

SANIDADE E PRODUÇÃO SUÍNA:

ATUALIZAÇÃO, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

Sanidade e Produção Suína: Atualização, Inovação e Tecnologia



Jaboticabal, São Paulo

2020

Sanidade e Produção Suína: Atualização, Inovação e Tecnologia

Copyright©: Fundação de Apoio à Pesquisa, Ensino e Extensão - Funep

Editoração e Impressão Gráfica:

Funep

Editores

Giovani Marco Stingelin
Luís Guilherme de Oliveira
Vítor Montenegro Franceschini

Capa, Projeto e Editoração Gráfica

André Luis Guillarduci

Revisão Linguística

Mayra Cive

S859s Stingelin, Giovani Marco
Sanidade e produção suína : atualização, inovação e tecnologia
/ Giovani Marco Stingelin, Luís Guilherme de Oliveira, Vítor
Montenegro Franceschini. -- Jaboticabal : Funep, 2020
xii, 126 p. : il.

Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5671-015-0

1. Suinocultura. 2. Doenças entéricas. 3. Doenças respiratórias. 4.
Resumos. 5. Farmataks. I. Oliveira, Luís Guilherme de. II. Franceschini,
Vítor Montenegro. III. Título.

CDD 636.4

Ficha catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Câmpus de Jaboticabal/SP - Karina Gimenes Fernandes - CRB 8/7418

Sanidade e Produção Suína: Atualização, Inovação e Tecnologia

Editores

Giovani Marco Stingelin

Luís Guilherme de Oliveira

Vítor Montenegro Franceschini

Realização



Farmabase

Apoio



Prefácio

É com enorme satisfação que escrevo o prefácio dessa obra intitulada “Sanidade e Produção Suína: Atualização, Inovação e Tecnologia”. Como evidenciado no título, este conjunto de textos científicos trazem informações práticas e relevantes, suportando os líderes na suinocultura a tomar decisões baseadas em evidência. Essas decisões naturalmente resultarão em impacto positivo na saúde, bem-estar, e produtividade de populações de suínos.

Os textos foram escritos por líderes globais em sanidade, epidemiologia, e produtividade de suínos, sumarizando o conteúdo de suas respectivas explanações na Conferência FarmaTalks® Swine 2020. A conferência agregou mais de 6.200 participantes, representando boa parte da suinocultura global. A Farmabase, organizadora do FarmaTalks®, executou o programa sem fins lucrativos, focando na disseminação de conteúdo científico de valor prático para veterinários, zootecnistas e produtores de suínos. Os patrocinadores do evento doaram alimentos (ao invés de valores monetários) para instituições de caridade.

Concluindo, o alto valor científico deste material, e a nobreza da organização do evento gerando e distribuindo conhecimento de maneira beneficente fazem desta obra uma verdadeira inovação, elevando padrões de conferências globais na suinocultura.

Desejo a todos uma bela leitura. Sugiro ler com papel e caneta ao lado, porque tem muita informação rica e inovadora que você vai querer anotar!

Atenciosamente,

Daniel Linhares
Iowa State University
Ames, Iowa, EUA

Editores



Giovani Marco Stingelin

Médico Veterinário graduado pela Universidade Federal do Paraná - Câmpus Palotina (2006). Possui Especialização em Higiene e Processamento de Produtos de Origem Animal pela UFPR - câmpus Palotina (2009), possui MBA em Gestão Estratégica do Agronegócio pela Fundação Getúlio Vargas (FGV) (2013). Mestre em Medicina Veterinária na Área de Clínica Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, câmpus de Botucatu (2015 -2016). Doutorando da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade "Júlio de Mesquita Filho", UNESP - Jaboticabal-SP. Atuou na agroindústria durante sete anos entre 2006 e 2013, como gerente de agropecuária e fomento, ingressou na indústria farmacêutica veterinária em 2014, na Farmabase Saúde Animal, onde atualmente é Gerente Técnico de Suinocultura e Avicultura.



Luís Guilherme de Oliveira

Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná - Câmpus Palotina (2004), mestrado (2008) e doutorado (2011) em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - FCAV / UNESP de Jaboticabal-SP. Exerceu atividade profissional na assistência técnica de suinocultura em agroindústria integradora e com defesa sanitária animal no serviço público estadual. Atualmente é professor na UNESP de Jaboticabal-SP na área de clínica médica de suí-

nos, responsável pelo Laboratório de Medicina de Suínos e orientador de alunos no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (FCAV / UNESP) com ênfase nas pesquisas sobre doenças dos suínos.



