

Talita Pilar Resende

**Soroperfil e soroprevalência para *Lawsonia intracellularis* em rebanhos suínos do estado de Minas Gerais**

Dissertação apresentada ao Programa da Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, área de concentração Patologia Animal. Orientador: Roberto Guedes.

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária - UFMG  
2015

R433s Resende, Talita Pilar, 1987-  
Soroperfil e soroprevalência para *Lawsonia intracellularis* em rebanhos suínos do estado de Minas Gerais / Talita Pilar Resende. – 2015.  
40 p. : il.

Orientador: Roberto Guedes  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.  
Inclui bibliografia

1. Suíno – Doenças – Teses. 2. Diarreia em animais – Teses. 3. Sorologia veterinária – Teses. 4. Patologia veterinária – Teses. I. Guedes, Roberto Maurício Carvalho.  
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.408 96

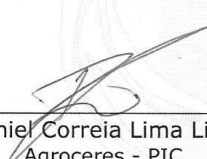
## FOLHA DE APROVAÇÃO


### TALITA PILAR RESENDE

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

Aprovada em 24 de fevereiro de 2015, pela banca constituída pelos membros:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Roberto Maurício Carvalho Guedes  
Presidente - Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Daniel Correia Lima Linhares  
Agroceres - PIC

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Zélia Inês Portela Lobato  
Universidade Federal de Minas Gerais - Escola de Veterinária

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de vida e crescimento contínuo.

À minha família agradeço o apoio: Marilúcia, Henrique, Tássia e Tico-Tico.

Ao Paulo pela paciência, carinho e generosidade.

Ao Prof. Roberto pela oportunidade, confiança, ensinamentos e exemplo de profissionalismo.

Aos professores da Patologia agradeço pelas aulas sensacionais e pelo conhecimento compartilhado.

À Leimar e Natália pelo companheirismo e ajudas essenciais.

Aos professores e colegas do DMVP pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos na área e pela ajuda no projeto, especialmente Prof. Marcos Xavier, Prof. João Paulo Haddad, Prof. Zélia, Alessandra Dias e Grazielle Cossenzo.

Aos colegas da Patologia Veterinária que me deram suporte para execução das tarefas e compartilharam comigo as dores e as alegrias da pós graduação, especialmente à família Guedes pelas risadas, companhia nas viagens e ajuda.

Aos amigos da vida, principalmente aqueles que contribuíram de perto para meu crescimento pessoal, por meio de longas conversas e desabafos, que me ajudaram a levantar nos tropeços, puxaram minha orelha quando necessário e também riram comigo muitas e muitas vezes.

Ao Paulo Vítor e Aristóteles pela companhia e risadas durante as viagens para as coletas das amostras.

Aos veterinários e colaboradores das granjas, que auxiliaram durante as coletas.

Aos suínos e à *Lawsonia* pela oportunidade de aprendizado e exercício da paciência e dedicação.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À Escola de Veterinária e a UFMG por me fornecerem a estrutura necessária para realização do Mestrado.

“Ninguém perde o que não possui e,  
em síntese,  
possuímos apenas o aprendizado conquistado.”  
**(Coragem para evoluir)**  
**Luciano Vicenzi**

## SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Etiologia	12
2.2 Caracterização da doença	13
2.3 Impacto econômico	15
2.4 Patogênese	15
2.5 Resposta imune	16
2.6 Fatores de risco	16
2.7 Diagnóstico	17
2.8 Prevalência	19
2.8.1 No mundo	19
2.8.2 No Brasil	19
2.8.3 Infecções mistas	20
2.9 Tratamento e controle	20
2.9.1 Soroperfis	20
2.9.2 Vacinação e antibioticoterapia	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Seleção dos rebanhos e coleta das amostras	22
3.2 Imunoperoxidase em monocamada de células (IPMC)	23
3.3 Análise estatística	24
4. RESULTADOS	24
4.1 Soroprevalência	26
4.2 Soroperfis	27
4.3 Fatores de risco associados a infecção por <i>L. intracellularis</i>	27
5. DISCUSSÃO	31
6. CONCLUSÃO	34
7. REFERÊNCIAS	34
8. ANEXO 1	38

---

## LISTA DE TABELAS

---

- Tabela 1: Distribuição do rebanho suíno mineiro em 2010 de acordo com o tamanho dos plantéis (adaptado de Garcia e Aguiar, 2010) e distribuição dos rebanhos amostrados de acordo com a mesorregião e o número de matrizes.....22
- Tabela 2: Número de rebanhos amostrados, soropositividade, soroprevalência, erro padrão e intervalos de confiança (IC) para para as quatro mesorregiões mineiras de maior produção suína tecnicada do estado e para o total de amostras. MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata; SSO-Sul/Sudoeste de Minas; TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.....26
- Tabelas 3-7: Prevalência, erro padrão e intervalo de confiança (IC) em cada categoria animal, para o total de amostras e para as quatro mesorregiões de maior produção tecnicada de suínos de Minas Gerais. Dentro de cada região, letras diferentes indicam diferença estatística entre as prevalências das categorias amostradas ( $p < 0,05$ ). MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata; SSO-Sul/Sudoeste de Minas; TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.....30
- Tabela 8: Comparação das soroprevalências por categoria, entre as mesorregiões. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre as prevalências das mesorregiões amostradas, ( $p < 0,05$ ). MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata; SSO-Sul/Sudoeste de Minas; TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.....31

---

## LISTA DE FIGURAS

---

- Figura 1 Suíno, intestino delgado, íleo. Macroscopia da forma crônica de infecção por *L. intracellularis*. Observa-se espessamento da mucosa intestinal com formação de membrana pseudo-diftérica aderida à mucosa. Fonte: Carlos E. Real Pereira.....13
- Figura 2 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: Roberto Guedes.....14
- Figura 3 Amostra de soro suíno positiva à detecção de anticorpos anti-*L. intracellularis*. Observa-se marcação imunofluorescente de células McCoy infectadas *in vitro* após a realização de IFA. (Microscópio de fluorescência, 40X). Fonte: Roberto Guedes.....18
- Figura 4 Amostra de soro suíno positiva à detecção de anticorpos anti-*L. intracellularis*. Observa-se morfologia bem definida de bactérias no citoplasma e entre células McCoy infectadas *in vitro* após a realização de IPMC. (Microscópio óptico, 40X). Fonte: Roberto Guedes.....18

Figura 5	Mapa de densidade de Kernel para distribuição das granjas suínas comerciais do estado de MG. Adaptado de Gonçalves et al., 2014 Distribuição geográfica dos municípios mineiros onde foram amostrados os rebanhos. Fonte: Google Maps.....	24
Figura 6	Distribuição geográfica dos municípios mineiros onde foram amostrados os rebanhos. Fonte: Google Maps.....	24
Figura 7	Soroprevalência a nível animal e erro padrão para anticorpos anti- <i>L. intracellularis</i> nas quatro mesorregiões de maior produção suína tecnificada de Minas Gerais. Não houve diferença estatística entre os resultados das mesorregiões. MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata .....	26
Figura 8	Soroperfis para anticorpos anti- <i>L. intracellularis</i> nas mesorregiões mineiras de maior produção tecnificada de suínos. As barras indicam o erro padrão das prevalências encontradas por categoria. MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata; SSO-Sul/Sudoeste de Minas; TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.....	28
Figura 9	Soroperfis para anticorpos anti- <i>L. intracellularis</i> nas quatro mesorregiões de maior produção suína tecnificada de Minas Gerais (superior) e para o total das amostras, por categoria (inferior). As barras indicam o erro padrão para a prevalência em cada categoria animal. MBH-Metropolitana de Belo Horizonte (vermelho); ZM-Zona da Mata (verde); SSO-Sul/Sudoeste de Minas (azul); TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba (cinza).....	29

---

## LISTA DE QUADROS

---

Quadro 1	Características de manejo e biossegurança levantadas por meio de questionário semiestruturado aplicado em cada rebanho amostrado para análise de relação com a soropositividade para anticorpos anti- <i>L. intracellularis</i> .....	25
----------	---	----

## RESUMO

*Lawsonia intracellularis* é o agente etiológico da enteropatia proliferativa, causadora de diarreia em diversas espécies animais entre as quais o suíno. Para determinar o perfil sorológico e a soroprevalência de anticorpos anti-*L. intracellularis* em rebanhos suínos de produção intensiva de Minas Gerais, foram escolhidas, por meio de amostragem em estágios múltiplos e seleção por conveniência, 30 rebanhos de ciclo completo de produção. Nesses rebanhos as amostras de sangue foram obtidas de animais de diferentes etapas do ciclo de produção, sendo coletadas 20 amostras em cada uma delas (maternidade, creche, recria, terminação e matrizes), sendo posteriormente analisadas pela imunoperoxidase em monocamadas de células. A prevalência geral em Minas Gerais foi 34,66% e não houve diferença estatística entre as mesorregiões amostradas, com soroprevalências variando entre 32,06% e 37,66%. Suínos de terminação foram os mais prevalentes dentre as categorias amostradas. Somente a frequência de introdução de animais na propriedade foi um fator de risco relacionado ao status de positividade dos rebanhos. Os anticorpos anti-*L. intracellularis* estavam presentes em todos os rebanhos investigados de Minas Gerais, indicando ampla circulação do agente no estado. O soroperfil predominante estava de acordo com a dinâmica da infecção previamente observada em rebanhos suínos de outros países.

**Palavras-chave:** enteropatia proliferativa, IPMC, diarreia, ileíte, sorologia, anticorpos, suínos

## ABSTRACT

*Lawsonia intracellularis* is the etiologic agent of proliferative enteropathy, which causes diarrhea in several animal species including swine. To determine the serological profile and the seroprevalence of anti-*L. intracellularis* antibodies in swine herds of intensive production of Minas Gerais, 30 farrow to finish herds were chosen by sampling in multiple stages and selection for convenience. In these herds 20 blood samples were obtained from animals of different stages of the production cycle (maternity, nursery, rearing, termination and arrays), and subsequently analyzed by immunoperoxidase in monolayer assay. The overall prevalence in Minas Gerais was 34.66% and there was no statistical difference among the sampled mesoregions, with seroprevalence rates ranging between 32.06% and 37.66%. Finishing pigs were the most prevalent among the sampled categories. Only the *frequency of animal introduction on the property* was a risk factor related to positive status of the herds. The anti-*L. intracellularis* antibodies were present in all investigated herds of Minas Gerais, indicating a spread of the agent in the state. The predominant seroprofile was in line with the dynamics of infection previously observed in pig herds in other countries with similar antibiotics use.

**Key words:** proliferative enteropathy; IPMA; diarrhea; serology; antibodies, pigs

## 1. INTRODUÇÃO

Minas Gerais tem se mantido como quarto maior produtor brasileiro de carne suína por muitos anos, parte em virtude de seus bons índices produtivos, decorrentes de status sanitário satisfatório, ainda que comparados a resultados de países desenvolvidos onde a suinocultura industrial é igualmente relevante (ABIPECS, 2012).

Ao contrário do que ocorre nos estados de maior produção suína do país, localizados na região Sul, os rebanhos mineiros são caracterizados por sua finalidade de produção e vínculo comercial: 74,4% das propriedades cadastradas no Instituto Mineiro de Agropecuária em 2010 eram de ciclo completo de produção e 80,2% de comercialização independente, isto é, sem vínculo a cooperativas ou a integrações de agroindústrias para venda dos cevados (Garcia e Aguiar, 2010).

Dentre as 12 mesorregiões classificadas de acordo com o IBGE (IBGE, 2010), as mesorregiões Metropolitana de Belo Horizonte (MBH), Zona da Mata (ZM), Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba (TAP) e Sul/Sudoeste de Minas (SSO) respondem juntas por cerca de 83% das matrizes suínas alojadas em propriedades tecnificadas do estado, sendo, portanto, as mesorregiões de maior relevância na produção suína tecnificada de Minas Gerais (Garcia e Aguiar, 2010) (Fig. 6).

Apesar de bastante competitivo no mercado de produção de carne suína, o Brasil, assim como outros países, arca com os impactos econômicos decorrentes de doenças infecciosas respiratórias e entéricas, que são os principais limitantes dos lucros e eficiência nessa cadeia de produção. O correto diagnóstico etiológico das afecções entéricas é fundamental para determinação do tratamento e controle das enfermidades, e, assim diminuição do impacto econômico delas decorrentes.

A Enteropatia Proliferativa é responsável por perdas econômicas significativas em sistemas tecnificados de produção suína, relacionadas ao aumento dos índices de mortalidade, uso de medicamentos e redução do ganho de peso médio dos animais, chegando a 20 milhões de dólares em perdas anuais nos EUA (McOrist, 2005). A doença afeta 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). Surtos recentes da doença em equinos têm sido descritos, demonstrando a importância desta enfermidade nessa espécie (Guimarães-Ladeira et al., 2009; Arroyo et al., 2013; Guttman et al., 2014). Apesar de haver diferenças nas apresentações clínicas e patológicas entre as espécies afetadas, as cepas são semelhantes entre si (Guedes e Gebhart, 2003b) e lesões hiperplásicas intestinais, decorrentes da proliferação de enterócitos, estão presentes em todos os casos de PE (Lawson e Gebhart, 2000).

