

MYCOPLASMA HYORHINIS – DETECÇÃO POR PCR EM PULMÕES DE SUÍNOS COM DOENÇA RESPIRATÓRIA

Emanuelli C. Severlin^{1*}; Luizinho Caron²; Nelson Mores²; Raquel Rebelatto²;
Marcos A. Z. Mores²; João X. de Oliveira Filho³ e Cátia S. Klein²

¹Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, estagiária da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CNPQ/PIBIC, e-mail: manu.servelin@hotmail.com

²Embrapa Suínos e Aves

³PPG Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Palavras-chave: *Mycoplasma hyorhinis*, PCR, suíno.

INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca atualmente como quinto maior produtor mundial de suínos. Porém, a industrialização da suinocultura propiciou o aumento da incidência das doenças da produção, a exemplo das doenças respiratórias. Estas estão entre as mais prevalentes na suinocultura industrial e apresentam etiologia multifatorial resultante da interação de dois ou mais agentes infecciosos, além da influência de fatores ambientais e de manejo (5). Agentes virais e micoplasmas normalmente atuam como agentes primários, baixando os mecanismos de defesa do hospedeiro para os invasores secundários, geralmente bactérias oportunistas (7). Entre os agentes bacterianos, o *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*) e a *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) são os mais comumente encontrados em lesões pulmonares (4), embora outras bactérias também possam ser isoladas, dentre elas, o *Mycoplasma hyorhinis* (*M. hyorhinis*) (2). O *M. hyorhinis* faz parte da microbiota normal do trato respiratório superior de suínos e, em algumas condições, pode causar doença sistêmica ou subclínica. Porém, pouco se sabe sobre a epidemiologia, o papel nas doenças respiratórias e o mecanismo utilizado por este agente para causar a doença (6). O objetivo deste trabalho foi a detecção do *M. hyorhinis*, por PCR, em pulmões de suínos com doença respiratória.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados 181 fragmentos de pulmão de suínos de terminação com doença respiratória. Os fragmentos foram obtidos entre 2011 e 2012, em granjas (G) e frigoríficos (F) de seis estados brasileiros: RS (21G/22F), SC (13G/18F), PR (10G/16F), MT (13G/20F), MS (11G/14F) e GO (5G/18F). Os animais das granjas foram eutanasiados por eletrocussão e necropsiados para colheita dos fragmentos. Nos frigoríficos as amostras foram colhidas na sala de evisceração. Amostras das lesões foram colhidas em formol e encaminhadas para análise de imunohistoquímica para *M. hyopneumoniae*. Amostras refrigeradas foram encaminhadas para análises laboratoriais de isolamento de *P. multocida*, conforme Quinn et al. (3) e para extração de DNA e PCR para detecção de *M. hyorhinis*. O DNA foi extraído utilizando Kit comercial DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen). O PCR foi realizado conforme descrito por Stakenborg et al. (8), mas sem a utilização dos primers para detecção de *M. hyopneumoniae* e *M. flocculare*, ou seja, utilizando somente o primer para detecção de *M. hyorhinis* (GenBank acesso nº M24658) e o primer reverse (região conservada do gene 16S rRNA), resultando em uma amplificação de 1129pb.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Das 181 amostras de DNA analisadas, 26,5% (48) foram positivas (P) para *M. hyorhinis*. A distribuição das amostras positivas, nos diferentes estados, pode ser observada na tabela 1. O *M. hyorhinis* já foi isolado do trato respiratório de suínos saudáveis e doentes, entretanto, as maiores taxas de isolamento foram encontradas em animais doentes (6,7). Estudos mais recentes têm utilizado PCR para detectar *M. hyorhinis* em amostras de campo com resultados semelhantes aos encontrados no teste de isolamento. Em uma pesquisa de *M. hyorhinis* por PCR em pulmões de suínos de abate, Caron et al. (1) encontraram 13% e 2% de positividade para suínos com e sem lesões, respectivamente. Neste estudo testamos apenas pulmões com lesão e encontramos 26,5% positivos por PCR, o que se assemelha aos estudos citados.