Vitor Montenegro Franceschini

Médico Veterinário, graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - campus Botucatu (2003), tendo MBA Executivo em Marketing pela Escola Superior de Propaganda e Marketing - ESPM (2006) e MBA Executivo em Administração pela Fundação Dom Cabral (2018). Atua na indústria farmacêutica veterinária ligada à suinocultura e avicultura desde 2003, tendo exercido funções executivas nas empresas Pfizer Saúde Animal como gerente de produtos da linha de suínos e atualmente é diretor na empresa Farmabase Saúde Animal.

Colaboradores

Alejandro Ramirez

Iowa State University
Estados Unidos da América

Alex Peralta

Scuderia Marketing and Distribution
Corporation
Filipinas

Conny Turni

The University of Queensland
Austrália

Daniel Linhares

Iowa State University
Estados Unidos da América

Derald Holtkamp

Iowa State University
Estados Unidos da América

Dominiek Maes

Ghent University
Bélgica

Jeremy Pittman

Smithfield Hog Production
Estados Unidos da América

Joaquim Segales

Universitat Autònoma de Barcelona
Espanha

Luiz Felipe Caron

Universidade Federal do Paraná
Brasil

Montserrat Torremorell

University of Minnesota
Estados Unidos da América

Nathan L. Winkelman

Swine Services Unlimited
Estados Unidos da América

Rafael Frandoloso

Universidade de Passo Fundo
Brasil



Sumário

01. SAÚDE RESPIRATÓRIA

<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> : controle ou erradicação?	03
O que devemos saber sobre PCV-2 / PCV-3 em 2020?	05
<i>Glaesserella australis</i> : outro patógeno com o qual devo me preocupar?	11
Influenza suína: como minimizar o impacto desse patógeno?	17
<i>Glaesserella parasuis</i> : como manter esse patógeno sob controle nas granjas?	25
PRRS: medidas para minimizar o risco de introdução desta doença no rebanho.....	45

02. SAÚDE ENTÉRICA

Rotavírus: Como controlar os diferentes sorotipos - experiência norte-americana.....	55
Estratégias para prevenir e controlar a enteropatia proliferativa (Ileíte)	65
Diferença entre imunidade lactogênica e colostrar: imunologia entérica prática	71
Diarreia pós-desmame e a relação com a saúde intestinal do leitão.....	81
Impacto econômico das doenças entéricas	91

03. PESTE SUÍNA AFRICANA

Peste suína africana (PSA): o impacto e como prevenir a introdução dessa enfermidade no rebanho.....	99
--	----

04. INOVAÇÃO E PESQUISA: RESUMOS DOS TRABALHOS APRESENTADOS EM SAÚDE RESPIRATÓRIA

Fatores de risco para pleurite em suínos no abate.....	107
Desenvolvimento de vacina oral para imunização de leitões contra <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	111

Por que a aclimação de leitões deve ser feita para controlar <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> ?.....	113
Etiologia de pneumonias em suínos abatidos no estado do Rio Grande do Sul.....	115

05. INOVAÇÃO E PESQUISA: RESUMOS DOS TRABALHOS APRESENTADOS EM SAÚDE ENTÉRICA

Caracterização dos surtos de salmonelose em suínos no Brasil.....	119
Prevenção da diarreia neonatal por <i>Clostridium difficile</i> por exclusão competitiva.....	121
<i>Lawsonia intracellularis</i> : mecanismos de invasão celular e permissibilidade de macrófagos.....	123
Efeito da co-infecção de <i>Lawsonia intracellularis</i> e <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	125

01

Saúde Respiratória



Mycoplasma hyopneumoniae: controle ou erradicação?

Dominiek Maes

EBVS® European Veterinary Specialist in Porcine Health Management
Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University Belgium

O *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*) é o patógeno primário da pneumonia enzoótica, uma doença respiratória crônica em suínos, e um dos principais agentes envolvidos no complexo das doenças respiratórias dos suínos (CDRS). As infecções ocorrem em todo o mundo e causam grandes perdas econômicas para a suinocultura. As perdas devem-se principalmente aos custos de tratamento e vacinação, diminuição do desempenho e aumento da mortalidade em caso de infecções concomitantes. O microorganismo é encontrado principalmente na superfície da mucosa da traqueia, brônquios e bronquíolos, e o contato próximo entre suínos infectados e suscetíveis é a principal via de transmissão.