A bactéria *Lawsonia intracellularis* é o agente primário da enteropatia proliferativa, caracterizada pela proliferação de enterócitos e espessamento da mucosa intestinal (Lawson et al., 1993; McOrist et al., 1995). A enteropatia proliferativa suína (EPS) pode causar enterite crônica, manifestada por diarreia e diminuição no ganho de peso em suínos de seis a 20 semanas de idade; enterite hemorrágica em animais em fase de terminação, com morte súbita (Lawson e Gebhart, 2000) ou ainda estar presente subclínicamente, por vezes associada a comprometimento no ganho de peso (Collins e Barchia, 2014).

O diagnóstico da EPS pode ser realizado pós-morte pela visualização das lesões intestinais, histopatologia e exames complementares (Boye et al., 1998; Guedes et al., 2002a; Guedes e Gebhart, 2003a) ou indiretamente antes da morte, por PCR das fezes ou pela detecção de anticorpos séricos (Guedes et al., 2002c). O cultivo *in vitro* do agente não é apropriado como método diagnóstico, por se tratar de um microrganismo fastidioso (Lawson et al., 1993). O teste sorológico é um método eficaz de indicação de exposição dos suínos ao agente quando são coletados números suficientes de amostras (Chouet et al., 2003). A imunoperoxidase em

monocamadas de células (IPMC) é um teste sorológico de alta especificidade e sensibilidade (100% e 89%, respectivamente) que pode ser utilizado para traçar o soroperfil da doença e, determinar o histórico de exposição dos animais ao enteropatógeno (Guedes et al., 2002b). Ao determinar a faixa etária em que ocorre o pico de soroconversão do rebanho é possível estimar a idade dos animais quando estão sendo infectados pela bactéria e recomendar o uso de antimicrobianos, de modo que os animais desenvolvam resposta imune ativa (França e Guedes, 2008) ou ainda a utilização da vacina no período de maior susceptibilidade da doença, evitando perdas econômicas com doenças clínicas (Walter et al., 2004).

Poucos estudos foram conduzidos no Brasil com objetivo de investigar a prevalência das enfermidades entéricas nos rebanhos (Ristow et al., 2001; Moreno et al., 2002; Guedes, 2008; Viott et al., 2013). O único estudo sorológico do país com foco na EPS contemplou amostras somente de suínos de terminação de rebanhos de Minas Gerais, utilizando-se do método de imunofluorescência indireta de anticorpos (Ristow et al., 2001). Apesar da EPS ser uma doença economicamente relevante e prevalente (McCorist, 2005), raros são os estudos que visam esclarecer os fatores de risco relacionados à positividade do rebanho à *L. intracellularis*.

O objetivo desse estudo foi, portanto, determinar a soroprevalência e o soroperfil predominante para *L. intracellularis* em granjas suínas do estado de Minas Gerais, bem como compará-los com relação à sua distribuição entre as principais regiões de produção tecnificada de suínos do estado e identificar fatores de risco relacionados à infecção por *L. intracellularis*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Etiologia

Em 1993, Lawson et al. isolaram uma bactéria intracelular obrigatória de intestinos de suínos afetados pela enteropatia proliferativa. A partir de seu cultivo *in vitro*, ela foi classificada como bacilo Gram negativo microaerófilo, móvel, de forma curva ou sigmoide, que se multiplica livremente no citoplasma de enterócitos. Essas características a diferenciavam de outras bactérias já descritas. Desta forma, McOrist et al. (1995), a partir do estudo de seu gene ribossomal 16S, morfologia, fenótipo, perfil eletroforético de proteínas e análise filogenética caracterizaram-na como um novo gênero e espécie de microrganismo, nomeando-a, a partir de então, de *L. intracellularis*.

*L. intracellularis* já foi detectada em diversas espécies, como: hamsters (Jonas et al., 1965), coelho (Umemura et al., 1982), equinos (Duhamel e Wheeldon, 1982), cães (Collins et al., 1983), avestruz (Cooper e Gebhart, 1998), gambás, coiotes, lebres (Pusterla et al., 2008), ratos, camundongos e ratazanas (Friedman et al., 2008). Apesar dos isolados apresentarem alta semelhança genética (Guedes e Gebhart, 2003b), a manifestação de sinais clínicos da patologia é variável entre esses animais (Lawson e Gebhart, 2000).

A susceptibilidade de uma determinada espécie hospedeira à infecção por *L. intracellularis* obtida de uma outra espécie afetada ainda é alvo de esclarecimentos. Vannucci et al. (2012) conduziram experimento no qual suínos e equinos foram divididos em grupos com inoculação de isolados obtidos de ambas as espécies. Suínos inoculados com cepa suína e equinos inoculados com cepa equina apresentaram sinais clínicos da doença, diminuição do ganho de peso e soroconversão, ao passo que os equinos inoculados com cepa suína e suínos inoculados com cepa equina não manifestaram sinais clínicos nem tiveram comprometimento do ganho de peso. A excreção da bactéria pelas fezes foi mais duradoura e em maior quantidade nas inoculações realizadas com cepas espécie específicas em comparação com os animais inoculados com as cepas de *L. intracellularis* provenientes de outra espécie, sugerindo certa espécie-especificidade entre bactéria e hospedeiro.

Em outro estudo (Sampieri et al., 2013), hamsters e coelhos foram testados como modelos experimentais para reprodução da EP de equinos e suínos, respectivamente. Os animais de laboratório testados não desenvolveram sinais clínicos da EP. Coelhos tiveram lesões macroscópicas discretas e hamsters não apresentaram nenhum tipo de lesão, embora ambas as espécies tenham sido positivas ao teste de imuno-histoquímica. Com isso, concluiu-se que as cepas de *L. intracellularis* demonstraram ter especificidade de hospedeiro e que hamsters não servem de modelo experimental para a EP equina assim como coelhos não são bons modelos para reprodução da EP suína.

Vannucci et al. (2013a) identificaram a presença um prófago em cepa de baixa passagem (10ª passagem) de *L. intracellularis* cultivada *in vitro*, e sua ausência em cepas atenuadas não patogênicas, bem como em bactérias excretadas por outras espécies como equinos e coelhos, o que pode contribuir, segundo estes autores, para a especificidade da colonização deste microrganismo em hospedeiros da espécie suína.

## 2.2 Caracterização da doença

A EPS pode apresentar diferentes manifestações clínicas e patológicas (Lawson e Gebhart, 2000; Kröll et al., 2005). Suínos jovens (com idade entre seis e 20 semanas), que já tenham sido desmamados, tendem a manifestar anorexia, diarreia e diminuição no ganho de peso, caracterizando a forma crônica denominada de adenomatose intestinal suína (Lawson e Gebhart, 2000). Suas lesões macroscópicas caracterizam-se por espessamento difuso ou multifocal da mucosa terminal do íleo e, em alguns casos, no jejuno, ceco e cólon (Fig. 1). Microscopicamente, células epiteliais imaturas proliferam-se intensamente (hiperplasia de enterócitos), não se diferenciam e, por conseguinte, há intensa diminuição das células caliciformes (Smith e Lawson, 2001).

Animais de engorda e reposição tendem a apresentar a forma hemorrágica, caracterizada por alta mortalidade e morbidade. Essa forma aguda caracteriza-se macroscopicamente por edema



Figura 1: Suíno, intestino delgado, íleo. Macroscopia da forma crônica de infecção por *Lawsonia intracellularis*. Observa-se espessamento da mucosa intestinal com formação de membrana pseudo-diftérica aderida à mucosa. Fonte: Carlos E. Real Pereira.

de mesentério e espessamento da mucosa intestinal, podendo haver conteúdo hemorrágico no lúmen do órgão, associado a uma membrana fibrinosa aderida à mucosa (Love e Love, 1979; Lawson e Gebhart, 2000) (Fig. 2). Microscopicamente, as lesões se assemelham às da forma crônica (Smith e Lawson, 2001; MacIntyre et al., 2003).

Na maioria dos rebanhos a EPS crônica ou subclínica tende a ocorrer após a queda dos anticorpos maternos (Guedes et al., 2002b), fato este que ocorre quando os animais estão com cerca de quatro a cinco semanas de idade (Quesnel et al., 2012). Esse período de maior susceptibilidade ocorre simultaneamente à mistura dos lotes, quando os animais são encaminhados à creche. A infecção então ocorre pós desmame, alcança níveis máximos na fase de engorda e, posteriormente, declina em animais que se mantêm no rebanho para reprodução, como as marrãs (McOrist, 2005b). Suínos mantidos totalmente sem contato com a bactéria não desenvolvem imunidade ativa e assim, estão mais susceptíveis a forma aguda da doença, observada com maior frequência em animais com idade superior a 12 semanas, inclusive naqueles em fase reprodutiva (McOrist, 2005a). Como o período de incubação da doença é de duas a três semanas, o número de animais infectados aumenta lentamente e assim, pode ocorrer um surto da doença em cerca de um mês após acometimento do primeiro animal no rebanho (McOrist, 2005b).

De acordo com Pedersen et al. (2012), a quantidade de *L. intracellularis* eliminada pelas fezes de animais diarreicos, naturalmente infectados, está relacionada a gravidade de lesões histopatológicas da EPS, sugerindo que a monitoria da excreção da bactéria nas fezes pode ser uma ferramenta de verificação do efeito de tratamentos ou para determinação do prognóstico.

O estabelecimento da EPS pode ocorrer de forma lenta ou rápida. Existe variação na duração dos sinais clínicos entre diferentes granjas ou dentro de um mesmo rebanho, nos diferentes estágios do ciclo de produção ou até mesmo entre baias ou galpões, o que pode interferir na eficiência dos tratamentos utilizados (McOrist, 2005a).



Figura 2: 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.

### 2.3 Impacto econômico

A importância econômica da EPS varia entre diferentes países (Guedes, 2008) e as perdas econômicas estão relacionadas à mortalidade de animais afetados com a forma aguda, ao aumento do uso de antimicrobianos (Guedes, 2004), a perda de qualidade das carcaças comercializadas e de desempenho de animais com doença clínica e subclínica (McOrist et al., 1997). Adequação da dieta, uso de desinfetantes efetivos contra *L. intracellularis* e vacinação podem ser alternativas utilizadas para reduzir a bactéria no rebanho, evitando o uso contínuo de antimicrobianos e, assim, diminuindo os gastos (Kroll et al., 2005).

Na Austrália, os custos associados com a forma não hemorrágica foram estimados entre U\$15 australianos por matriz/ano e U\$ 141 australianos por matriz/ano para forma hemorrágica, dependendo da severidade clínica da doença, da incidência da infecção e do tipo de estratégia de medicamentos utilizada para tratá-la e controlá-la (Holyoake et al., 1996). Já na Ásia, estima-se que as perdas totais causadas pela EPS endêmica podem alcançar U\$ 1,00 americano por cada animal de recria ou terminação afetado (McOrist, 2005).

O desempenho de animais não vacinados em rebanho positivo para o enteropatógeno na Coreia do Sul foi significativamente menor do que de animais que receberam a imunização. Estima-se que o programa de vacinação traga benefício de U\$4,8 por carcaça ao abate (Park et al., 2013). Neste trabalho, a forma clínica da doença não foi diagnosticada, mas ambos os grupos controle (não vacinado) e vacinado soroconverteram, fato este que reforça que o impacto econômico pode estar relacionado ao comprometimento do ganho de peso de animais subclínicamente afetados.

Não existe estudo no Brasil que mensure o impacto econômico da EPS na produção suína nacional.

### 2.4 Patogênese

A transmissão da EPS ocorre por ingestão de material fecal contaminado (Cooper e Gebhart, 1998), mas a dose mínima infectante ainda não foi definitivamente determinada (Guedes, 2008). Collins et al. (2001) conduziram estudo em que animais foram inoculados com diferentes concentrações de *L. intracellularis*, encontrando a bactéria em fezes de animais inoculados com dose mínima a partir de  $2 \times 10^3$  *L. intracellularis* por animal. A eliminação de *L. intracellularis* pelas fezes em suínos desafiados experimentalmente inicia-se entre duas e três semanas após inoculação do agente, com pico de eliminação após duas semanas e bactérias detectáveis nas fezes por até 12 semanas (Guedes e Gebhart, 2003a), sendo que cada animal pode eliminar cerca de  $10^8$  organismos de *L. intracellularis* por grama de fezes (Smith e McOrist, 1997). A bactéria pode sobreviver até duas semanas em temperatura ambiente (Collins et al., 2000). Desse modo, pode-se observar que *L. intracellularis* é eliminada em quantidades superiores àquelas necessárias para causar a infecção, além de persistir no ambiente por período por até duas semanas (Collins et al., 2000; Lawson e Gebhart, 2000; Viott, 2013a).

