

PCR de *Salmonella* spp, *Streptococcus suis*, *Brucella abortus* e circovírus suíno tipo 2 em taiassuídeos de vida livre e cativo

PCR of "Salmonella" spp, "Streptococcus suis", "Brucella abortus" e Porcine circovirus type 2 in free-living and captive peccaries

REAL, Vânia Villa¹; DUTRA, Valéria¹; NAKAZATO, Luciano¹; FREITAS, Tatiana Pádua Tavares de¹; KEUROGHLIAN, Alexine; ALMEIDA², Arleana do Bom Parto Ferreira de¹; SOUZA, Roberto Lopes de¹

¹Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Clínica Médica Veterinária, Campo Grande, Mato Grosso, Brasil.

²Wildlife Conservation Society, Campo Grande, Mato Grosso, Brasil.

*Endereço para correspondência: rsouza@ufmt.br

RESUMO

Os taiassuídeos são animais silvestres pertencentes à mesma ordem taxonômica dos suínos (*Artiodactyla*), que, apesar de pertencerem a famílias diferentes, apresentam várias doenças em comum. Das três espécies existentes, duas ocorrem naturalmente no Brasil, *Tayassu tajacu* e *Tayassu pecari*, conhecidas como cateto e queixada, respectivamente. A importância neste estudo é avaliar microrganismos patogênicos nessas populações devido ao fato de poderem agir como reservatórios de doenças para animais domésticos, risco de potencial zoonótico e ameaça para conservação da espécie. Neste estudo, verificou-se a ocorrência de microrganismos patogênicos para suínos em taiassuídeos de cativo e de vida livre. A presença de *Salmonella* spp., *Streptococcus suis*, *Brucella abortus* e Circovírus suíno tipo 2 foi pesquisada pela Reação em Cadeia pela Polimerase em 46 taiassuídeos de cativo e vida livre. Dos 31 animais de cativo, 25,80% (8/31) foram positivos para *Salmonella* spp., 22,58% (7/31) para *Brucella abortus* e 3,22% (1/31) para *Streptococcus suis*. Das 15 amostras de swab de tonsila dos queixadas de vida livre, 13,33% (2/15) foram positivas para *Brucella abortus* e negativas para *Streptococcus suis* e *Salmonella* spp. Todos os animais estudados foram negativos para circovírus suíno tipo 2. A ocorrência de microrganismos foi significativamente ($p = 0,0011$) maior nos animais de cativo do que nos de vida livre, o que demonstra a necessidade de abrangência nessas pesquisas do caráter zoonótico da maioria dos agentes pesquisados e da proximidade desses animais ao homem.

Palavras-chave: bactérias, zoonoses, vírus

SUMMARY

The tayassuideos are wild animals in the same taxonomic order of pigs (*Artiodactyla*) and, although belonging to different families, have more in common diseases, which are characterized by the same clinical signs, diagnosis and treatment. From the three species, two occur naturally in Brazil: *Tayassu tajacu* and *Tayassu pecary*, also known as collared peccary and white lipped peccary, respectively. The importance of the study of microorganisms found in these populations is because these animals can act as reservoirs of diseases to domestic animal, potential zoonotic risk and a problem to specie conservation. In this study, it was examined the occurrence of pathogenic microorganisms for pigs in tayassuideos from captivity and living free. The presence of *Salmonella* spp., *Streptococcus suis*, *Brucella abortus* and Porcine circovirus type 2 was investigated by the Polymerase Chain Reaction. From the 31 animals of captivity, 25.8% (8/31) were positive for *Salmonella* spp., 22.58% (7/31) for *Brucella abortus* and 3.22% (1/31) for *Streptococcus suis*. From the 15 swab samples from the tonsil of free-living peccaries, 13.33% (2/15) were positive for *Brucella abortus* and negative for *Streptococcus suis* and *Salmonella* spp. All animals were negative for Porcine circovirus type 2. Occurrence of microorganisms was significantly ($p = 0,0011$) higher in animals in captivity than in free-living, demonstrating the need for inclusiveness in research aimed at the character of the majority of zoonotic agents that were searched and proximity of these animals to humans.