O aprimoramento das práticas de manejo é primordial no controle de infecções por *M. hyopneumoniae*. O que inclui produção com sistema *all-in/all-out*, adequada aclimação de leitões, estabilização da imunidade do rebanho, manutenção de densidades populacionais em níveis ideais, prevenção de outras doenças respiratórias e condições ideais de alojamento e clima. A introdução de marrãs livres *M. hyopneumoniae* em granjas infectadas endemicamente representa um desafio significativo para as marrãs de reposição e para as matrizes do rebanho. As marrãs livres podem ser expostas a reprodutoras positivas, podendo se infectar e, subsequentemente, transmitir o patógeno aos leitões recém-nascidos. As matrizes que já estão presentes no rebanho podem potencialmente se (re) infectar, gerando desequilíbrios de infecção no rebanho. Para evitar esses problemas, as marrãs de reposição devem ser devidamente vacinadas antes de se juntarem ao rebanho de matrizes. Outra possibilidade é expor propositalmente as marrãs de reposição ainda durante seu desenvolvimento ao *M. hyopneumoniae*, com o objetivo de que as marrãs se recuperem e tornem-se imunes antes de dar entrada ao rebanho de matrizes, para que não estejam mais excretando a bactéria. Estudos preliminares mostraram que a seleção para resistência à doença pode ser útil no controle de infecções por *M. hyopneumoniae*, embora os efeitos positivos não sejam consistentes. Medicação estratégica em rebanhos infectados de forma crônica também tem sido usada para controlar infecções por *M. hyopneumoniae*. A medicação por longos períodos e/ou preventiva, entretanto, deve ser desencorajada devido

ao elevado risco de desenvolvimento de resistência antimicrobiana. As vacinas atualmente disponíveis reduzem os sinais clínicos e as lesões pulmonares, melhoram o desempenho, reduzem a carga bacteriana no trato respiratório e diminuem o nível de infecção no rebanho. Portanto, elas costumam ser vantajosas economicamente. No entanto, a vacinação confere apenas uma redução limitada da taxa de transmissão de *M. hyopneumoniae*. Deve ser dado continuidade às pesquisas para desenvolver novas vacinas que conferem imunidade protetiva e reduzem a transmissão.

O sucesso na eliminação de *M. hyopneumoniae* de rebanhos suínos foi relatado e vários protocolos têm sido desenvolvidos. A eliminação de *M. hyopneumoniae* de rebanhos comerciais, seja isoladamente ou em associação à eliminação de outros patógenos, pode ser uma boa opção para algumas propriedades. São necessárias pesquisas adicionais para refinar os protocolos quanto a praticidade e aplicabilidade em combinação com programas de eliminação para outras doenças.

Leitura adicional: Livro *Mycoplasmas in Swine*:

<https://www.acco.be/en/items/9789463797962/Mycoplasmas-in-Swine>

O que devemos saber sobre PCV-2 / PCV-3 em 2020?

J. Segalés

Centre de Recerca en Sanitat Animal (IRTA-CReSA) and Dept. Sanitat i Anatomia Animals, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra, Spain

Os circovírus suínos (PCVs) são pequenos vírus de DNA e, até agora, possuem quatro representantes, PCV-1, PCV-2, PCV-3 e, provisoriamente, PCV-4. O PCV-1 é conhecido como não patogênico para suínos, enquanto o PCV-2 foi associado a várias condições conhecidas como doenças do circovírus suíno (PCVDs). PCVDs incluem doença sistêmica por PCV-2 (PCV-2-SD), doença reprodutiva por PCV-2 (PCV-2-RD), síndrome da dermatite e nefropatia suína (PDNS), além de infecção subclínica por PCV-2 (PCV-2-SI). O PCV-2-SI é provavelmente a causa das maiores perdas econômicas para a suinocultura, devido ao efeito do vírus no ganho de peso médio diário. Em 2015, o PCV-3 foi descrito pela primeira vez em matrizes com falha reprodutiva e PDNS, bem como em suínos com inflamação multissistêmica. Desde então, muitas outras descrições da presença do vírus surgiram em suínos apresentando diversas doenças e até mesmo em animais saudáveis. O PCV-4 é o mais novo membro provisório da família *Circoviridae* e foi descrito em suínos exibindo sinais clínicos respiratórios e digestivos, bem como PDNS. Já se sabe que o PCV-1, o PCV-2 e o PCV-3 são patógenos onipresentes, enquanto o PCV-4 só foi detectado na China até o presente momento.