Cerca de uma hora após a infecção já é possível encontrar bactérias aderidas às microvilosidades intestinais (Boutrup et al., 2010a). Bactérias puderam ser identificadas em ambiente intracelular e lâmina própria em 12 horas pós-inoculação experimental (Boutrup et al., 2010b). Após esse período as bactérias são encontradas nos enterócitos de criptas intestinais onde se multiplicam, rompem as células e tornam-se aptas a infectar novas células ou podem ser eliminadas novamente pelas fezes (Cooper e Gebhart, 1998; McIntyre, 2003; McOrist, 2005b). Uma vez infectados, os suínos tendem a se tornarem resistentes à reinfeção e não mais excretam bactéria nas fezes (Riber et al., 2015).

Estudos recentes apontam alteração na expressão genética dos enterócitos infectados, relacionadas a fase G1 do ciclo celular que regula a diferenciação e maturação destas células (Vannucci et al., 2013b), o que pode explicar sua proliferação nas criptas intestinais.

Diversas espécies de animais já foram diagnosticadas como portadores e disseminadores de *L. intracellularis* nas fezes, mas nem todas tiveram associação com a ocorrência de lesões da EPS (Lawson e Gebhart, 2000). Roedores que vivem nas proximidades das granjas talvez sejam disseminadores da bactéria entre propriedades e dentro de um mesmo rebanho (Collins, 2001; Friedman et al., 2008). Viott et al. (2013b) revelaram que pardais não são susceptíveis a infecção, nem eliminam *L. intracellularis* nas fezes, ao contrário de diferentes linhagens de camundongos desafiadas no mesmo estudo.

Não há relatos de estudos de detecção de DNA de *L. intracellularis* em fômites como botas ou roupas, entretanto não se pode inferir que essa não possa ser uma via de disseminação do agente (Guedes, 2008).

## 2.5 Resposta imune

Devido à natureza intracelular da *L. intracellularis* (Lawson et al., 1993), resposta imune humoral não está diretamente envolvida na proteção contra a EPS. É esperado que ocorra uma resposta imune celular importante do hospedeiro frente a infecção, principalmente relacionada a produção de interferon gama (Abbas et al., 2007)

A resposta imune contra a infecção por *L. intracellularis* pode ser detectada a partir de 14 dias pós-inoculação experimental dos suínos, através da presença de Imunoglobulinas (Ig) G séricas, que têm pico de produção na terceira semana (Riber et al., 2015). Em rebanhos que passaram por surto de doença hemorrágica, a detecção de IgG pode persistir por até três meses (Guedes e Gebhart, 2003a).

A produção de IgA, relacionada a proteção humoral das mucosas, pode ser detectada aos 22 dias pós inoculação com títulos entre 1:4 a 1:64 em lavados intestinais de animais experimentalmente inoculados (Guedes e Gebhart, 2010) e não sofrem efeito “boosting” após reinoculação de suínos com cultura pura de *L. intracellularis* (Cordes et al., 2012). Conteúdo fecal do íleo e amostras de fezes também mostraram-se positivos para IgA, mas com irregularidade de detecção no período pós desafio (Cordes et al., 2012).

A resposta celular, detectada através da produção de interferon gama, foi detectada após estimulação *in vitro* com antígenos de *L. intracellularis*, entre 11 (Riber et al., 2015) e 14 (Guedes e Gebhart, 2010) dias pós-inoculação, com pico de produção entre nove e dez semanas pós inoculação e aumento de detecção em animais reinoculados (Cordes et al., 2012). Linfócitos CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> produtores de interferon gama foram apontados como as células responsáveis pela produção desta citocina nos suínos experimentalmente inoculados (Cordes et al., 2012).

Existem poucos relatos na literatura relacionados ao papel da imunidade passiva colostrar na dinâmica de infecção da doença nos rebanhos e no início da susceptibilidade dos leitões à infecção por *L. intracellularis*. Barna e Bilkei (2003), após a inoculação com cultura pura de *L. intracellularis* em leitões lactentes de 21 dias, observaram que as leitegadas de mães soropositivas apresentam menores títulos de IgG (1:30 a 1:60) duas semanas pós inoculação, bem como menor número de animais soropositivos até 17<sup>a</sup> semana de vida (14 semanas pós inoculação), momento no qual todos os leitões já eram soronegativos ao teste de IFA. Em contrapartida, leitões provenientes de fêmeas primíparas soronegativas, apresentaram altos títulos de IgG pós inoculação (1:30 a 1:480), sendo detectados animais soropositivos até a 26<sup>a</sup> semana de idade. Os autores sugerem que os anticorpos maternos influenciam na resposta imune ativa do suíno lactente, proporcionando proteção parcial contra infecção por *L. intracellularis*.

## 2.6 Fatores de risco

Inúmeros elementos podem contribuir para prevalência de *L. intracellularis* em rebanhos de suínos, entre eles: idade, nutrição, status sanitário, manejo e tipo de sistema produtivo (Kroll et al., 2005).

Nos EUA, Bane et al. (2001) delinearum um estudo para determinar as características de rebanhos com surtos de EPS, no qual relataram a ocorrência da doença em 30 rebanhos de 11 estados do meio oeste do país. Dentre os rebanhos, 19 apresentaram ocorrência de adenomatose intestinal e seis de enteropatia proliferativa hemorrágica. Surtos da forma hemorrágica foram mais longos e com menor morbidade. Com relação aos fatores de risco associados, detectou-se que construções antigas (com mais do que 12 anos), pisos de concreto e mistura de lotes apresentam-se como elementos predisponentes para ocorrência da doença nos rebanhos.

Em três províncias do Canadá, a soroprevalência de *L. intracellularis* variou conforme sistema de criação (reprodução, engorda ou ciclo completo). A soroprevalência em nível de rebanho foi alta nas três províncias, bem como para resultados individuais dos animais. Contudo, em dois rebanhos, com sítios separados e manejo “todos dentro, todos fora”, houve baixa soroprevalência de anticorpos contra a bactéria (Paradis et al., 2007).

O uso de sistema “todos dentro, todos fora” e separação de matrizes mais velhas das marrãs são estratégias que podem diminuir o risco de transmissão da EPS. Sistemas de criação em fluxo contínuo na maternidade, grande número de múltiparas e grande número de animais alojados na fase de recria e terminação foram fatores associados a maiores taxas de soropositividade em rebanhos dos Estados Unidos e Canadá (Bronsvort et al., 2001; Paradis et al., 2007). Propriedades canadenses com ciclo completo de criação e que usam antibióticos rotineiramente na ração foram mais susceptíveis à contaminação do rebanho, ao passo que propriedades que adotam técnicas de manejo, como lavar ou lavar e desinfetar as baias, reduzem os níveis de exposição dos animais a *L. intracellularis* (Corzo et al., 2005). Granjas que adotam o sistema semi-intensivo na engorda de seus cevados, em comparação àquelas que utilizam de sistema confinado em piso de concreto, tendem a ter menor prevalência da bactéria em seu rebanho (Bronsvort et al., 2001; Corzo et al., 2005).

## 2.7 Diagnóstico

As técnicas de diagnóstico *post mortem* compreendem a visualização das lesões intestinais e histopatologia, a qual é imprescindível para a confirmação do resultado (Guedes et al., 2002a). Exames complementares possibilitam a visualização do agente, como a imunohistoquímica (IHQ), impregnação pela prata (Guedes e Gebhart, 2003a) e hibridização fluorescente *in situ* (Boye et al., 1998).

A exposição a *L. intracellularis* pode ser detectada também *ante-mortem*, por sorologia e PCR de fezes, sendo que cada método avalia a doença sob diferentes aspectos (Guedes, 2002b). A PCR é capaz de apontar os animais eliminadores de bactéria e com infecção ativa, enquanto a sorologia é uma ferramenta utilizada para traçar o soroperfil da doença em uma região ou dentro do rebanho e determinar histórico de exposição dos animais ao enteropatógeno (Guedes, 2004). É relevante destacar que a infecção por *L. intracellularis* pode estar presente subclínicamente (Collins e Barchia, 2014) e, nesse caso, a detecção de anticorpos contra a bactéria é uma forma de se reconhecer a sua presença (Barcellos et al., 2009).

Existem 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 (IPMC) e teste de ELISA (ELISA de bloqueio, Enterisol Eleitis, BioScreen, Germany). O teste de ELISA é produzido na Alemanha, tem custo elevado e é de difícil importação. Apesar da IPMC requerer cultivo da *L. intracellularis* em microplacas, que é um procedimento laborioso (Lawson et al., 2003), quando comparada à IFA se sobressai, pois dispensa o uso de um microscópio de imunofluorescência, a coloração gerada pela reação positiva é estável por vários meses e é de interpretação menos subjetiva (Guedes, 2002a) (Fig. 3 e 4).

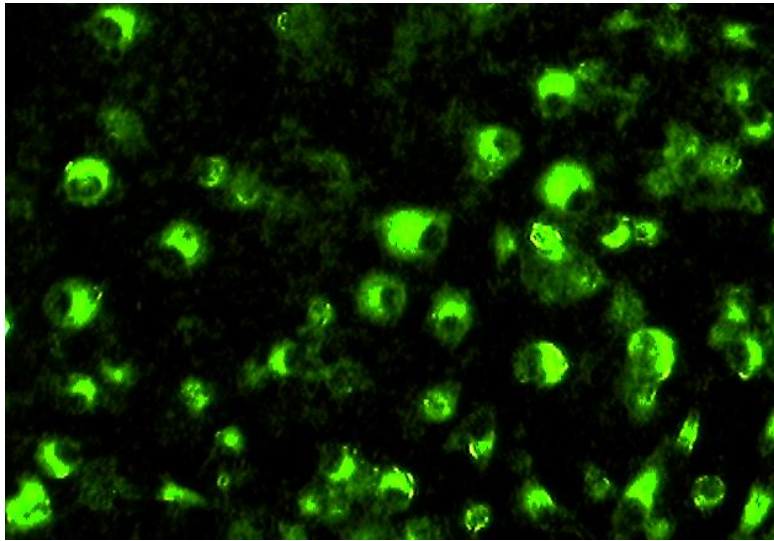


Figura 3: Amostra de soro suíno positiva à detecção de anticorpos anti-*L. intracellularis*. Observa-se marcação imunofluorescente de células McCoy infectadas *in vitro* após a realização de IFI. (Microscópio de fluorescência, 40X). Fonte: Roberto Guedes.

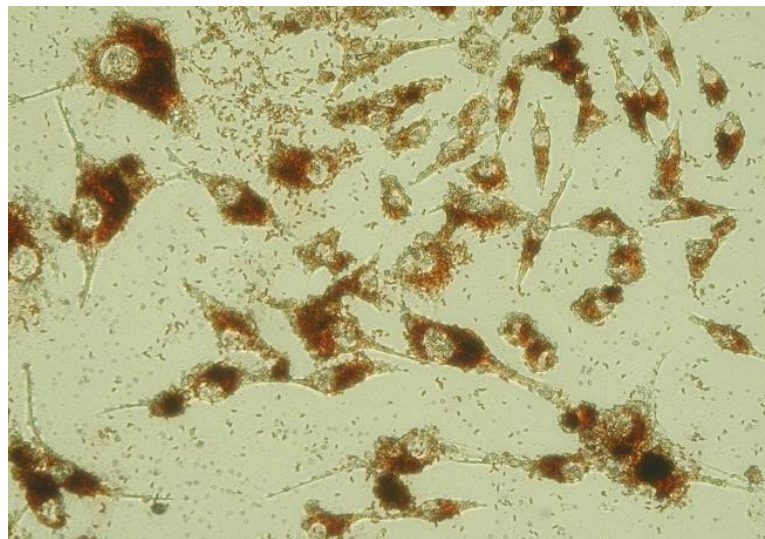


Figura 4: Amostra de soro suíno positiva à detecção de anticorpos anti-*L. intracellularis*. Observa-se morfologia bem definida de bactérias no citoplasma e entre células McCoy infectadas *in vitro* após a realização de IPMC. (Microscópio óptico, 40X). Fonte: Roberto Guedes.

## 2.8 Prevalência

### 2.8.1 No mundo

A presença da EP em rebanhos suínos varia de acordo com diferentes países e regiões. Pesquisa realizada na Dinamarca em amostras de fezes de suínos encontrou 93,7% de rebanhos positivos para *L. intracellularis* (74/79), e nestes rebanhos geralmente havia grande número de animais infectados. Associação entre *L. intracellularis* e *Brachyspira hyodysenteriae* foi detectada em 30% dos rebanhos analisados e 25% tiveram *L. intracellularis* como único patógeno entérico presente (Stege et al., 2000).

