

Comunicação

[Communication]

Ocorrência de *Actinobacillus pleuropneumoniae* biótipo 1 em pulmões de suínos com pleuropneumonia no Norte de Portugal

[Occurrence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 1 in swine with pleuropneumonia in the North of Portugal]

F.J. Vieira-Brito¹, M.G. Vieira-Brito¹, A.C. Coelho^{1,2*}, J. Rodrigues^{1,2}

¹Departamento de Ciências Veterinárias
Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro
5001-911 - Vila Real, Portugal
²CECAV Portugal

A pleuropneumonia, causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae*, é uma das mais importantes doenças respiratórias suínas que ocorre em quase todos os países, acarretando elevadas perdas econômicas em todas as idades (Losinger, 2005). A enfermidade está normalmente associada com fatores ambientais e de manejo (Perestrello-Vieira et al., 2000). São conhecidos dois biótipos: o biótipo 1 é do tipo NAD dependente, tendo sido descritos 15 sorotipos. A classificação dos resultados das lesões pulmonares durante a inspeção é usada para caracterizar o problema de doença calculando a ocorrência de tipos específicos de doença pulmonar, como pleuropneumonia (Andreasen et al., 2001). Embora esta seja, normalmente, causada por *A. pleuropneumoniae*, outras bactérias do gênero, como *Haemophilus*, assim como bactérias "Pasteurella-like", estão associadas em alguns casos (Nicolet, 1992). Um diagnóstico correto de *A. pleuropneumoniae* necessita de exames patológicos e bacteriológicos *post-mortem* para a identificação da etiologia da pleuropneumonia. A demonstração de *A. pleuropneumoniae* viável por cultura bacteriológica ainda é a técnica mais usada em muitos laboratórios (Gottschalk et al., 2003). As provas fundamentadas na genética apresentam-se muito interessantes, contudo, não

parecem ser práticas nem econômicas para o processamento de grande número de amostras (Turni e Blackall, 2007).

Para este estudo, foram colhidas 127 amostras de pulmão em matadouro, provenientes de cinco explorações intensivas em ciclo fechado no Norte de Portugal. De todos os pulmões efetuou-se uma valorização macroscópica externa minuciosa sendo tomada nota da presença, ausência e características das lesões quando presentes. Do total de amostras, 96 apresentaram alterações anatomopatológicas compatíveis com pleuropneumonia e 31 amostras não tinham qualquer alteração macroscópica visível.

As amostras foram classificadas em dois grupos de acordo com a presença ou ausência de lesões típicas compatíveis com pleuropneumonia. O critério de inclusão em cada grupo baseou-se no método de classificação semiquantitativo utilizado pelo ITP Institut Technique du Porc (ITP) descrito por Le Foll e Solignac (1988) (Tab. 1). De acordo com esta classificação, cada lobo pulmonar é classificado com uma nota que varia entre zero e quatro. Fez-se ainda a classificação das lesões de pleurisia de acordo com a mesma grelha de apreciação de lesões.

Recebido em 31 de março de 2008

Aceito em 20 de outubro de 2008

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: accoelho@utad.pt

Ocorrência de *Actinobacillus...*

Tabela 1. Classificação semiquantitativa das lesões pulmonares (pneumonia e pleurisia)

Nota	Pneumonia	Pleurisia
0	Ausência de lesão	Ausência de lesão
1	Lesões cobrindo menos de ¼ da superfície do lobo	Pequeno foco de pleurisia visceral
2	Lesões cobrindo de ¼ a metade da superfície do lobo	Pleurisia visceral ou parietal limitada
3	Lesões cobrindo desde metade até ¾ da superfície do lobo	Lesão mais grave com algumas aderências
4	Lesões cobrindo mais de ¾ da superfície do lobo	Pulmão totalmente aderente

Fonte: adaptado de Le Foll e Solignac, 1988)