Keywords: bacteria, zoonoses, viruses,

INTRODUÇÃO

A necessidade de identificar fontes de infecção de animais domésticos e seres humanos desperta o interesse de pesquisadores em estudar animais silvestres como reservatório de agentes etiológicos causadores de doenças (TERBORGH, 1992). Mais recentemente, o monitoramento ativo de doenças infecciosas dos animais silvestres tem sido alvo de preocupação (WOBESER, 2002), de modo que contribui para conservação ambiental, visto que muitos desses são responsáveis pela manutenção do ecossistema (TERBORGH, 1992).

Os taiassuídeos são animais silvestres pertencentes à mesma ordem taxonômica dos suínos (*Artiodactyla*), porém de família diferente, *Tayassuidae* e *Suidae*, respectivamente (CORN et al., 1987). Muitas são as semelhanças descritas entre essas espécies e com a maioria das doenças que acometem os suínos domésticos descritas nos taiassuídeos (FURTADO & KASHIVAKURA, 2007). As duas espécies de taiassuídeos encontradas naturalmente no Brasil são o cateto (*Tayassu tajacu*) e o queixada (*Tayassu pecari*) (LIMA et al., 2004).

A produção de animais silvestres, em especial de taiassuídeos, tem despertado interesse de produtores rurais por representar fonte de proteína animal para seres humanos. Também é fonte alternativa de renda e solução para aproveitamento de áreas improdutivas das propriedades rurais consideradas marginais por razões edafológicas, que impedem seu aproveitamento para agropecuária tradicional (NOGUEIRA FILHO & NOGUEIRA, 2000). Outra vantagem seria o aproveitamento de recursos naturais, principalmente por beneficiar o meio ambiente de forma que

fosse evitada a necessidade de desmatamento para criação de animais domésticos, com redução da pressão da caça (PINHEIRO et al., 2001).

O objetivo, no presente trabalho, foi verificar a ocorrência de patógenos de importância na Saúde Pública e econômica na criação comercial de suínos. Foi avaliada a ocorrência de *Salmonella* spp, *Brucella abortus*, *Streptococcus suis* e circovírus suíno tipo 2 (PCV2) em taiassuídeos criados em cativeiro e de vida livre.

MATERIAL E MÉTODOS

Mediante autorização do IBAMA (nº. 13601-1 para animais de vida livre e 11616-1 para os cativos), foram estudados 46 taiassuídeos, trinta e um criados em cativeiro, entre esses sete catetos (*Tayassu tajacu*), 24 queixadas (*Tayassu pecari*) e 15 de vida livre, todos queixadas. Os animais de cativeiro pertencem ao Parque Zoológico da Universidade Federal de Mato Grosso em Cuiabá/MT, e os de vida livre são oriundos da Fazenda Santa Emília localizada no Pantanal Sul-Matogrossense, Aquidauana/MS. A coleta de material foi realizada em julho de 2007 dos animais cativos e janeiro de 2008 dos animais de vida livre. Após captura e contenção química com Tiletamina/Zolazepam na dose aproximada de 2,5mg/Kg, dose adaptada de Massone (2003), realizou-se coleta de amostra de tonsila com auxílio de *swabs*, de todos os animais, com posterior conservação em *freezer* a - 20° C.

A extração de DNA foi realizada pelo método Fenol-Clorofórmio (Sambrook & Russel, 2001). Após precipitação com acetato de sódio e isopropanol, o DNA foi ressuscitado em 50µl de

água ultrapura. A reação em cadeia pela polimerase para detectar DNA de PCV2, *Streptococcus suis*, *Salmonella* spp. e *Brucella abortus* em amostras

tonsilares dos taiassuídeos foi realizada em volume final de 25µl, e a água ultrapura foi utilizada como controle negativo. Conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Oligonucleotídeos e seus respectivos produtos de amplificação utilizados na detecção de patógenos em taiassuídeos pela reação em cadeia da polimerase (PCR)

Patógeno	Sequência nucleotídea	Amplificação (pb)*	Referência
PCV-2**	5' CACGGATATTGTAGTCCTGGT3' 5' CCGCACCCCTCGGATATACTGT3'	493	Fernaux et al. (2000)
<i>Streptococcus suis</i>	5' CAGTATTTACCGCATGGTAGATAT3' 5' GTAAGATACCGTCAAGTGAGAA3'	294	Marois et al. (2004)
<i>Salmonella</i> sp	5' TTGGTGTTTATGGGGTCGTT3' 5' GGGCATACCATCCAGAGAAA3'	298	Suh & Song (2005)
<i>Brucella abortus</i>	5' CAGTATTTACCGCATGGTAGATAT3' 5' GACGAACGGAATTTTCCAATCCC3'	498	Bricker & Halling (1994)

*pb – pares de base; **PCV-2 – circovirus suíno tipo 2.