Estudo efetuado na Alemanha (Wendt et al., 2004) detectou anticorpos anti-*L. intracellularis* via IFA em 33,7% dos rebanhos analisados (403/826) e 42,3% de prevalência em 2834 amostras de 280 rebanhos, comprovando elevada prevalência da infecção por esse agente no país. Neste mesmo estudo, encontrou-se maior prevalência de anticorpos contra o patógeno em soros de marrãs e matrizes (71,8% e 74,4%, respectivamente), seguida de animais em terminação (60,4%). Na Rússia 86,5% das propriedades foram positivas para presença dos anticorpos contra a bactéria (Kukushkin e Okovyta, 2012).

Na Ásia, estima-se que todos os rebanhos da Coreia do Sul, Malásia e Tailândia apresentem o agente, variando apenas a soroprevalência entre eles (McOrist, 2005). No Japão, cerca de 94% dos rebanhos são positivos (McOrist, 2005) e na China a soroprevalência é de 57% (Wu et al., 2014). Na Austrália a prevalência de rebanhos chega a 100% e a nível animal a média foi de 84,2% (Holyoake et al., 2010).

Em Alberta, Canadá, a EPS foi a segunda doença entérica mais diagnosticada entre 1993 e 1997, ficando atrás de infecção por cepa patogênica de *Escherichia coli* (Wilson et al., 2002). Paradis et al. (2007), através de 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, esse resultado foi de 87,5% em granjas com ciclo completo e 95,5% em propriedades terminadoras. Em Quebec, 100% dos rebanhos apresentaram-se positivos.

Nos EUA, 48,9% de unidades reprodutivas de 184 rebanhos foram soropositivos para *L. intracellularis*, enquanto unidades de recria e terminação apresentaram 66,9% de soropositividade, com testes diagnósticos realizados por IFA (Bronsvort et al., 2001). Diferentemente, Marsteller et al. (2003) encontraram 75% de prevalência em rebanhos de terminação e 78% em rebanhos de reprodução, por meio de teste de IPMC.

### 2.8.2 No Brasil

Poucos estudos foram conduzidos no Brasil com objetivo de investigar a prevalência das doenças nos rebanhos (Guedes, 2008). Em levantamento sorológico da EPS suína 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. Foram encontrados 530 animais positivos, distribuídos em 105 das 109 granjas amostradas (96,33%). As amostras foram analisadas por IFA (Ristow et al., 2001).

Viott et al. (2013a) realizaram levantamento de prevalência de doenças entéricas em Minas Gerais, utilizando diferentes técnicas. Dentre os 46 rebanhos incorporados no estudo, *L. intracellularis* foi o único enteropatógeno detectado em 19,56% dos rebanhos e estava associada, em proporções variadas, a outros enteropatógenos, totalizando 50% das granjas positivas para este agente isoladamente ou em associação, utilizando PCR em amostras de fezes.

Moreno et al. (1999) encontraram 40,5% de rebanhos positivos e 15% de prevalência no rebanho de um total de 148 granjas e 971 amostras de fezes de suínos submetidas à PCR. Animais com mais de 180 dias de idade foram os apresentaram maior positividade (41%). Em estudo posterior, Moreno et al. (2002) encontraram 30% de rebanhos positivos, por meio de PCR de

fezes provenientes de São Paulo, Santa Catarina, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Goiás, Rio de Janeiro, Pernambuco, Ceará e Distrito Federal. Foram analisadas 1215 amostras de 207 rebanhos, agrupadas de acordo com a idade dos animais. Animais com mais de 180 dias de idade também se mostraram mais infectados, com 45,4% de positividade.

Estudo conduzido por Faccini et al. (2005) no Rio Grande do Sul mostrou prevalência de 3% da doença dentre 663 fragmentos intestinais suínos abatidos com aproximadamente 150 dias e clinicamente saudáveis, avaliados pelas técnicas de histologia e imunohistoquímica. Os autores consideraram que a baixa prevalência encontrada pode estar relacionada com a resolução prévia da doença nestes animais, ou ao tempo entre a infecção e o aparecimento dos sinais clínicos.

De um total de 735 amostras coletadas de suínos abatidos no estado de Mato Grosso, entre 2006 e 2007, provenientes de 14 rebanhos de 11 municípios, 16,87% apresentaram lesões compatíveis com a EPS, mas somente três apresentaram marcação positiva à IHQ. A baixa prevalência encontrada, segundo os autores, pode ser explicada pelas características da suinocultura industrial do estado, uma vez que há pouco contato entre as granjas, baixa taxa de introdução de animais reprodução nos rebanhos, resultando numa melhor condição sanitária, e assim, baixa circulação do agente (Alberton et al., 2011).

Exceto o estudo de Ristow e colaboradores (2010), o objetivo de todos os outros estudos citados foi a detecção de *L. intracellularis* nas fezes, que só resulta em positividade no período de duas a seis semanas após a infecção em animais naturalmente infectados. Em contrapartida, a sorologia oferece maior intervalo de detecção dos anticorpos, pois estes podem ser encontrados entre duas semanas até quatro meses após a exposição dos animais à bactéria (Guedes e Gebhart, 2002; Guedes e Gebhart, 2003b; Stege et al., 2004). A realização da sorologia, portanto, implica em maiores chances de se detectar a exposição dos animais ao microrganismo, e, assim, de se assegurar de que o rebanho é, ou não, positivo para o agente.

### 2.8.3 Infecções mistas

*L. intracellularis* foi detectada também em associação a outros microrganismos enteropatogênicos no Brasil. Baccaro et al. (2003) encontraram esta bactéria de forma isolada em 13% de 541 amostras de fezes analisadas pela PCR; em associação com *Brachyspira pilosicoli* em 3% das amostras; com *Salmonella* em 1% e com *Salmonella* e *B. pilosicoli*, simultaneamente, em 0,4% das amostras. Viott et al. (2013a) encontraram infecções mistas de *L. intracellularis* em Minas Gerais: 10,87% de casos associada à *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium, 6,52% com *E. coli* e 2,18% com *B. pilosicoli*. A prevalência de rebanhos com infecções mistas de *L. intracellularis*, *S. Typhimurium* e *E. coli* simultaneamente foi de 8,69% e de *L. intracellularis*, *B. Pilosicoli* e *S. Typhimurium* foi de 2,18%.

Na Suécia, *L. intracellularis* foi detectada simultaneamente com *B. pilosicoli* em 10% de um total de 699 amostras de fezes analisadas por PCR (Löfstedt et al., 2004).

## 2.9 Tratamento e controle

### 2.9.1 Soroperfis

As técnicas sorológicas para detecção de imunoglobulinas específicas produzidas pelo hospedeiro frente a uma infecção, bacteriana ou viral, são comumente utilizadas na suinocultura (Barcellos et al., 2009). Com a evolução do quadro, o agente tende a não ser mais detectado e por isso, a presença dessas proteínas é o diagnóstico indireto de que aquele animal esteve exposto a determinado patógeno (Guedes, 2002b; Barcellos et al., 2009). No caso da infecção por *L. intracellularis*, anticorpos IgG são detectáveis entre 14 dias e três meses após infecção (Guedes e Gebhart, 2002) e a eliminação bacteriana pelas fezes ocorre sete dias e 12 dias após a inoculação

experimental de suínos susceptíveis, entretanto, com grande intermitência na identificação de animais positivos (Guedes e Gebhart, 2003).

A coleta de amostras séricas de animais de diferentes fases do ciclo produtivo (amostragem estratificada) nas granjas suinícolas com posterior detecção de IgG por métodos sorológicos é utilizada para compor os soroperfis para determinada enfermidade. Através dessa metodologia pode-se entender a dinâmica da infecção da doença no rebanho, de acordo com o fluxo dos suínos nos estágios da produção (Barcellos et al., 2009). Com esses dados é possível verificar quando ocorre a queda dos anticorpos colostrais, se há exposição dos suínos ao agente, qual é a fase de maior susceptibilidade à infecção e, a partir do conhecimento prévio da resposta imune gerada pela infecção, inferir o momento em que os animais são infectados. Essas informações epidemiológicas são imprescindíveis para o sucesso dos programas de tratamento e controle a serem adotados na propriedade.

### **2.9.2 Vacinação e antibioticoterapia**

O controle da EPS em rebanhos suínos tem sido feito através de vacinação ou antibioticoterapia preventiva. A vacina comercial disponível no mercado (Enterisol®, Boehringer Ingelheim) é composta cepa de *L. intracellularis* atenuada e deve ser administrada via água de consumo ou via oral. A empresa fabricante preconiza a vacinação de animais com idade superior a três semanas, associada a interrupção do fornecimento de antimicrobianos por três dias antes e três dias após sua administração. Sua aplicação nos suínos confere tanto a produção de Ig G quanto de interferon gama (Riber et al., 2015), mas a resposta variável no ganho de peso dos animais é variável (Riber et al., 2014; Park et al., 2013).

Idealmente, a vacina deve ser administrada quando a proporção de animais com imunidade materna residual se aproxima de 0%, enquanto a proporção de animais já infectados naturalmente é praticamente nula. Os suínos devem ser vacinados 3 a 4 semanas 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). A revacinação dos suínos é desnecessária já que cepa bacteriana que compõe a vacina viva atenuada é capaz mimetizar a infecção por cepa patogênica, induzir a instalação de resposta imune humoral e celular, fazendo com que os animais vacinados se tornam resistentes a uma reinfeção, semelhantemente ao que ocorre com os animais naturalmente infectados pela cepa patogênica (Riber et al., 2015).

A administração de antimicrobianos deve ser programada a partir dos dados fornecidos pelos soroperfis. Os antimicrobianos são fornecidos no período em que os animais se infectam, seguidos de períodos sem medicação (janelas de exposição) ou de fornecimento de antibióticos em concentrações de promotores de crescimento. Esse protocolo proporciona exposição direta ao agente e, conseqüentemente, desenvolvimento de resposta imune protetora, sem que haja manifestação de doença clínica (França e Guedes, 2008; Guedes, 2008)

Tanto as cepas norte americanas quanto as europeias de *L. intracellularis* mostraram-se mais sensíveis a carbadox, tiamulina e valnemulina (Wattanaphansak et al., 2009). Tiamulina tem sido utilizada com sucesso desde a década de 1990 (McOrist et al., 1997). No Brasil, leucomicina administrada via ração por 14 dias consecutivos, com 90 a 180 p.p.m., 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).

Amônia quaternária combinada com aldeídos, agentes oxidantes ou peroximonossulfato de potássio (Wattanaphansak et al., 2009; Collins et al., 2013) associados a lavagem sobre pressão (Corzo et al., 2005) são eficientes para inativação da bactéria no ambiente.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Seleção dos rebanhos e coleta das amostras

As amostras para este estudo transversal foram obtidas, entre maio e agosto de 2012, de rebanhos suínos comerciais localizados nas quatro principais mesorregiões de produção suinícola tecnificada do Estado de Minas Gerais: Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba (TAP) concentrando 39,3% das matrizes do estado e 377 rebanhos, Zona da Mata (ZM) com 24,7% de matrizes e 235 rebanhos, região Metropolitana de Belo Horizonte (MBH) com 11,6% de matrizes e 194 rebanhos e Sul/Sudoeste (SSO) com 7% de matrizes e 242 rebanhos. Juntas, essas mesorregiões alojavam, em 2010, 82,6% das matrizes existentes no estado (Garcia e Aguiar, 2010).

A seleção de rebanhos e animais foi feita pelo método de amostragem em estágios múltiplos, no qual geralmente são utilizadas listas de cadastros das propriedades (Dohoo et al., 2003), a partir de onde ocorre seleção em estágios sucessivos. O cadastro de granjas no Instituto Mineiro Agropecuária até o ano de 2010 foi adotado para seleção dos rebanhos (unidades primárias). Foi utilizada a amostragem estratificada proporcional para calcular o número de granjas dentro de cada mesorregião, uma vez que a distribuição de granjas e de matrizes não é uniforme no estado (Garcia e Aguiar, 2010) (tab.1) e de modo que cada repetição tivesse peso máximo de 3,33% na amostra (Sampaio, 2010), em virtude de a resposta ser expressa em percentual. Esse processo resultou em um número de oito granjas amostradas na região ZM, nove na região SSO, sete granjas na região MBH e seis na TAP, totalizando 30 granjas. Esses rebanhos foram selecionados de acordo com indicação de profissionais da Medicina Veterinária em cada mesorregião (seleção por conveniência) e todos possuíam mais de 100 matrizes alojadas, com variação de 160 a 1950 matrizes, sendo, portanto, pertencentes aos estratos D e E propostos por Garcia e Aguiar (2010).

Tabela 1: Distribuição do rebanho suíno mineiro em 2010 de acordo com o tamanho dos plantéis (adaptado de Garcia e Aguiar, 2010) e distribuição dos rebanhos amostrados de acordo com a mesorregião e o número de matrizes.

