriedade. O aparelho "GPS" deverá estar ajustado para *datum* SAD 69, com a configuração para graus (°), minutos (') e segundos (").
Formato: xx ° xx ' xx,xx ''.
Exemplo: Latitude: -09° 22' 33,42" Longitude: -48° 19' 27,12".
1.9 Telefone(s) de contato: código DDD e número do(s) telefone(s) de contato do proprietário dos animais.

2. Data da colheita das amostras

Dia, mês e ano da fiscalização para colheita das amostras (formato: dd/mm/aaaa).

3. Critério(s) de risco utilizado(s) para seleção do estabelecimento

Marcar com um "X" o(s) critério(s) de risco utilizado(s) para seleção do estabelecimento. Mais do que um critério de risco poderá ser aplicado, por estabelecimento, sempre que necessário.

4. Composição do rebanho no momento da colheita

Indicar a quantidade de suínos existentes no estabelecimento na data da colheita das amostras, com o total de matrizes, cachaços, leitões (animais que não estão em fase reprodutiva: leitões em materidade e/ou terminação) e animais castrados acima de 8 meses. Colocar "0" (zero) quando não houver animais na categoria.
No campo 4.5, indicar o total de suínos adultos (somatório dos itens 4.1, 4.2 e 4.4) utilizado para o cálculo da amostra, conforme tabela de amostragem. Suínos adultos: animais que estão em fase reprodutiva ou animais castrados acima de 8 meses.

5. Convivência com susceptíveis de outros estabelecimentos?

Marcar com um "X" se há ou não convivência com suínos de outros estabelecimentos.

6. Convivência com susceptíveis selvagens ?

Marcar com um "X" se há ou não convivência ou contato com suínos selvagens.

7. Trânsito nos últimos 60 dias

Marcar com um "X" qual o finalidade do trânsito de suínos realizado nos últimos 60 dias (cria/engorda ou abate). Colocar "0" (zero) quando não houver trânsito nos últimos 60 dias.

8. Informações sobre as amostras colhidas

Número da amostra: composto pela UF + número seqüencial do estabelecimento (001 a 320) + número seqüencial da amostra no estabelecimento (01 a 30).

Exemplo: RJ-032-07 = amostra "7", colhida no criatório "32", no Estado do Rio de Janeiro.

Idade: indicar a idade do animal em meses.

Sx: indicar sexo do animal (M ou F).

9. Resultado da vistoria geral do rebanho e inspeção clínica dos animais amostrados / Observações:

Informar o resultado da vistoria geral do rebanho e da inspeção clínica dos animais amostrados.

Utilizar também para o registro de qualquer informação que o responsável pela colheita julgue pertinente.

10. Médico Veterinário responsável pela colheita

Identificar com o nome, nº CRMV e assinatura do Médico Veterinário responsável pelo preenchimento do formulário e pela colheita das amostras, além do nome da Unidade Veterinária Local responsável pelo estabelecimento selecionado.



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Secretaria de Defesa Agropecuária
DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL - DSA



Governo do Estado de Minas Gerais
Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais
Instituto Mineiro de Agropecuária

ATENÇÃO: O formulário de colheita de amostras **original** deverá ser arquivado na Unidade Central do Órgão Estadual de Defesa Sanitária Animal e uma **cópia legível** deverá ser arquivada na Unidade Veterinária Local responsável pelo estabelecimento selecionado.