A visualização dos produtos amplificados foi realizada por meio da eletroforese em gel de agarose a 1%, de modo que foram corados com brometo de etídio (10µg/ml) e analisados em transiluminador sob luz ultravioleta em voltagem de 100v.

A análise estatística teve como referência o teste Z para a comparação das proporções de duas populações, por meio do programa Microsoft Office Excel 2007 e com o nível de significância em 1%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 46 amostras de *swab* de tonsila, 19,56% (9/46) foram positivas para *Brucella abortus*, 17,39% (8/46) para *Salmonella* spp. e 2,17% (1/46) para *Streptococcus suis* e todas negativas para *Salmonella* spp, *Brucella abortus*,

Streptococcus suis e circovírus suíno tipo 2.

Nos animais de cativeiro 25,80% (8/31) amplificaram o DNA de *Salmonella* spp., 22,58% (7/31) de *Brucella abortus* e 3,22% (1/31) de *Streptococcus suis* através da técnica de reação em cadeia da polimerase. Nos animais de vida livre 13,33% (2/15) foram positivas para *Brucella abortus*.

A ocorrência de microrganismos patogênicos foi significativamente maior ($p = 0,0011$) nos animais criados em cativeiro, quando comparados aos animais de vida livre estudados. A *Salmonella* spp. apresentou maior ocorrência em relação aos demais microrganismos investigados, e a diferença foi altamente significativa ($p = 0,0005$).

A maior ocorrência de microrganismos nos animais de cativeiro sugere que esse ambiente seja mais propício à introdução

e multiplicação desses agentes. Isso pode ser favorecido em função de o cativeiro ser um Zoológico onde os animais ficam expostos ao trânsito constante de pessoas e manuseio frequente dos alimentos fornecidos pelos tratadores, o que concorda com o descrito por Adesiyun et al. (1998). No presente estudo, sugere-se que animais em cativeiro possam ser considerados reservatórios mais importantes de agentes infecciosos que os animais de vida livre. Desse modo, assim como os animais silvestres criados em cativeiro, os animais domésticos também atuam como reservatórios de doenças para animais de vida livre, o que discorda de Terborgh (1992), que pressupõe o contrário.

Os resultados positivos para *Salmonella* spp. nos animais de cativeiro sugerem a ingestão de alimentos contaminados, pois, segundo Shinohara et al. (2008), a rota oro - fecal é a via de transmissão desse agente. A ausência desse microrganismo em animais de vida livre possivelmente está relacionada ao fato de serem grupos populacionais menos expostos, por não viverem em regiões urbanizadas e não terem contato com animais domésticos, como, aves e suínos, os quais segundo Bessa et al. (2004) são uma das principais espécies envolvidas na proliferação do agente.

Pela reação em cadeia da polimerase, a presença de DNA de *Brucella abortus* tanto em animais de cativeiro como nos de vida livre demonstra a ampla disseminação do agente no ambiente, bem como o aspecto generalista dessa bactéria frente ao hospedeiro (KEUROGHLIAN & DESBIEZ, 2004). Ao se considerar que a população do zoológico está cativa há muitas gerações, sugere-se infecção crônica ou aquisição do agente dentro do próprio recinto, e os alimentos são possivelmente a fonte de infecção. Nesse caso, alimentos oriundos de vísceras de frigoríficos podem ser a possível fonte, de

infecção, uma vez que a eliminação desse agente ocorre pelo leite, urina e produtos abortivos de animais infectados (LORD & LORD, 1991). No entanto, capivaras são abrigadas em recinto vizinho ao desses animais e podem agir como uma fonte de infecção aos catetos e queixadas, com a possibilidade de transmissão entre essas espécies, já relatada por Lord & Lord (1991). Nos taiassuídeos de vida livre o contato com criações extensivas de bovinos pode ser uma provável fonte de infecção, pois os animais livres pertencem a uma região em que predomina esse tipo de atividade. A presença de *S. suis* em um dos animais de cativeiro confirma a susceptibilidade da espécie ao agente. Segundo Cloutir et al. (2003), esse microrganismo pode ser transmitido tanto de forma direta, quanto indireta e atuar como fonte de infecção para outros animais ou até mesmo para o ser humano. A existência de animal positivo para esse agente no cativeiro estudado deve ser motivo de preocupação entre os responsáveis pelo criadouro, visto se tratar de um microrganismo zoonótico (MARTEL et al., 2001). Entretanto a pequena porcentagem de animais acometidos por esse agente sugere que as condições favoráveis à sua multiplicação sejam efêmeras, o que segundo Staats et al. (1997), nos suínos, ocorre em casos de condições estressantes.