Estratos (nº de matrizes)	Granjas (nº)	Matrizes (%)	Matrizes por mesorregião (nº)				Rebanhos amostrados por mesorregião (nº)			
			MBH	ZM	SSO	TAP	MBH	ZM	SSO	TAP
A (1-25)	472	2,1	703	649	1298	934	-	-	-	-
B (26-500)	171	2,6	1032	1249	1620	933	-	-	-	-
C (51-100)	143	4,5	2015	2471	2528	1052	-	-	-	-
D (101-500)	201	21,0	11704	15282	6198	7049	6	2	7	1
E (>501)	114	69,8	12740	40479	4774	85538	1	6	2	5
Total	256		29324	221000	64188	95506	7	8	9	6

Para a amostragem dos animais (unidades secundárias), amostras de soro de 20 animais de cada categoria do ciclo de produção (porcas- maternidade e gestação, leitões de maternidade- 15 a 22 dias de idade, creche- 22 a 60 dias de idade, recria- 60 a 110 dias de idade e terminação- 110 a 150-160 dias de idade) foram coletadas, considerando-se 15 a 20 % de prevalência esperada da doença e intervalo de confiança de 95% (Straw et al., 1999).

Amostras de sangue coletadas por punção de veia jugular foram devidamente identificadas, mantidas sobre refrigeração até serem dessoradas por coagulação natural/centrifugação, e armazenadas a -20°C até a realização do teste.

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).

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais.

### **3.2 Imunoperoxidase em monocamada de células (IPMC)**

Amostras de soro foram testadas para anticorpos (IgG) anti-*L. intracellularis* por meio de imunoperoxidase em monocamada de células (IPMC) em placas, conforme descrito por Guedes et al. (2002c).

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 ( $5 \times 10^3$  células/mL), as quais foram mantidas em crescimento por 24 horas em estufa com atmosfera de CO<sub>2</sub>, 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, 2003a) 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 O<sub>2</sub>, 8,8% de CO<sub>2</sub> e 83,2% N<sub>2</sub> 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.

O teste sorológico IPMC foi feita conforme (Guedes et al., 2002c), descrito a seguir. Cada placa produzida e armazenada em freezer foi reidratada com 100 microlitros de água destilada por 10 minutos em câmara úmida a 37°C. Após essa incubação a água foi então descartada. A amostra de soro a ser testada, diluída 1:30 em PBS (phosphate buffered saline, pH 7,2), foi adicionada em cada poço no volume de 50 microlitros. 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 microlitros por poço, e incubado durante 45 minutos à 37°C, em câmara úmida e escura. Após outra lavagem com PBS, 100 microlitros 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 negativa, proveniente de rebanho sem histórico recente da enfermidade. Esses controles foram utilizados como referência para avaliação do resultado das amostras investigadas. A leitura dos resultados foi feita por profissional experiente e foi considerada positiva se, à observação em microscópio invertido, fossem encontradas bactérias marcadas no citoplasma e extracelularmente à cultura de células. Apesar da sensibilidade e especificidade do teste serem altas (89% e 100%, respectivamente) (Guedes e et al., 2002a), amostras que apresentaram marcação inespecífica foram redirecionadas à realização de novos testes, até que seu resultado fosse considerado válido. Para que um rebanho fosse considerado positivo, pelo menos uma amostra deveria ser positiva.



O uso de antimicrobianos era difusamente empregado: somente três dentre as 30 propriedades amostradas relataram usá-los estritamente para fins terapêuticos. As outras 27 granjas utilizavam esses medicamentos tanto para tratamento de enfermidades como para promoção de crescimento e/ou prevenção de doenças.

Na rotina de manejo das propriedades, o sistema “todos dentro-todos fora” não era adotado em dois rebanhos e, dentre os demais, em 20 granjas este era realizado com intervalo de vazio sanitário entre um a 12 dias. Oito questionários não tiveram essa pergunta respondida.

Uniforme de trabalho era fornecido em todas as nove propriedades que instruíam os funcionários a tomarem banho antes da entrada na granja e em outras 10 forneciam o uniforme, mas sem a exigência deste tipo higienização previamente à jornada de trabalho.

Quadro 1: Características de manejo e biossegurança selecionadas a partir de questionário semiestruturado aplicado em cada rebanho amostrado para análise da relação com a soropositividade para anticorpos anti-*L. intracellularis*.

I.	Presença de quarentena
II.	Presença de rodolúvio
III.	Presença de Lâmina d'água (recria e/ou terminação)
IV.	Reposição do plantel com animais de outras granjas
V.	Frequência de introdução de animais de outras granjas
VI.	Assistência à primeira mamada
VII.	Leitão é colocado para mamar na primeira hora de vida
VIII.	Separação de leitegada em lotes para turnos de amamentação
IX.	Utilização de sucedâneo
X.	Banco de leite/coloostro
XI.	Tipo de desmama (normal ou segregada)
XII.	Idade do desmame
XIII.	Transferência cruzada de leitões
XIV.	Transferência de leitões nas primeiras 24horas
XV.	Transferência de leitões após as primeiras 24horas
XVI.	Sistema todos dentro todos fora (todas as categorias)
XVII.	Contato entre animais de diferentes baias (creche, recria, terminação)
XVIII.	Agrupamento de animais de diferentes idades (creche, recria, terminação)
XIX.	Segregação de doentes (creche, recria, terminação)
XX.	Introdução de animais de outras granjas (creche, recria, terminação)
XXI.	Limpeza diária
XXII.	Limpeza antes da desinfecção
XXIII.	Uso de detergente
XXIV.	Tipo de desinfetante usado
XXV.	Banho de funcionários
XXVI.	Uniforme para funcionários

#### 4.1 Soroprevalência

Todos os rebanhos amostrados foram positivos para anticorpos anti-*L. intracellularis*. Com relação às soroprevalências, MBH foi a que apresentou maior prevalência, seguida por TAP. ZM teve prevalência intermediária, mas bem próxima à de SSO, que foi a menor prevalência entre as mesorregiões analisadas. Não houve diferença estatística entre os valores de soroprevalência encontrados para as diferentes mesorregiões do estado (Tab.2) (Fig. 7).

Tabela 2: Número de rebanhos amostrados, soropositividade, soroprevalência, erro padrão e intervalos de confiança (IC) para para as soroprevalências das quatro mesorregiões mineiras de maior produção suína tecnificada do estado e para o total de amostras. MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata; SSO-Sul/Sudoeste de Minas; TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.

Região	Número de rebanhos amostrados	Soropositividade	Soroprevalência	Erro Padrão	IC 95%	
					mínimo	máximo
MBH	7	38,43%	37,66%	2,37%	33,13%	42,41%
ZM	8	31,50%	32,85%	1,97%	29,11%	36,83%
SSO	9	21,33%	32,06%	2,58%	27,22%	37,31%
TAP	6	41,0%	35,59%	2,26%	31,29%	40,15%
Minas Gerais	30	31,96%	34,66%	1,29%	32,12%	37,20%

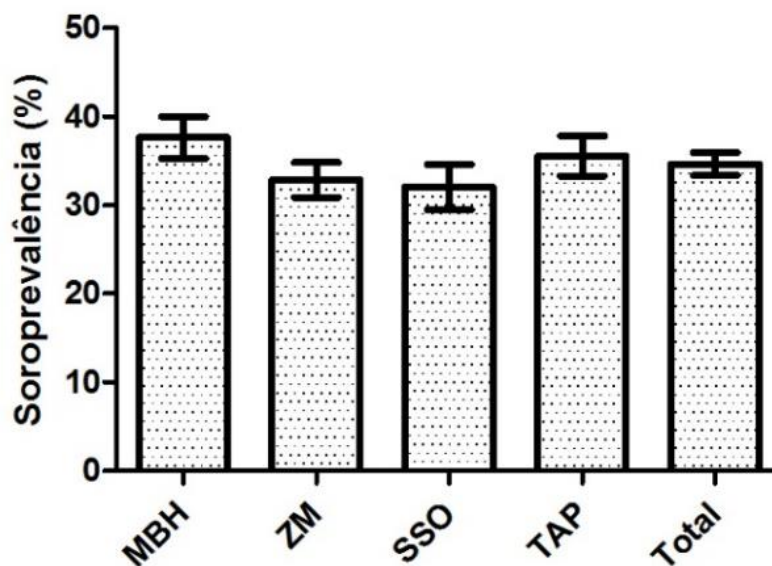


Figura 7: Soroprevalência a nível animal e erro padrão para anticorpos anti-*L. intracellularis* nas quatro mesorregiões de maior produção suína tecnificada de Minas Gerais. Não houve diferença estatística entre os resultados das mesorregiões. MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata

## **4.2 Soroperfis**

Foram determinados o soroperfil geral das amostras Gerais (Fig. 8) e os soroperfis das regiões, de acordo com as soroprevalências encontradas para cada fase do ciclo de produção, após a ponderação das amostras. Foram encontradas diferenças estatísticas entre as fases do ciclo de produção (Fig. 9; tabs. 3-7).

## **4.3 Fatores de risco associados a infecção por *L. intracellularis***

A mediana obtida a partir da soropositividade encontrada nos 30 rebanhos foi de 31,0%. As variáveis selecionadas (Quadro 1) a partir do questionário (anexo 1) foram relacionadas a soropositividade para *L. intracellularis* para análise estatística. Entretanto, somente uma variável, “frequência de introdução de animais nos rebanhos”, foi estatisticamente relevante ( $p < 0,05$ ).

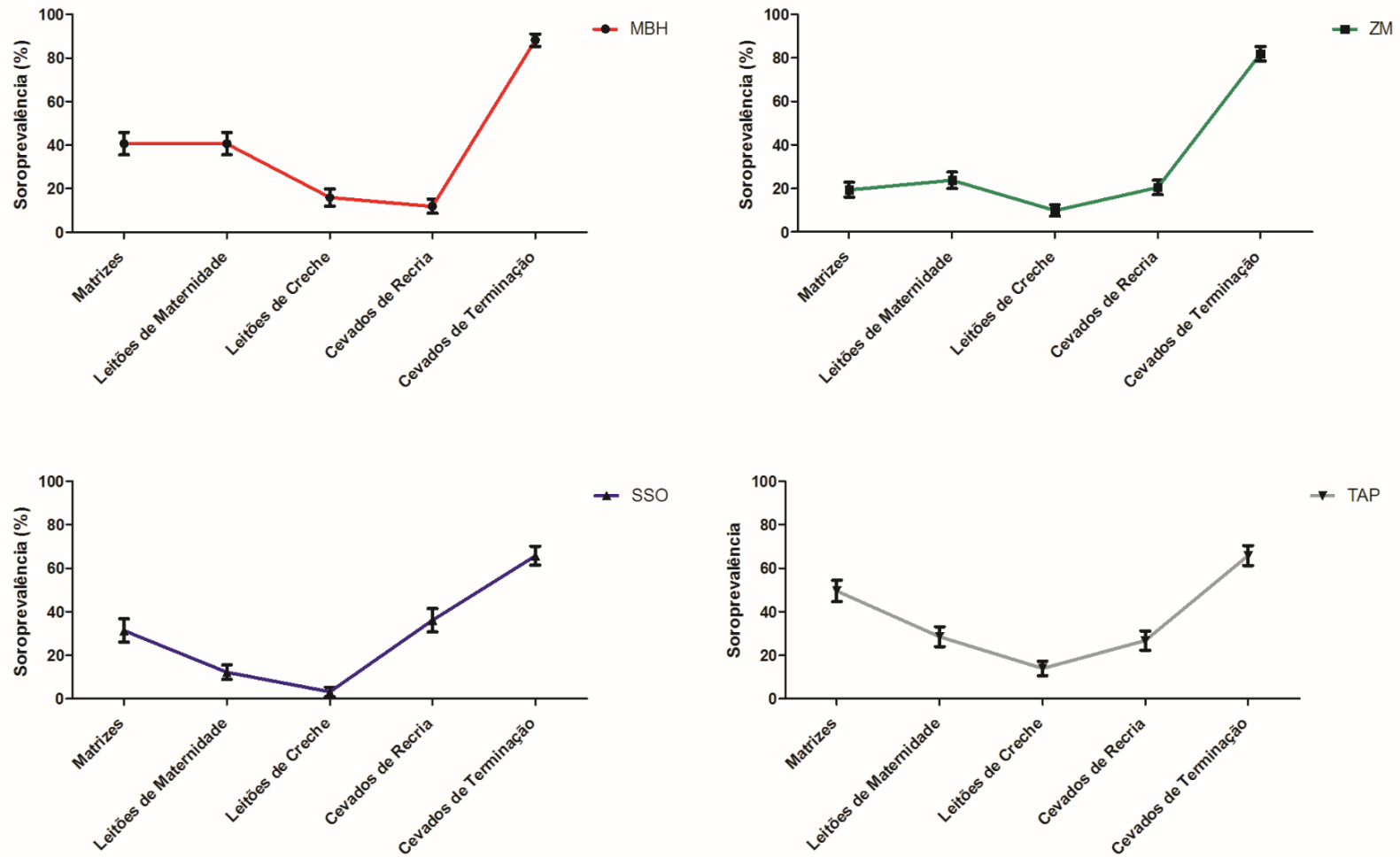


Figura 8: Soroperfis para anticorpos anti-*L. intracellularis* nas mesorregiões mineiras de maior produção tecnificada de suínos. As barras indicam o erro padrão das prevalências encontradas por categoria. MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata; SSO-Sul/Sudoeste de Minas; TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.