As amostras foram colhidas de forma asséptica e conservadas em refrigeração a 4°C. Em lesões de pleuropneumonia, o fragmento é localizado na charneira entre a zona lesada e a zona sã, de acordo com o procedimento de Gutiérrez et al. (1992). Os órgãos, transportados para o laboratório, foram semeados em no máximo seis horas após a colheita. Com base na técnica aplicada por Harley e Prescott (2002), executou-se a sementeira diretamente a partir do tecido pulmonar com auxílio de uma zaragatoa. O isolamento primário do agente foi feito em ágar chocolate suplementado com fator V no qual se encontravam agentes inibidores, como a bacitracina (100µg/ml) e a cloxacilina (1µg/ml), com antimicrobianos (violeta de cristal-1µg/ml). A incubação foi realizada durante 24 a 48 horas a 37°C, em atmosfera com 10% de CO₂ (Oxoid BR38). A coloração de Gram foi efetuada para a confirmação do crescimento de bacilos/cocobacilos Gram-negativos. Foi utilizada a estirpe de referência #4074 MITTAL. As subculturas destinadas à realização de provas de identificação complementares foram efetuadas em meio PPLO enriquecido com 10% de extrato fresco de levedura e 20% de soro inativado de cavalo e 1% de ágar. Para a confirmação de *A. Pleuropneumoniae*, realizaram-se as provas bioquímicas de identificação: dependência de factores de crescimento; crescimento no meio de Triple Sugar Iron (TSI); reação de Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP); prova da catalase; prova da

oxidase; pesquisa da urease; produção de indol; fermentação dos hidratos de carbono; prova da ortonitrofenol galactosídeo (ONPG); teste de lysine decarboxylase sulphhydrase (LDS); teste Ornithine decarboxylase arginine dihydrolase (ODC/ADH). Os microrganismos identificados bioquimicamente foram mantidos em meio de conservação com leite desnatado.

A ocorrência observada de lesões pulmonares foi de 75,6%. A ocorrência de isolamento do agente foi de 19,7%. Em 25 (26,0%) das 96 amostras com sinais evidentes de pleuropneumonia, isolou-se *A. pleuropneumoniae*. Quanto à localização anatômica dos diferentes tipos de lesões, observou-se que a maioria se situou no lobo cardíaco (47,9%), seguido do lobo apical (40,6%) e, por último, o diafragmático (20,8%). Encontraram-se lesões de pleurisia em seis (6,3%) pulmões lesionados. Os resultados obtidos de acordo com a classificação proposta por Le Foll e Solignac (1988) encontram-se na Tab. 2.

Isolou-se *A. pleuropneumoniae* biótipo 1, em 25 (19,7%). Este valor representa isolamento do agente em 26,0% dos 96 pulmões que apresentavam lesões de pleuropneumonia. Não foi isolado *A. pleuropneumoniae* das 31 amostras de pulmões que não continham lesões típicas à inspeção macroscópica.

Tabela 2. Ocorrência das lesões nos pulmões de acordo com a classificação de Le Foll e Solignac, 1988

Classificação	Lobo			Pleurisia
	Apical	Cardíaco	Diafragmática	
0	57 (59,4%)	50 (52,1%)	76 (79,2%)	90 (93,8%)
1	13 (13,5%)	15 (15,6%)	9 (9,3%)	4 (4,2%)
2	11 (11,4%)	17 (17,7%)	4 (4,2%)	1 (1,0%)
3	6 (6,3%)	7 (7,3%)	2 (2,1%)	0 (0,0%)
4	9 (9,4%)	7 (7,3%)	5 (5,2%)	1 (1,0%)

A infecção causada por *A. pleuropneumoniae* origina a identidade clínica designada por pleuropneumonia, normalmente restrita à cavidade torácica. As lesões pulmonares são frequentemente bilaterais e englobam o lobo apical, o cardíaco e o diafragmático. Para Pointon et al. (1992), as lesões mais severas localizam-se na parte caudal dos lobos cardíaco e diafragmático. Os resultados deste estudo estão em conformidade com esses autores, na medida em que se encontrou maior percentagem de lesões no lobo cardíaco. Existe a opinião mais ou menos generalizada de que a persistência de *A. pleuropneumoniae* em uma exploração traduz-se por elevada ocorrência de pleurísias e lesões pulmonares observadas quando do abate. Neste trabalho, observou-se uma relação entre a ocorrência dessas lesões e o sucesso de isolamento de *A. Pleuropneumoniae*. Não se isolou este microrganismo em pulmões com ausência de lesões. Os resultados obtidos apontam para uma associação entre a presença de lesões compatíveis com pleuropneumonia e o isolamento do agente etiológico. Algumas lesões podem ter sido causadas por *A. Pleuropneumoniae*, mas não foi possível a confirmação devido à dificuldade de isolar o agente a partir de lesões crônicas (Williams et al., 2000). A percentagem de isolamento do agente nos pulmões que apresentavam lesões de