Circovírus suíno tipo 2 (PCV-2)

O PCV-2-SD é um processo multifatorial que pode ser controlado de forma eficiente por meio da vacinação para PCV-2. Antes da existência de tais produtos, tentava-se controlar a doença melhorando o efeito de fatores infecciosos e não-infecciosos desencadeadores do quadro clínico. No entanto, em meados de 2000, poucas vacinas apareceram no mercado de alguns poucos países e seu efeito na neutralização das perdas econômicas devido ao PCV-2-SD foi notável. Além disso, como essa enfermidade causava imunossupressão em suínos, a vacinação ajudou a controlar outros processos polimicrobianos nos quais o PCV-2 estava envolvido.

A maioria das vacinas comercializadas mundialmente nos dias atuais é baseada no genótipo PCV-2a (especialmente na Europa e nas Américas), em-

bora novos produtos baseados em outros genótipos estejam se tornando disponíveis. De um ponto de vista experimental, essas vacinas baseadas em PCV-2a podem neutralizar os efeitos da infecção de PCV-2b e PCV-2d, mas não se sabe realmente se essa proteção é igual independentemente do genótipo. Embora nos últimos anos alguns casos de PCV-2-SD tenham sido diagnosticados apesar da vacinação em leitões, acredita-se que esse cenário seja devido a desajustes do programa de vacinação, e não à falta de eficácia das vacinas comercializadas atualmente.

Quem deve ser vacinado contra o PCV-2? A vacinação de reprodutoras pode ter dois objetivos em potencial: 1) prevenir as doenças do circovírus suíno (PCVDs) na prole; ou 2) proteger contra a doença reprodutiva causada pelo PCV-2 (PCV-2-RD). No primeiro caso, a vacinação deve ocorrer no final da gestação, conforme preconizado pelos fabricantes das vacinas de PCV-2 destinadas a matrizes. Se o objetivo for prevenir o PCV-2-RD, a vacinação pode ser aplicada antes da copula, seja na lactação, no desmame para fêmeas primíparas ou mais velhas, ou ainda durante a aclimação em marrãs.

Uma segunda possibilidade seria optar pela vacinação dos leitões como forma de controlar os PCVDs na granja; na verdade, essa é de longe a prática mais comum. Sabe-se que o controle do PCV-2-SD nas granjas afetadas é mais rápido se a vacinação do leitão (ao invés da matriz) for realizada, observando-se um efeito positivo desde o primeiro lote vacinado. A principal razão é que a vacina aplicada em suínos é capaz de induzir respostas imunológicas protetoras no animal que posteriormente sofreria com a enfermidade.

Uma terceira opção é vacinar reprodutoras e os leitões. Existem vários relatos sobre os benefícios desse protocolo aos níveis produtivos e virológicos. Presumivelmente, reúne os benefícios do controle do PCVD na forma de “proteção contínua”, uma vez que fornece forte imunidade de rebanho pela vacinação de matrizes / marrãs, protege os leitões contra o desenvolvimento de PCV-2-SD e melhora o efeito da PCV-2-SI. A vacinação repetida das matrizes por ciclo também deve potencialmente beneficiar o resultado reprodutivo. Neste cenário de vacinação dupla, é importante levar em consideração a possível interferência da imunidade passiva sobre a eficácia da vacina contra o PCV-2 em leitões, uma vez que a ingestão de colostro fornece maiores quantidades de anticorpos contra o PCV-2. É verdade que os níveis de anticorpos maternos (MDA) devem ser muito elevados para comprometer os efeitos da vacinação contra o PCV-2 em leitões, pelo menos com as vacinas testadas até o momento. Seria interessante avaliar se isso ocorre com todas as vacinas do mercado. Esta situação está obviamente relacionada com o momento da vacinação dos leitões.