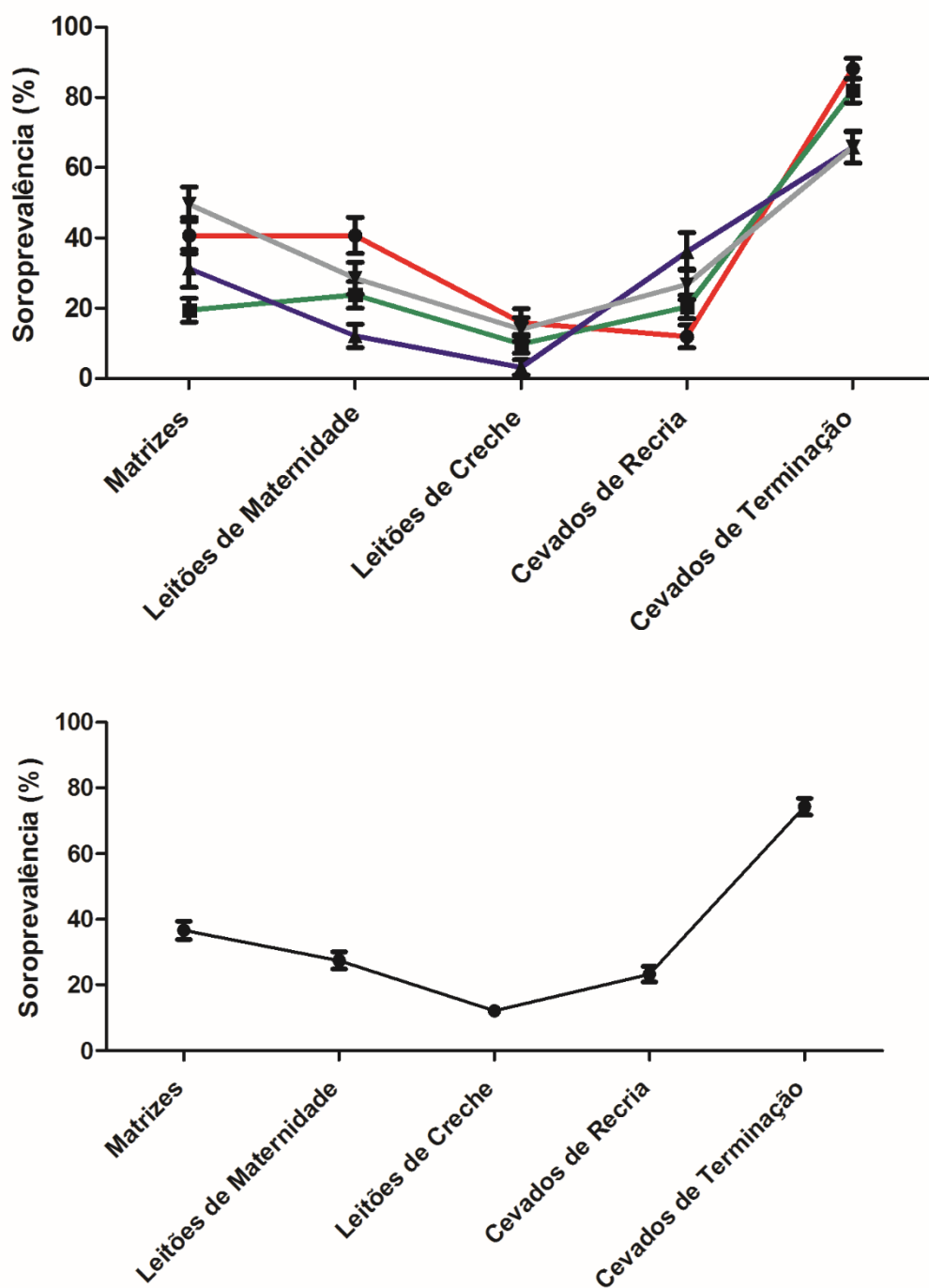


Figura 9: Soroperfis para anticorpos anti-*L. intracellularis* nas quatro mesorregiões de maior produção suína tecnificada de Minas Gerais (superior) e para o total das amostras, por categoria (inferior). As barras indicam o erro padrão para a prevalência em cada categoria animal. MBH-Metropolitana de Belo Horizonte (vermelho); ZM-Zona da Mata (verde); SSO-Sul/Sudoeste de Minas (azul); TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba (cinza).

Tabelas 3-7: Prevalência, erro padrão e intervalo de confiança (IC) em cada categoria animal, para o total de amostras e para as quatro mesorregiões de maior produção tecnificada de suínos de Minas Gerais. Dentro de cada região, letras diferentes indicam diferença estatística entre as prevalências das categorias amostradas ( $p < 0,05$ ). MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata; SSO-Sul/Sudoeste de Minas; TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.

Região	Categoria	Soroprevalência	Erro Padrão	IC 95%	
				mínimo	máximo
MBH	Matrizes <sup>a</sup>	40.68%	5.11%	31.15%	50.98%
	Leitões de Maternidade <sup>a</sup>	40.74%	5.12%	31.19%	51.05%
	Leitões de Creche <sup>b</sup>	15.95%	3.89%	9.69%	25.13%
	Cevados de Recria <sup>c</sup>	11.98%	3.21%	6.96%	19.84%
	Cevados de Terminação <sup>d</sup>	88.22%	2.93%	81.16%	92.87%
SSO	Matrizes <sup>a</sup>	31.34%	5.38%	21.83%	42.72%
	Leitões de Maternidade <sup>b</sup>	12.23%	3.32%	7.06%	20.35%
	Leitões de Creche <sup>c</sup>	3.18%	2.16%	0.82%	11.50%
	Cevados de Recria <sup>a</sup>	36.15%	5.36%	26.41%	47.17%
	Cevados de Terminação <sup>d</sup>	65.81%	4.43%	56.68%	73.90%
MG	Matrizes <sup>a</sup>	36.61%	2.75%	31.40%	42.15%
	Leitões de Maternidade <sup>b</sup>	27.43%	2.58%	22.66%	32.78%
	Leitões de Creche <sup>c</sup>	12.14%	1.88%	8.91%	16.33%
	Cevados de Recria <sup>b</sup>	23.25%	2.41%	18.87%	28.30%
	Cevados de Terminação <sup>d</sup>	74.28%	2.50%	69.08%	78.88%

Região	Categoria	Soroprevalência	Erro Padrão	IC 95%	
				mínimo	máximo
ZM	Matrizes <sup>a</sup>	19.46%	3.45%	13.56%	27.13%
	Leitões de Maternidade <sup>b</sup>	23.85%	3.79%	17.21%	32.06%
	Leitões de Creche <sup>c</sup>	9.91%	2.62%	5.82%	16.38%
	Cevados de Recria <sup>ab</sup>	20.45%	3.34%	14.66%	27.78%
	Cevados de Terminação <sup>d</sup>	81.92%	3.45%	74.16%	87.74%
TAP	Matrizes <sup>a</sup>	49.65%	4.93%	40.10%	59.22%
	Leitões de Maternidade <sup>b</sup>	28.59%	4.55%	20.55%	38.27%
	Leitões de Creche <sup>c</sup>	14.01%	3.37%	8.60%	22.01%
	Cevados de Recria <sup>b</sup>	26.83%	4.41%	19.08%	36.32%
	Cevados de Terminação <sup>d</sup>	65.85%	4.60%	56.33%	74.23%

Tabela 8: Comparação das soroprevalências por categoria, entre as mesorregiões. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre as prevalências das mesorregiões amostradas, ( $p < 0,05$ ). MBH-Metropolitana de Belo Horizonte; ZM-Zona da Mata; SSO-Sul/Sudoeste de Minas; TAP-Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba.

<b>Categoria</b>	<b>MBH</b>	<b>ZM</b>	<b>SSO</b>	<b>TAP</b>
Matrizes	40.68% AB	19.46% C	31.34% BC	49.65% A
Leitões de Maternidade	40.74% A	23.85% B	12.23% C	28.59% AB
Leitões de Creche	15.95% A	9.91% A	3.18% B	14.01% A
Cevados de Recria	11.98% A	20.45% AB	36.15% C	26.83% BC
Cevados de Terminação	88.22% A	81.92% A	65.81% B	65.85% B

## 5. DISCUSSÃO

Este é primeiro estudo a pesquisar a prevalência de anticorpos IgG anti-*L. intracellularis*, detectados por meio de IPMC, em rebanhos suínos de sistema tecnificado de criação em Minas Gerais. Essa metodologia, já adotada como rotina de diagnóstico da EPS no laboratório de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG, foi eleita por apresentar alta sensibilidade e especificidade (89% e 100%, respectivamente) (Guedes et al., 2002c), por dispensar o uso de um microscópio de fluorescência, apresentar estável coloração gerada pela reação positiva e ser de interpretação pouco subjetiva (Guedes et al., 2002c).

Todos os rebanhos incluídos na pesquisa apresentaram pelo menos uma das amostras de soro positiva ao teste de IPMC, sendo que nenhum destes rebanhos adotava protocolo de imunização vacinal contra a EPS. Pode-se inferir, então, que os anticorpos detectados pela IPMC são provenientes da reação imune à exposição direta dos animais ao agente etiológico e que, portanto, a infecção por *L. intracellularis* é disseminada entre as granjas suínícolas tecnificadas do estado. A utilização pouco frequente da vacina comercial Enterisol Ileitis (Boehringer Ingelheim) em granjas brasileiras pode ser parcialmente justificada pelo receio da retirada de antimicrobianos das rações dos animais de creche, já que se trata de uma vacina viva atenuada e também pela difícil percepção dos veterinários e proprietários do impacto causado pela forma crônica e particularmente subclínica da infecção nos animais (Guedes, 2008).

A ponderação das amostras utilizada no presente trabalho possibilitou a determinação da prevalência da doença em Minas Gerais, bem como a comparação deste resultado para as diferentes mesorregiões amostradas. Dados de pesquisas epidemiológicas devem ser ponderados, utilizando-se de pesos de expansão para evitar estimativas tendenciosas para a população de inferência. O cálculo dos pesos é um processo gradual que é utilizado para representar todas as unidades suscetíveis a amostragem da população. Sem a ponderação, pode haver distorção da variância com superestimação ou subestimação dos resultados (Dargatz e Hill, 1996), conforme pode ser observado na tabela 2. Apesar de sua importância, este tipo de análise não é comumente utilizada em outros estudos que, de maneira geral, comparam as soropositividades brutas encontradas, seja em diferentes categorias ou diferentes regiões de um país (Marsteller et al., 2003; Kukushkin e Okovytaya, 2012; Wu et al., 2014).

Diferenças nas metodologias utilizadas em diferentes trabalhos, como teste sorológico empregado, categoria animal amostrada, objetivo final do rebanho e análise estatística dificultam a comparação direta dos resultados obtidos no presente estudo e outras publicações. Entretanto, semelhantemente aos resultados aqui apresentados, com positividade para todas as propriedades amostradas, altas prevalências a nível de rebanho foram encontradas também no Canadá (Paradis et al., 2007), mas com variação de acordo com a finalidade da criação (ciclo completo, engorda ou reprodução). Na Austrália, todos os rebanhos foram positivos para anticorpos anti-*L. intracellularis*, com 84,2% de positividade em animais em fases de engorda (Holyoake et al., 2010). Diferentes prevalências de rebanho foram encontradas também em rebanhos norte-americanos (Marsteller et al., 2003): 75% das propriedades de engorda e 78% das de reprodução foram positivas. Na Alemanha (Wendt et al., 2004) a prevalência de rebanho foi de 33,7% e 48%.

Chouet e colaboradores (2003) encontraram 12% de propriedades soronegativas na França e 10,3% na Espanha. Na China a prevalência foi de 77% (Wu et al., 2014) e na Rússia 86,5% dos rebanhos e 50% das amostras eram positivas no teste de ELISA (Kukushkin e Okovytaya, 2012).