A não identificação de *Salmonella* spp, *Brucella abortus*, *Streptococcus suis* e circovírus suíno tipo 2 nas populações de taiassuídeos estudadas sugere que os mesmos não entraram em contato com o agente ou que não foram suscetíveis a esse vírus. Os taiassuídeos de vida livre são de uma região onde há predomínio de criação de bovinos, apesar de habitarem áreas que sobrepõem a do porco monteiro, mesma espécie do suíno doméstico, além de poderem ser considerados fontes em potencial de

infecção para taiassuídeos (DESBIEZ et al., 2004). Embora existam poucos estudos sobre a transmissibilidade de *Salmonella* spp, *Brucella abortus*, *Streptococcus suis* e circovírus suíno tipo 2 a outras espécies que não a suína, Cságola et al. (2008) demonstraram que a *Salmonella* spp, *Brucella abortus*, *Streptococcus suis* e circovírus suíno tipo 2 pode ser transmitido entre camundongos, quando inoculados intraperitonealmente ou pela via oral. Desse modo, não pode ser descartada a transmissibilidade entre outras espécies. Os taiassuídeos criados em cativeiro não possuem proximidade com suínos domésticos e javalis, de forma que não existe, portanto, contato direto com fontes de *Salmonella* spp, *Brucella abortus*, *Streptococcus suis* e circovírus suíno tipo 2, pois segundo Segalés et al. (2002) a transmissão da *Salmonella* spp, *Brucella abortus*, *Streptococcus suis* e circovírus suíno tipo 2 entre suínos ocorre mais comumente pela rota oro-nasal, além de poder ocorrer de forma vertical. A detecção de DNA dos microrganismos estudados em amostras de tonsila demonstra o estado de portador desses animais, o que, aliado ao fato da existência de escassos estudos com taiassuídeos, denota a necessidade de abrangência nessas pesquisas com destaque para o caráter zoonótico da maioria dos agentes pesquisados e da proximidade desses animais com homem, principalmente os mantidos em cativeiro.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pelo apoio financeiro. Às pesquisadoras Tatiana Pádua Tavares de Freitas e Alexine Keuroghlian pelo fornecimento das amostras de swab dos queixadas de vida livre.

REFERÊNCIAS

- ADESIYUN, A.A.; SEEPESADSINGH, N.; INDER, L.; CAESER, K. Some bacterial enteropathogens in wildlife and racing pigeons from Trinidad. **Journal of Wildlife Disease**, v.34, n.1, p.73-80, 1998. [[Links](#)].
- BESSA, M.C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.2, p.80-84, 2004. [[Links](#)].
- BRICKER, B.J.; HALLING, S.M. Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2 and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v.32, n.11, p.2660-2666, 1994. [[Links](#)].
- CORN, J.L.; LEE, R.M.; ERICKSON, G.A.; MURPHY, C.D. Serologic survey for evidence of exposure to vesicular stomatitis vírus, pseudorabies vírus, brucellosis and leptospirosis in collared peccaries from Arizona. **Journal of wildlife disease**, v.23, n.4, p.551-557, 1987. [[Links](#)].
- CLOUTIER, G.; D'ALLAIRE, S.; MARTINEZ, G.; SURPRENANT, C.; LACOUTURE, S.; GOTTSCHLK, M. Epidemiology of *Streptococcus suis* serotype 5 infection in a pig herd whit and without clinical disease. **Veterinary Microbiology**, v.97, p.135-151, 2003. [[Links](#)].
- CSÁGOLA, A.; CADAR, D.; TUBOLY, T. Replication and transmission of porcine circovirus type 2 in mice. **Acta Veterinaria Hungarica**, v.56, n.3, p.421-427, 2008. [[Links](#)].