Das amostras analisadas, 41,1% (75/181) tiveram isolamento positivo para *P. multocida* e 64% (116/181) tiveram imunohistoquímica positiva para *M. hyopneumoniae*. Ainda, 45,8% (22/48) das amostras positivas por PCR para *M. hyorhinis*, também tiveram isolamento positivo para *P. multocida*, sendo: RS (9/22), SC (6/22), PR (3/22), MT (1/22), MS (3/22) e GO (0/22) e 77% (37/48) tiveram imunohistoquímica positiva para *M. hyopneumoniae*, sendo: RS (11/37), SC (11/37), PR (5/37), MT (6/37), MS (4/37) e GO (0/37). Das 48 amostras positivas para o *M. hyorhinis*, 21 (43,8%) foram positivas para os três agentes

pesquisados (*M.hyorhinis*, *M. hyopneumoniae* e *P. multocida*), sendo: RS (8/181), SC (6/181), PR (3/181), MT (1/181), MS (3/181) e GO (0/181). Conforme Sorensen et al. (5) infecções com *M. hyorhinis* e outros patógenos respiratórios são comuns em casos de pneumonia em suíno, sendo que o *M. hyorhinis* normalmente atua como agente secundário. Existem evidências de que diferenças de virulência entre as diversas cepas de *M.hyorhinis*, a resposta imune do hospedeiro e outras infecções simultâneas participariam desse processo (6). Assim, estudos para melhor caracterizar a participação deste agente no complexo de doenças respiratórias de suínos (CDRS) são necessários.

CONCLUSÕES

O *M.hyorhinis* foi detectado, por PCR, em 26,5% dos pulmões analisados, obtidos de suínos com doença respiratória e em 43,8% desses, também, havia a presença de *M. hyopneumoniae* e *P. multocida*. Porém, até o momento, ainda não temos como avaliar se o *M. hyorhinis* tem algum envolvimento com as lesões pulmonares e com o quadro respiratório dos suínos doentes.

REFERÊNCIAS

1. Caron, L.F., Joineau, M.E.G., Santin, E., Richartz, R.R.T.B., Patricio, M. A. C., Soccol, V.T. **Seroprevalence of H3N2 influenza A virus in pigs from Paraná (South Brazil): Interference of the animal management and climatic conditions.** Virus Reviews and research, v.15, p.63-73.2010.
2. Hansen, M.S., Pors, S.E., Jensen, H.E., Bille-Hansen, V., Bisgaard, M., Flachs, E.M., Nielsen, O.L. **An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark.**Journal of Comparative Pathology, v.143, p.120-131, 2010.
3. Quinn P.J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology.** Mosby-Year Book, 648 p. 1998.
4. Morés M.A.Z. **Anatomopatologia e bacteriologia de lesões pulmonares responsáveis por condenações de carcaças de suínos nos matadouros.** 77f. Curitiba, PR. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná. 2006.
5. Sorensen V., Jorsal S.E. & Mousing. **Diseases of the Respiratory System.** In: Straw B., Zimmerman J., Allaire S. & Taylor D. Diseases of Swine. 9 ed. Ames: Blackwell Publishing, p.149-177. 2006.
6. Rovira, A., Clavifo, M.J., Oliveira, S. **Infecção por *Mycoplasma hyorhinis* em suínos.** Acta Scientiae Veterinariae, v.38, supl. 1, p.9-15, 2010.
7. Thacker, E.L. **Mycoplasmal diseases.** In: Straw, B.E. et al. Diseases of Swine. 9. Ed. Australia: Blackwell Publishing Ltda. 2006. Cap 42. P. 701-218, 2006.
8. Stakenborg T, Vicca J, et al. **A multiplex PCR to identify porcine mycoplasmas present in broth cultures.** Veterinary Research Communications, v.30 (3), p. 239-47, 2006.

Tabela 1. Distribuição de positivos por PCR para *M.hyorhinis*

Estados	Amostras Positivas	
	(%)	Nº Positivos Estado / Nº Fragmentos Estados
RS	28	12 / 43
SC	38,7	12 / 31
PR	19,2	5 / 26
MT	30,3	10 / 33
MS	20,0	5 / 25
GO	17,4	4 / 23