pleuropneumonia foi menor que a apresentada em outros trabalhos em diferentes países (Hunter e Livingstone, 1986; Williams et al., 2000). Os resultados deste trabalho confirmam os apresentados por outros autores, sobre a validade do diagnóstico de pleuropneumonia mediante isolamento do agente em pulmões com lesões (Williams et al., 2000). No México, esses autores, isolaram *A. pleuropneumoniae* em 129 (51,6%) amostras de pulmão com pleuropneumonia crônica. Os melhores resultados apresentados por esses autores podem ser atribuídos à seleção do lobo diafragmático, na medida em que, relativamente aos outros parâmetros, no presente estudo cumpriu-se toda a metodologia das técnicas, como a assepsia, e garantiu-se a qualidade dos meios de cultura para o isolamento (Brandreth e Smith, 1985). Também é possível que a ocorrência de pleuropneumonia por *A. pleuropneumoniae* seja mais alta no México que em Portugal e, como tal, a porcentagem de isolamento do agente também seja maior. Os resultados deste estudo reforçam a importância do isolamento e a identificação do agente em presença de lesões típicas no diagnóstico da doença.

Palavras-chave: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, pleuropneumonia, isolamento, ocorrência

ABSTRACT

The isolation and identification of Actinobacillus pleuropneumoniae in swine lungs with pleuropneumonia in the North of Portugal were reported. A total of 127 swine lungs with and without lesions were examined. The system of lesions classification was based on a semi-quantitative method. Diagnosis was made by isolation and identification of the etiological agent in typical lesions. The occurrence of observed lesions was 75.6% and the occurrence of isolation of A. pleuropneumoniae was 19.7%. In 25 out of 96 (26.0%) lung samples with lesions of pleuropneumonia, A. pleuropneumoniae was isolated.

Keywords: *Actinobacillus pleuropneumoniae, pleuropneumonia, isolation, occurrence*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREASEN, M.; MOUSING, J.; KROGSGAARD, L. No simple association between time elapsed from seroconversion until slaughter and the extent of lung lesions in Danish swine. *Prev. Vet. Med.*, v.52, p.147-161, 2001.

BRANDRETH, S.; SMITH, I. Prevalence of pig herds affected by pleuropneumonia associated

with *Haemophilus pleuropneumoniae* in eastern England. *Vet Rec.*, v.117, p.143-147, 1985.

GOTTSCHALK, M.; BROES, A.; MITTAL, K.R. et al. Non-pathogenic *Actinobacillus* isolates antigenically and biochemically similar to *Actinobacillus pleuropneumoniae*: a novel species? *Vet. Microbiol.*, v.92, p.87-101, 2003.

GUTTIÉRREZ, C.B.; RODRIGUEZ-BARBOSA, J.I.; GONZALEZ, O.R. et al.

Ocorrência de *Actinobacillus...*

- Viability of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in frozen pig lung samples and comparison of different methods of direct diagnosis in fresh samples. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, v.15, p.89-95, 1992.
- HARLEY, J.P.; PRESCOTT, L. *Laboratory exercises in microbiology*. 5.ed. New York: McGraw-Hill, 2002. 466p.
- HUNTER, D.; LIVINGSTONE, J. Detection of *Haemophilus pleuropneumoniae* antigens using the coagglutination test. *Vet. Rec.*, v.118, p.129, 1986.
- LE FOLL, P.; SOLIGNAC, T. Systèmes de notation des lésions respiratoires du porc charcutier. Révue bibliographique et application à l'épidémiologie-surveillance. *Techni-Porc*, v.11, p.25-39, 1988.
- LOSINGER, W.C. Economic impacts of reduced pork production associated with the diagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* on grower/finisher swine operations in the United States. *Prev. Vet. Med.*, v.68, p.181-193, 2005.
- NICOLET, J. *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: STRAW, B.E. (Ed). *Diseases of swine*, 7.ed. Iowa: Iowa University, 1992. p.401-408.
- PERESTRELO-VIEIRA, R.; SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. et al. *Doenças dos suínos*. 2.ed. Lisboa: Ciência e Vida, 2000. p.589-600.
- POINTON, A.M.; MERCY, A.R.; BACSTROM, L. et al. Disease surveillance at slaughter: In: LEMAN, A.D.; STRAW, W.L.; MENGELING, W.L. et al. (Eds). *Diseases of swine*. 7.ed. Iowa: Iowa University, 1992. p.968-985.
- TURNI, C.; BLACKALL, P.J. An evaluation of the *apxIVA* based PCR-REA method for differentiation of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Microbiol.*, v.121, p.163-169, 2007.
- WILLIAMS, J.J.; TORRES-LEON, M.A.; ECHEVERRIA-COELLO, P. et al. Aislamiento e identificación de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en pulmones de cerdos con pleuropneumonia crónica sacrificados en el rastro municipal de Mérida, Yucatán, México. *Rev. Biomed.*, v.11, p.175-181, 2000.