DESBIEZ, A.; KEUROGHLIAN, A.; TOMAS, W. Projeto de ecologia e abundância de queixada, catetos e porcos-monteiros no Pantanal Brasileiro (MS): resultados preliminares. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 4., 2004, Corumbá, MS. **Anais...** Corumbá, MS, 2004. [[Links](#)].

FENAUX, M.; HALBUR, P.G.; GILL, M.; TOTH, T.E.; MENG, X.J. Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV-2) from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR-restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV-1 and PCV-2. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, p.2494-2503, 2000. [[Links](#)].

FURTADO, M.M., KASHIVAKURA, C.K. Artiodactyla-Tayassuidae e Suidae (cateto, queixada e javali). In. CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p.615-629. [[Links](#)].

KEUROGHLIAN, A.; DESBIEZ, A. **Funções ecológicas e a conservação dos catetos (*Tayassu tajacu*), queixadas (*Tayassu pecari*) e porco monteiros (*Sus scrofa*) no Pantanal da Nhecolândia**. Centro de Pesquisas de Conservação do Pantanal-Relatório Anual, 2004. p.94-113. Disponível em: <http://www.earthwatch.org/images/Pdfs/AboutUs/Conservation/2004_relatorio_anual_portuguese.pdf>. Acesso em: 11 out. 2008.

LIMA, J.F.S.; GUEDES, F.B.; SILVA, R.W.; HASS, I.; CAVALLI, I.J.; SILVA, J. FREITAS, T.R.; SBALQUEIRO, I.J. Unexpected chromosomal alterations in *Tayassu tajacu* (Artiodactyla: Tayassuidae) in captivity. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, p.10-13, 2004. [[Links](#)].

LORD, V.R.; LORD, R.D. *Brucella suis* infections in Collared Peccaries in Venezuela. **Wildlife Disease Association**, v.27, n.3, p.477- 481, 1991. [[Links](#)].

MAROIS, C.; BOUGEARD, S.; GOTTSCHALK, M.; KOBISCH, M. Multiplex PCR assay for detection of *Streptococcus suis* species and serotypes 2 e ½ in tonsils of live and dead pigs. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, p.3169-3175, 2004. [[Links](#)].

MARTEL, A.; BAELE, M.; DEVRIESE, L.A.; GOOSSENS, H.; WISSELINK, H.J.; DECOSTERE, A.; HAESBROUCK, F. Prevalence and mechanism of resistance against macrolides, and lincosamides in *Streptococcus suis* isolates. **Veterinary Microbiology**, v.83, p.287-297, 2001. [[Links](#)].

MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinária, farmacologia e técnicas**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2003. 326p. [[Links](#)].

NOGUEIRA-FILHO, S.L.G.; NOGUEIRA, S.S.C. Criação comercial de animais silvestres. **Revista econômica do nordeste**, v.31, n.2, p.188-195, 2000. [[Links](#)].

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. **Molecular Cloning - A Laboratory Manual**. New York, 2001, 694p. [[Links](#)].

SEGALÉS, J.; DOMINGO, M. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. A review. **Veterinary Quarterly**, v.24, n.3, p.109-124, 2002. [[Links](#)].

SHINOHARA, N.K.S.; BARROS, V.B.; JIMENEZ, S.M.C.; MACHADO, E.C.L.; DUTRA, R.A.F.; LIMA-FILHO, J.L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimento. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.13, n.5, p.1675-1683, 2008. [[Links](#)].

STAATS, J.J.; FEDER, I.; OKWUMABUA, O.; CHENGAPPA, M.M. *Streptococcus suis*: past and present. **Veterinary Research Communications**, v.21, p.381-407, 1997. [[Links](#)].

SUH, K. D.; SONG, C. J. Prevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and *Salmonella* in swine herds. **Journal Veterinary Science**, v.6, p.289-293, 2005. [[Links](#)].

TERBORGH, J. Community aspects of frugivory in tropical forest. In: ESTRADA, A.; FLEMING, T.H. (Eds.). **Frugivory and seed dispersal**. Dordrecht: W. Junk Publisher, 1992. 392p. [[Links](#)].

WOBESER, G. Disease Management strategies for wildlife. **Review Science Technical Office International epizootic**, v.21, n.1, p.159-178, 2002. [[Links](#)].

Data de recebimento: 27/08/2009

Data de aprovação: 17/08/2010