

EXPERIÊNCIAS DE CAMPO COM PORCILIS® ILEITIS: A NOVA FERRAMENTA PARA CONTROLAR A *Lawsonia intracellularis*

BRAD THACKER, DVM, PHD; GREG ARMBRUSTER, DVM; ANGELA BAYSINGER, DVM, MS; JUSTIN CAGLE, DVM; KIMBERLY CRAWFORD, DVM, MS; JACK CREEL, DVM; ROBYN FLECK, DVM; KELLY GREINER, DVM; MEGAN INSKEEP, DVM; DOUG KING, DVM; KAREN LEHE, DVM; JOE RÖDER, DVM, PHD; CHANNING SEBO, DVM

INTRODUÇÃO

Porcilis® Ileitis foi introduzida no mercado Norte Americano no final de 2015 visando auxiliar no controle da ileíte causada pela *Lawsonia intracellularis* (Li), ajudando na redução da colonização e redução da duração da excreção fecal da Li. Desde então, a MSD Saúde Animal com sua equipe de serviços técnicos, realizou vários estudos de campo e estudos de diagnóstico para entender profundamente como utilizar a vacina Porcilis® Ileitis de forma eficaz. Estas atividades foram centradas em estratégias de diagnóstico sorológico e diagnóstico molecular para compreender o padrão de infecção em um rebanho, para avaliar as respostas de anticorpos após a vacina e exposição, e também para supervisionar o nível de excreção fecal, com o intuito de determinar se o programa indicado de vacinação controla de maneira eficaz a infecção pela *Lawsonia intracellularis*.

Os estudos para o registro de Porcilis® Ileitis demonstraram a indução de resposta de anticorpos quantificáveis depois da administração de uma única dose de 2 mL intramuscular.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados foram obtidos de três estudos de campo realizados desde que a vacina Porcilis® Ileitis foi comercialmente disponibilizada.

ESTUDO 1 – Esta prova foi um estudo transversal de uma unidade de terminação infectada com *L. intracellularis*, contendo múltiplos galpões com uma semana de produção cada um.

Coletaram-se swabs com fezes, sangue e fluidos orais no mesmo dia, em suínos de 4 semanas de idade (1 semana depois do desmame), e na sequência houve outras coletas com 4 semanas de intervalo até os animais completarem 23 semanas de idade (tabela 1). Dentro de cada grupo de idade, os swabs fecais foram coletados de 5 suínos alojados em 6 galpões e examinados por reação em cadeia da polimerase (PCR) em uma mistura de 5 amostras por baía. Coletaram-se fluidos orais (1 por baía) e soro (5 suínos por baía) das mesmas baias e examinaram individualmente mediante PCR e ELISA, respectivamente.

ESTUDO 2 – Este estudo comparou as duas provas sorológicas disponíveis comercialmente, IPMA (*ensaio de imunoperoxidase em monocamada*) e ELISA (*ensaio de imunoabsorção enzimática*). Amostras de soro (n=173) utilizadas para essa comparação foram coletadas de suínos de diferentes idades que foram vacinados com Porcilis® Ileitis seguindo as instruções da etiqueta e logo naturalmente expostos a *L. intracellularis*.

ESTUDO 3 – Para este estudo, obteve-se swabs com fezes e soro de um estudo de campo de vacinação-desafio.

ESTUDO 1:

TABELA 1 - Estudo transversal de uma unidade de terminação endemicamente infectada com *L. intracellularis*, contendo suínos de múltiplas idades não vacinados.

	RESULTADOS PCR				RESULTADOS ELISA	
	Pool de fezes (5 por mistura)		Fluidos orais		Nº positivos	% inibição média
	Nº positivos	Média CT	Nº positivos	Média CT		
4	0/6	> 40,0	1/6	40,0	1/30	-1,9
7	0/6	> 40,0	3/6	37,9	0/30	-6,9
11	0/6	> 40,0	5/6	36,5	1/30	-1,6
15	5/6	36,5	6/6	26,8	10/30	19,4
19	2/6	38,7	6/6	29,0	30/30	59,4
23	1/6	39,9	6/6	27,0	30/30	53,2

CT: Ciclo limiar, do inglês: threshold cycle.

ESTUDO 2:

TABELA 2 – Comparação dos resultados positivo/negativo das provas IPMA e ELISA usando soros de suínos coletados em diferentes momentos depois da vacinação com **Porcilis® Ileitis** e exposição de campo.

n = 173	RESULTADOS DE IPMA		
	Positivo	Negativo	
Resultados ELISA	Positivo	44,5%	13,3%
	Negativo	17,3%	24,9%

ESTUDO 2:

TABELA 3 – Comparação de títulos de IPMA contra resultados positivo/negativo de ELISA e porcentagem de inibição usando soros de suínos coletados em diferentes momentos depois da vacinação com **Porcilis® Ileitis** e exposição de campo.

Nº mostras	Título de IPMA	RESULTADOS DE ELISA	
		% Positivo	% inibição média*
66	< 30 (negativa)	33,3%	22,5
20	30	90,0%	40,8
20	60	55,0%	37,0
32	120	59,4%	39,6
38	240	82,1%	50,1
7	> 480	85,7%	63,8

* Média do grupo

ESTUDO 3:

TABELA 4 – Resultados de sorologia – comparação de resultados positivo/negativo de ELISA e porcentagem de inibição entre suínos vacinados e não vacinados com **Porcilis® Ileitis** após a vacinação com 3 semanas de idade e posteriormente desafiados às 10 semanas de idade.