Os soroperfis encontrados no presente estudo estão de acordo com a dinâmica da infecção frequentemente observada em rebanhos com uso intensivo de antimicrobianos nas fases de crescimento e sem restrições a utilização de promotores de crescimento. Nestes sistemas de produção, normalmente, a infecção tende a ocorrer após a queda dos anticorpos maternos, provenientes do colostro, período que coincide com o estresse causado pela desmama e mistura de lotes, as vezes de diferentes origens, além de mudança na alimentação (Guedes et al., 2002b). Entretanto, o uso dos antimicrobianos reduz a pressão de infecção na fase de creche e, por isso, a soroconversão inicia-se na recria, alcança níveis máximos na terminação e começa a declinar em fêmeas que são mantidas no rebanho para reprodução (Guedes et al., 2002b; McOrist, 2005a; McOrist, 2005b). Em rebanhos europeus, onde a administração de antibióticos como promotores de crescimento não é permitida, a soroconversão tende a ser mais precoce, cerca de seis semanas pós desmame, que corresponde a 70 dias de idade (Stegé et al., 2004). Isso provavelmente é reflexo da susceptibilidade dos animais de creche, associada à ausência de antimicrobianos na ração, que fazem com que estes animais se infectem e soroconverteram precocemente em relação aos rebanhos mineiros.

Uma vez que a classificação dos animais dentro das fases do ciclo de produção das propriedades (leitões de maternidade, creche, recria e terminação) é variável, foi previamente estabelecido que animais de maternidade deveriam ter entre 15 a 22 dias de idade e estarem alojados nestas instalações, enquanto que animais de creche poderiam ter de 22 a 60 dias de idade, desde que não estivessem mais recebendo leite materno como base de alimentação e estivessem alojados em lotes em instalações próprias. Essa determinação possibilitou a adequação da amostragem entre diferentes manejos encontrados, mas pode ter influenciado nos resultados dos soroperfis. Anticorpos detectados em leitões lactentes são decorrentes da imunidade passiva estabelecida através da ingestão de colostro rico em anticorpos contra os agentes presentes na propriedade e tendem a declinar de títulos em aproximadamente cinco semanas (Quesnel et al., 2012). Como animais alojados na creche com idade inferior a cinco semanas fizeram parte da população amostral neste experimento, anticorpos IgG anti-*L. intracellularis* detectados nessa fase podem ainda corresponder a anticorpos maternos absorvidos por meio da ingestão de colostro nas primeiras 24 horas de vida, e, portanto, não serem decorrentes da resposta imune ativa perante exposição ao agente, gerando confundimento na interpretação dos resultados dessa categoria.

Outro ponto é que a susceptibilidade à infecção por *L. intracellularis* tem início em torno de seis semanas e a soroconversão ocorre em duas semanas pós infecção (Guedes e Gebhart, 2003b; Brandt et al., 2010), o que implica numa maior detecção de IgG em animais a partir de 8 semanas de idade, a depender da pressão de infecção na propriedade. Assim, os resultados aqui apresentados para animais de creche podem apontar tanto anticorpos maternos quanto resposta imune ativa contra *L. intracellularis*. Diferentemente, anticorpos detectáveis em animais de recria (aqui classificados entre 60 a 110 dias), terminação (110 a 150 dias) e matrizes são seguramente reflexo da resposta imunológica contra exposição direta à bactéria.

A partir dos dados coletados dos questionários aplicados durante as visitas às propriedades, verificou-se uma ampla utilização de antimicrobianos: 97% das propriedades relataram o uso destes produtos tanto para tratamento de doença clínica quanto para forma preventiva ou de promoção de crescimento dos animais. Visto que todas as granjas tiveram amostras positivas ao teste de IPMC, pode-se entender que a utilização das drogas não impede a infecção ou a disseminação da bactéria entre os animais, mas pode diminuir o desafio de infecção e assim, atrasar a soroconversão, como pode ser ilustrado pelos soroperfis. Ao final da terminação a medicação é suspensa, a pressão de infecção aumenta e então os animais tornam-se mais susceptíveis, e assim, grande número de cevados podem se infectar e posteriormente soroconverter.

A baixa prevalência individual das amostras encontradas no estado é possivelmente reflexo da inclusão de amostras de animais de creche e de multíparas. Em leitões com idade superior a cinco semanas os anticorpos maternos já poderiam estar ausentes e, apesar da presença da bactéria, a soroconversão poderia ainda não ter ocorrido. Já matrizes de elevada ordem de

parto, os anticorpos podem não ter sido mais detectáveis pela IPMC se a infecção tivesse ocorrido em período anterior a três meses da data da coleta.

Ao contrário dos resultados encontrados para a prevalência de suínos de terminação (74,28%), o único estudo de soroprevalência do Brasil, que utilizou o método de Imunofluorescência Indireta, revelou que 96,33% dos 109 rebanhos investigados em MG tiveram exposição a essa bactéria (Ristow et al, 2001), com soropositividade em apenas 22,10% das amostras de animais de terminação, única categoria amostrada. Uma vez que a sensibilidade e especificidade das metodologias utilizadas são semelhantes (Guedes et al., 2002a) é possível que essa variação esteja demonstrando uma maior disseminação atual da infecção. Uma hipótese para explicar essa disseminação seria a intensificação dos sistemas de produção mineiros, com maior número de animais no plantel e redução da mão de obra, refletindo numa maior dificuldade no controle manejo e biossegurança (limpeza das instalações, maior densidade populacional), assim como entrada frequente de suínos de outros plantéis para reposição dos animais destinados a reprodução, conforme já pesquisado em outros trabalhos (Bronsvort et al., 2001; Corzo et al., 2005).

Ainda que a enteropatia proliferativa seja uma doença economicamente relevante e prevalente (McCorist, 2005), poucos estudos têm sido conduzidos com o objetivo de esclarecer os fatores de risco relacionados à positividade do rebanho para anticorpos.

Dentre mais de 30 variáveis selecionadas dos questionários para análise de relevância como fatores de risco, somente “frequência de introdução de animais de outros rebanhos” foi significativa. A chegada de animais de outras granjas na propriedade oferece risco para o rebanho receptor, não só com relação à EPS, mas também para diversas outras doenças infectocontagiosas. Segregar os animais adquiridos em local apropriado por período de quarentena é conduta adequada para minimizar a entrada de *L. intracellularis* e outros microrganismos potencialmente patogênicos para o rebanho, bem como aclimatizar os indivíduos aos patógenos presentes na granja.

A uniformidade nas características sanitárias entre os rebanhos das quatro mesorregiões amostradas pode ser a explicação tanto para a carência de diferença estatística entre as prevalências calculadas quanto para a determinação de fatores de risco relacionados a soropositividade por rebanho. Isso quer dizer que, dado que as propriedades incluídas no estudo apresentaram homogeneidade com relação às técnicas de manejo e biossegurança adotadas e todas foram positivas ao teste empregado, a probabilidade de se apontar variável segregativa entre aquelas pesquisadas diminuiu, bem como a diferença entre as prevalências por região. Fatores de risco à infecção por *L. intracellularis* apontados previamente em outros estudos foram, de modo geral, uniformemente encontrados nos rebanhos mineiros ou não tiveram associação estatística com a soropositividade dos rebanhos. Adoção de sistema confinado em piso de concreto para animais de recria e terminação (Bronsvort et al., 2001; Corzo et al., 2005) era adotado por 100% das propriedades. Tamanho do rebanho, apontado como fator de risco por Bronsvort e colaboradores (2001) também não pode ser associado estatisticamente à positividade do rebanho, já que 30 propriedades foram classificadas nos estratos de rebanhos de maiores populações (Garcia e Aguiar, 2010). O sistema “todos dentro-todos fora”, indicado como fator protetor por Bronsvort et al. (2001) e Paradis et al. (2007) era adotado por 20 granjas (66,67%) com intervalo de vazio sanitário entre um a 12 dias. Ciclo completo de criação e uso rotineiro de antibióticos na ração foram associados à susceptibilidade à contaminação de rebanhos canadenses (Corzo et al., 2005), contudo, nos rebanhos pesquisados essa era uma prática muito disseminada (97% das propriedades). A limpeza e desinfecção das instalações também pode estar relacionada a menores prevalências (Corzo et al., 2005), mas 76,67% das 30 propriedades relataram desinfetar as instalações com algum tipo de desinfetante. Presença de lâmina d’água nas instalações de recria e terminação, uma característica de potencial importância para manutenção da bactéria no ambiente (Collins et al., 2000), era adotada por 90% das propriedades, sendo portanto um fator pouco discriminatório para se associar à soropositividade. Outros fatores não apontados em outros estudos, mas que podem ter relação com a introdução de agentes infecciosos nas granjas foram pesquisados (Quadro 1), dentre eles quarentena para introdução de animais adquiridos (realizada por 40% das granjas) e presença de rodolúvio (apenas 10% das propriedades). Contudo estes também não puderam ser estatisticamente associados à infecção por *L. intracellularis*.

Uma vez que um dos objetivos da pesquisa foi determinar o soroperfil dos rebanhos do estado, todas as categorias de animais foram amostradas na mesma propriedade, de forma que somente granjas de ciclo completo foram englobadas. Logo, importante variável mencionada por outros autores (Bronsvort et al., 2001), que seria o de objetivo de produção (reprodução ou engorda), não pode ser avaliada.

Possíveis alternativas para aumentar a probabilidade de se detectar esses fatores de risco seria difundir a aplicação de questionários, mesmo em granjas que não fossem submetidas ao teste sorológico (Bronsvort et al., 2001), ou ainda excluir os resultados sorológicos de animais jovens ou em fase reprodutiva, com posterior categorização das propriedades com relação à mediana ou quartis de soropositividade, já que somente a detecção anticorpos nas fases de engorda estaria relacionada à recente exposição ao agente (Bae et al., 2013).

## 6. CONCLUSÃO

Anticorpos anti-*L. intracellularis* estavam presentes em todos os rebanhos investigados de Minas Gerais, indicando alta circulação do agente no estado, uma vez que nenhuma propriedade adotava protocolo vacinal. O soroperfil predominante nas propriedades está de acordo com o observado em outros rebanhos. Não houve diferença significativa entre as soropositividades relativas às principais mesorregiões produtoras de suínos do estado, mas houve diferença entre as categorias amostradas, com animais de terminação apresentando a maior prevalência. Dentre os fatores de risco analisados, somente a frequência de introdução de animais no plantel apresentou relevância estatística para o nível de soropositividade para anticorpos anti-*L. intracellularis* no rebanho.

## 7. REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. Cellular and molecular immunology. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders, Elsevier, 2007.

ABIPECS Relatório 2012. Disponível em: [http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS\\_relatorio\\_2012\\_pt.pdf](http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2012_pt.pdf) >. Acesso em: 1 agosto de 2014.

BACCARO, M.R.; MORENO, A.M.; SHINYA, L.T. et al. Identification of bacterial agents of enteric diseases by multiplex PCR in growing-finishing pigs. *Braz. J. Microbiol.*, v.34, p.225-229, 2003.

BAE, J.K.; WIELAND, B.; SAIT, M. et al. Risk factors associated with *Lawsonia intracellularis* in English pig farms. *Vet. J.*, v.197, p.707-711, 2013.

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.

BARNA, P.; BILKEI, G. Effect of gilt seropositivity to *Lawsonia intracellularis* (LI) on their offspring's seropositivity to LI and on diarrhea after a pure-culture challenge. *Prev. Vet. M.*, v.61, p.71-78, 2003.

BOYE, M.; JENSEN, T.K.; MØLLER et al. Specific detection of *Lawsonia intracellularis* in porcine proliferative enteropathy inferred from fluorescent rRNA in situ hybridization. *Vet. Pathol.*, v.35, p.153-156, 1998.

BRANDT, D.; KAIM, U., BAUMGÄRTNER W. et al. Evaluation of *Lawsonia intracellularis* infection in a group of pigs in a subclinically affected herd from weaning to slaughter. *Vet. Microb.*, v.146, p.361-365, 2010.

BRONSVORT, M.; NORBY, B.; BANE, D.P. et al. Management factors associated with seropositivity to *Lawsonia intracellularis* in US swine herds. *J. Swine Health Prod.*, v.9, p.285-290, 2001.

CHOUET, S.; PRIETO, C.; MIELI, L. et al. Patterns of exposure to *Lawsonia intracellularis* infection on European pig farms. *Vet. Record*, v.152, p.14-17, 2003.