Idade em semanas	RESULTADOS DE ELISA			
	Controle		Porcilis® Ileitis	
	Nº positivos	% inibição*	Nº positivos	% inibição*
3 - Vacinação	0/15	< 0,0	0/31	< 0,0
6	0/12	< 0,0	3/17	22,5
10 - Desafio	0/15	< 0,0	27/31	52,7
14	12/15	70,2	28/31	74,1
18	15/15	75,6	31/31	96,1

* Média do grupo

ESTUDO 3:

TABELA 5 – Resultados de excreção fecal - Excreção fecal de *L. intracellularis* quantificada por qPCR em suínos vacinados com **Porcilis® Ileitis** com 3 semanas de idade comparados com suínos não vacinados após desafio com 10 semanas de idade.

Semanas pós-desafio	Controle			Porcilis® Ileitis			Porcentagem de redução*
	Nº positivos	Média de cópias por reação	Média de CT	Nº positivos	Média de cópias por reação	Média de CT	
1	13/14 ^a	15,170,510 ^c	27,3	27/31 ^a	6,939,084 ^c	29,3	54,3%
2	15/15 ^a	946,407,372 ^c	20,6	28/29 ^a	38,576,516 ^d	27,2	95,9%
3	15/15 ^a	674,620,463 ^c	20,9	28/31 ^a	1,609,289 ^d	29,9	99,8%
4	14/15 ^a	158,907,409 ^c	26,3	16/31 ^b	41,650 ^d	33,8	100,0%
5	15/15 ^a	8,013,974 ^c	28,2	16/31 ^b	39,837 ^d	33,7	99,5%
6	11/15 ^a	1,580,560 ^c	31,1	13/31 ^b	21,856 ^d	34,4	98,6%
7	8/15 ^a	41,128 ^c	33,6	3/30 ^b	15,013 ^d	34,8	63,5%
8	4/15 ^a	9,827 ^c	34,5	2/31 ^a	1,219 ^d	35,0	87,6%
Prom. 1-8	15/15 ^a	227,362,169 ^c	27,8	31/31 ^a	5,639,879 ^d	32,2	97,5%

*Baseado em dados qPCR

^{a,b} Os valores com diferentes superíndices dentro de uma fila foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) usando a prova exata de Fisher.

^{c,d} Os valores com diferentes superíndices dentro de uma fila foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) pelo Teste de Wilcoxon.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

ESTUDO 1 – Os achados do estudo transversal apresentados na Tabela 1. Detectou-se *L. intracellularis* nos fluidos orais em todas as idades, porém o nível da infecção aumentou consideravelmente entre as idades de 11 e 15 semanas e encontraram-se níveis similares entre as idades de 19 e 23 semanas de vida.

Em geral, as provas de ELISA e PCR de fluidos orais ao final do período de terminação podem ser utilizadas para caracterizar o estado da exposição a *L. intracellularis* nos suínos não vacinados.

ESTUDO 2 – Ainda que pareça haver alguma correlação entre as duas provas, a relação não é clara. O número e porcentagem de amostras que foram positivas ou negativas por cada prova se apresenta na Tabela 2.

ESTUDO 3 – Os resultados do estudo de vacinação a campo estão apresentados nas tabelas 4 (sorologia) e 5 (excreção fecal). As provas de fluido oral (dados não apresentados) indicaram que os suínos não estiveram expostos a *L. intracellularis* antes do desafio. Portanto, as respostas de anticorpos observados nos suínos vacinados com **Porcilis[®] Ileitis** se devem somente à vacinação.

Os dados gerados no estudo 3 corroboram a afirmação de que **Porcilis[®] Ileitis** ajuda na redução da duração de excreção fecal. O início da proteção proporcionado pela **Porcilis[®] Ileitis**, após o desafio, foi relativamente rápido no sentido que os níveis de excreção fecal reduziram-se em mais de 50% na semana do desafio e entre 95-100% a partir das semanas 2 a 6 depois do desafio.

Posteriormente, os níveis nos suínos controle diminuíram mais rapidamente que nos suínos vacinados, resultando em reduções percentuais de 63,5% e 87,2% nas semanas 7 e 8 depois do desafio, respectivamente.

Em resumo, os dados apresentados aqui proporcionam a informação de suporte para o desenvolvimento de estratégias de diagnóstico que permitam o uso efetivo de **Porcilis[®] Ileitis** para o controle da *L. intracellularis*.

O mais importante, a vacinação com Porcilis[®] Ileitis reduziu consideravelmente os níveis de excreção fecal nos suínos diretamente desafiados com *L. intracellularis*.

REFERÊNCIAS

1. Roerink, F., Morgan, C., Knetter, S., Thacker, B., Strait, E. Porcilis[™] Ileitis: 20 semanas de la duración de la inmunidad contra el desafío con *Lawsonia intracellularis*. En: Memorias de la 46a. Reunión Anual de la Asociación Americana de Veterinarios de Cerdos, New Orleans, Luisiana, 2016, pp. 144-145.

2. Roerink, F., Morgan, C., Knetter, S., Segers, R., Strait, E. Eficacia de Porcilis Ileitis en condiciones de campo, evaluada en modo de desafío experimental. En: Memorias del 24o. Congreso de la Asociación Internacional de Veterinarios de Cerdos, Dublín, Irlanda, 2016, p. 223.

3. Dados de arquivos.