- 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.; LOVE, R. J.; POZO, J. et al. Studies on the ex vivo survival of *Lawsonia intracellularis*. Swine Health Prod., v. 8, p.211-215, 2000.
- COLLINS, A.M.; DJIK, M.V.; VU, N.Q. et al. Immunity to *Lawsonia intracellularis*. Proceedings Allen D. Leman Conf, v.28, p.115-120, 2001.
- 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. Microb., v.168, p.455-458, 2014.
- COOPER, D.M.; GEBHART, C.J. Comparative aspects of proliferative enteritis. J. Am. Vet. Med. Ass., v.212, p.1446-1451, 1998.
- 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.
- DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. Veterinary Epidemiologic Research. Charlottetown: AVC Inc., 2003. 706p.
- DUHAMEL, G.E. e WHEELDON, E.B. Intestinal adenomatosis in a foal. Vet. Pathol., v.19, p.447-450, 1982.
- FACCINI, G.S.; GUEDES, R.M.C.; PESCADOR, C.A. et al. Diagnóstico histoquímico e imunohistoquímico da enteropatia proliferativa (*Lawsonia intracellularis*) em suínos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.57, p.569-575, 2005.
- FRANÇA, S.A.; GUEDES, R.M.C. Antimicrobianos para o controle da enteropatia proliferativa suína Ciência Rural, v.38, p.288-296, 2008.
- 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.
- 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.
- GONÇALVES, J; OVIEDO, M.; HADDAD, J. Kernel spatial analysis applied to management of health protection of swine in Minas Gerais, Brazil. Proceedings of the 23rd International Pig Veterinary Society (IPVS), v.II, p. 660, 2014.
- GUEDES, R.M.C. Update on epidemiology and diagnosis of porcine proliferative enteropathy. J. Swine. Health Prod., v 12, 2004.
- GUEDES, R.M.C. Infecção por *Lawsonia intracellularis*: um problema recorrente na suinocultura do Brasil. Acta Sci. Vet., v.36, p.77-s80, 2008.
- GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; WINKELMAN, N.A. et al. Comparison of different methods for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. Can. J. Vet. Res., v.66, p.99-107, 2002a.
- GUEDES, R.M.; 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, p. 258-263, 2002b.
- GUEDES, R.M.C.; GEBHART, C.J.; DEEN, J. et al. Validation of an immunoperoxidase monolayer assay as a serologic test for porcine proliferative enteropathy. J. Vet. Diagn. Invest., v.14, p.528-530, 2002c.
- GUEDES, R.M.C. e 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, 2003a.
- GUEDES, R.M.C. e GEBHART, C.J. Preparation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies against *Lawsonia intracellularis*. J. Vet. Diag. Invest., v.15, p.438-446, 2003b.

- 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. of Vet. Res.*, v.74, p.97–101, 2010.
- HOLYOAKE, P.K.; MULLAN, B.P.; CUTLER R.S. Simulation of the economic impact of proliferative enteritis on pig production in Australia. *Aust Vet J.*, v.73, p.89-92, 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.
- 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.
- KUKUSHKIN, S.; OKOVYTAYA, T. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and PCV2 in commercial pig farms in Russia. *Vet. Record*. 2012. doi: 10.1136/vr.100874
- KROLL, J.J.; ROOF, M.B.; HOFFMAN, L.J. et al. Proliferative enteropathy: a global enteric disease of pigs caused by *Lawsonia intracellularis*. *Anim. Health Res. Rev.*, v.6, p.173–197, 2005.
- LAWSON G.H.K.; McORIST S.; JASNI S.; MACKIE R.A. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: cultivation and maintenance in vitro. *J. Clin. Microbiol.*, v.31, p.1136-1142, 1993.
- LAWSON, G.H.K. e GEBHART, C.J. Proliferative enteropathy: review. *J. Comp. Pathol.*, v.122, p.77-100, 2000.
- LE DIVIDICH, J.; ROOKE, J.; AHERPIN, P. Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig. *J. Agric. Sc.*, v.143, p.469–485, 2005. doi:10.1017/S0021859605005642
- LOVE, D.N. e LOVE, R.J. Pathology of proliferative haemorrhagic enteropathy in pigs. *Vet. Pathol.*, v.16, p.41-48, 1979.
- LÖFSTEDT, M.; HOLMGREN, N.; JACOBSON, M.; et al. *Lawsonia intracellularis* and *Brachyspira* species in Swedish growers. *Proceedings 18th IPVS Cong.*, v.1, p.28, 2004.
- 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.
- MACINTYRE, M; SMITH, D.G.E.; SHAW, D.J. et al. Immunopathogenesis of experimentally induced proliferative enteropathy in pigs. *Vet. Pathol.*, v.40, p.421-432, 2003.
- McORIST, S. Defining the full costs endemic porcine proliferative enteropathy. *The Vet. J.*, v.170, p.8-9, 2005a.
- McORIST, S. b Prevalence and impact of proliferative enteropathy (ileitis) in East Asia. *Proceedings 2nd Asian Pig Vet. Soc. Cong.*, p.24-37, 2005b.
- 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.*, v.45, p.520-525, 1995.
- McORIST, S.; SMITH, S.H.; GREEN, L.E. Estimative of direct financial losses due to porcine proliferative enteropathy. *The Vet. Rec.*, v.140, p.579-581, 1997.
- 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.
- 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.
- PARK, S., JOONG, B.L., KYUNG, J.K. et al. Efficacy of a commercial live attenuated *Lawsonia intracellularis* vaccine in a large scale field trial in Korea. *Clin. Exp. Vaccine Res.*, v.2, p.135-139, 2013.

- PEDERSEN, K.S.; STÅHL, M.; GUEDES, R.M.C.; et al. Association between faecal load of *Lawsonia intracellularis* and pathological findings in pigs with diarrhea. BMC Vet. Res., v.8, p.198, 2012.
- 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. Wildlife Dis., v.44, p.992-998, 2008.
- 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.
- RISTOW, L.E.; SILVA, L.G.C.; PEREZ JR, A.A. Levantamento sorológico da enteropatia proliferativa dos suínos (ileíte) no estado de Minas Gerais. X Cong. Brasil. Vet. Especial. Suínos, p.43-44, 2001.
- SAMPAIO, I.B.M. Estatística Aplicada à Experimentação Animal. 3ª edição. Belo Horizonte. FEPMVZ. 2010. 264 p.
- SAMPIERI, F.; VANNUCCI, F.A.; ALLEN, A. et al. Species-specificity of equine and porcine *Lawsonia intracellularis* isolates in laboratory animals. Can. J. Vet. Res., v.77, p.:261–272, 2013.
- SMITH, D.G.E.; McORIST, S. Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. Res Vet Sci., v.62, p.6-10, 1997.
- STEGE, H.; JENSEN, T.K.; MØLLER, K. et al. Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. Prev. Vet. Med., v.46, p.279-292, 2000.
- STEGE, H.; JENSEN, T.K., MØLLER, K. et al. Infection dynamics of *Lawsonia intracellularis* in pig herds. Vet. Microb., v.104, p.97–206, 2004.
- SMITH, D.G.E.; LAWSON, G.H.K. *Lawsonia intracellularis*: getting inside the pathogenesis of proliferative enteropathy. Vet. Microbiol., v.82 p.331-345, 2001.
- STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.; et al. Diseases of swine. 8ª edição. Ames. Blackwell Science Ltd. 1999. 1209 p.
- UMEMURA, T., TSUCHITANI, M., TOTSUKA, M. et al. Histiocytic enteritis of rabbits. Vet. Pathol., v.19, p.326-328, 1982.
- VANNUCCI, F.A.; PUSTERLA, N.; MAPES, S.M. et al. Evidence of host adaptation in *Lawsonia intracellularis* infections. Vet. R., v.43, p.1-9, 2012.
- VANNUCCI, F.A., KELLEY, M.R. e GEBHART, C.J. Comparative genome sequencing identifies a prophage-associated genomic island linked to host adaptation of *Lawsonia intracellularis* infections. Vet. R., v.44, p.1-9, 2013a.
- VANNUCCI, F.A.; FOSTER, D.N. e GEBHART, C.J. Laser microdissection coupled with RNA-seq analysis of porcine enterocytes infected with an obligate intracellular pathogen (*Lawsonia intracellularis*). BMC Genomics., v.14, p.421–436, 2013b.
- 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 Microb., 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.
- WALTER D, GEBHART C, KROLL J, et al. Serologic profiling and vaccination timing for *Lawsonia intracellularis*. J Swine Health Prod1, v.2(6), p.310-31, 2004.
- WATTANAPHANSAK, S.; RANDALL, S.S; GEBHART, C.J. In vitro antimicrobial activity against 10 North American and European *Lawsonia intracellularis* isolates. Vet. Microbiol., v.134, p.305-310, 2009.
- 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.
- 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.

## 8. ANEXO 1

### Questionário Individual

#### 1. Identificação

Granja:

Proprietário:

Localização:

Data:

Número de matrizes:

Linhagem:

#### 2. Sistema de criação dos animais

Extensiva       Ao ar livre       Semiconfinado       Confinado

#### 3. Tipo de produção

Ciclo completo       Produção de leitões       Terminados       Reprodução

#### 4. Tipo de instalações utilizadas na granja

➤ Creche

Permite contato dos animais entre baias       Não permite contato de animais entre baias

➤ Recria

Permite contato dos animais entre baias       Não permite contato de animais entre baias

➤ Terminação

Permite contato dos animais entre baias       Não permite contato de animais entre baias

#### 5. Condições ambientais

➤ Temperatura

Temperatura ambiente registrada nos galpões:

\_\_ Creche      \_\_ Recria      \_\_ Terminação

➤ Ventilação

Tipo de ventilação utilizada nos galpões

Ventilação natural       Ventilação artificial      Especificar (tipo, como e quando é utilizada):

#### 6. Medidas de Manejo

##### Maternidade

➤ Manejo de colostro e aleitamento

Assistência na primeira mamada

Sim       Não

Leitão é colocado para mamar na primeira hora de vida

Sim       Não

Separação de leitegada em lotes para turnos de amamentação

sim       não

Utilização de sucedâneo

sim       não

Utilização de banco de leite/colostro

sim       não

➤ Tipo de desmama

Convencional - 21 dias       Precoce segregada       Precoce segregada medicada

Idade de desmama:

Transferência cruzada de leitões

Baixo número de transferências       Elevado número de transferências

Transferências realizadas nas primeiras 24 horas de vida do leitão

Transferências realizadas após as primeiras 24 horas de vida do leitão

#### Creche

Formação de lotes na creche:

Agrupamento de animais de diferentes idades

Sim       Não

Introdução de animais provenientes de outras granjas

Sim       Não

Como é o manejo de refugos? \_\_\_\_\_

➤ Densidade populacional

Tamanho das baias:                      Número de leitões por baia:

#### Recria

➤ Formação de lotes na recria:

Agrupamento de animais de diferentes idades

Sim       Não

Introdução de animais provenientes de outras granjas

Sim       Não

Como é o manejo de refugos?

➤ Densidade populacional

Tamanho das baias:                      Número de leitões por baia:

#### Terminação

Formação de lotes na terminação:

Agrupamento de animais de diferentes idades

Sim       Não

Introdução de animais provenientes de outras granjas

Sim       Não

Como é o manejo de refugos?

➤ Densidade populacional

Tamanho das baias:

### **7. Nutrição**

Fabricação de ração na própria granja

Sim       Não

Utilização de antibióticos na ração granja

Sim       Não

Quais? Em qual fase é adicionado?

➤ Premix, Núcleo, Microminerais e Vitaminas

Montada na própria granja     Compra de empresas de nutrição

➤ Manejo da alimentação:

Fornecimento de água:

Tipo de bebedouro utilizado:

Número de bebedouros por animais:

### **7. Programa sanitário**

Vacinas utilizadas e categoria de animais vacinados:

Agentes infecciosos presentes na granja:

Medidas de controle utilizadas para os agentes presentes: \_\_\_\_\_

Adoção de antibioticoterapia

Preventiva       Terapêutica      Qual antibiótico?

Idade dos animais tratados: animais doentes

Período de tratamento: -----Dosagem: -----

### 9. Programa de Biossegurança

➤ Sistema de manejo das instalações

( ) Sistema de manejo Contínuo      ( ) Sistema de manejo todos dentro-todos fora:

( ) Maternidade      Tempo de vazio:

( ) Creche      Tempo de vazio:

( ) Recria      Tempo de vazio:

( ) Terminação      Tempo de vazio:

➤ Programa de limpeza

( ) Limpeza diária de instalações ocupadas      ( ) Limpeza após a saída dos animais

( ) Outros

Detergentes:

Uso do detergente? -----

Mecanismos de limpeza:

➤ Programa de desinfecção

Limpeza prévia      ( ) Sim      ( ) Não

Desinfetante utilizado:

Concentração da solução: -----

Tempo de ação:

➤ Outras medidas de limpeza e desinfecção adotadas: vassoura de fogo

➤ Destino de animais mortos

( ) Enterramento      ( ) Colocação das carcaças em poços cobertos

( ) Incineração      ( ) Compostagem

Acesso de pessoas e veículos na granja:

Veículos

Presença de rodolúvio      ( ) Sim      ( ) Não

Limpeza e desinfecção freqüente      ( ) Sim      ( ) Não

Entrada de Pessoas

Entrada pós banho      ( ) Sim      ( ) Não

( ) Entrada com roupa da granja      ( ) Entrada com a própria roupa

Medidas de manejo de animais doentes: -----

Reposição de animais do plantel:

( ) Animais da própria granja      ( ) animais provenientes de outras granjas

Freqüência de introdução de animais na granja

Possui quarentenário      ( ) Sim      ( ) Não

Condições de adaptação dos animais no quarentenário: -----

**Tempo de isolamento dos animais:** -----