Vacinação contra o PCV-2 em um cenário epidemiológico em mudança

Durante os últimos anos, a alta pressão de vacinação exercida na população de suínos mundialmente implicou em uma mudança na epidemiologia

da infecção pelo PCV-2. Foi observado que após a vacinação repetida, as cargas virais diminuem com o tempo, a ponto de, em alguns casos, não haver detecção da circulação em suínos, o que pode implicar em certos lotes de suínos atingindo a idade de abate seronegativos. A princípio, isso é muito positivo, pois estamos quase eliminando os efeitos do vírus no crescimento, mas a situação pode ser diferente para aqueles animais que serão selecionados para reposição (marrãs e cachaços). Embora com baixa prevalência, o PCV-2 circula no plantel, e a introdução de marrãs livres no sistema aumenta a probabilidade de infecção desses animais e a perpetuação do PCV-2 no rebanho de reprodutoras. Nesse cenário, a probabilidade de infecção durante a gestação (principalmente em marrãs) é maior, assim como a proporção de leitões nascidos virêmicos e de infecção precoce na prole. Por sua vez, pode acontecer que vacinemos animais já infectados. Embora do ponto de vista experimental, os suínos virêmicos para PCV-2 vacinados contra o PCV-2 sejam capazes de enfrentar a infecção e reduzir a viremia e as lesões histopatológicas em comparação com um grupo virêmico não vacinado, a eficácia em condições de campo pode ser variável.

Ocorre “falha na vacinação”?

Durante os últimos anos, observou-se um aumento dos diagnósticos de PCV-2-SD em propriedades com leitões vacinados; a terminologia “falha na vacinação” foi usada para designar essas situações. O que provavelmente acontece nesses casos é que a vacinação no desmame pode não ser realizada em tempo hábil para o desenvolvimento de uma resposta imune induzida pela vacina antes da ocorrência da infecção natural, fazendo com que parte dos animais acabe desenvolvendo PCV-2-SD e não apenas a PCV-2-SI. As recomendações neste caso são: 1) realizar a vacinação das matrizes, tentando retardar a infecção natural por PCV-2; ou 2) vacinação precoce para PCV-2 (isto é, aos 10-15 dias de vida). Esta última opção deve ser associada a análises sorológicas indicando baixos níveis de anticorpos no momento da vacinação. Hoje em dia, acredita-se que os cenários de “falha da vacinação” (ou seja, diagnóstico inequívoco de PCV-2-SD em suínos vacinados) estão principalmente associados a um manejo vacinal inadequado (conservação, dose aplicada, etc.) e tempo de aplicação (muito precoce - potencial interferência com a imunidade materna ou no momento das infecções precoces; tarde demais - muito próximo da infecção natural ou em animais enfermos - isto é, viremia de PRRSV). Olhando para as principais causas da chamada “falha da vacinação”, nota-se que se trata mais de uma “falha humana” do que um problema de eficácia vacinal. Se uma suposta “falha de vacinação” ocorrerá no futuro devido a mutantes de escape de PCV-2, ainda será determinado.

Circovírus suíno 3 (PCV-3)

O PCV-3 é um vírus “antigo” recentemente descoberto que está disseminado tanto em suínos domésticos quanto em suínos selvagens (Javalis) e foi encontrado em várias espécies que não pertencem a família Suidae. Se essas espécies são totalmente suscetíveis à infecção e desempenham um papel na epidemiologia do vírus, ainda não foi determinado.

O PCV-3 pode ser encontrado em todas as idades em suínos domésticos e poucos animais podem sofrer de infecções persistentes. O vírus foi encontrado em diversas condições clínicas e patológicas, mas ainda não existe uma prova definitiva de sua patogenicidade. Apenas estudos recentes usando hibridização *in situ* forneceram uma pista sobre a causalidade da doença, uma vez que o DNA do PCV-3 foi encontrado em lesões inflamatórias de animais doentes. A frequência da doença causada pelo PCV-3 e em que condições ela ocorre ainda são questões importantes a serem respondidas.

A falta de isolados de vírus prontamente disponíveis até o momento para desenvolver um modelo de estudo em animal torna difícil o progresso em direção à geração de conhecimento básico sobre a patogênese e imunidade do PCV-3. É muito provável que esses aspectos sejam resolvidos em um futuro próximo, mas eles vão depender do empenho das pesquisas dedicadas a esse novo agente patogênico nos próximos anos. Além disso, dependendo do impacto demonstrado do PCV-3 na saúde dos suínos, o desenvolvimento de uma vacina pode ocorrer.

Circovírus suíno tipo 4 (PCV-4)

O PCV-4 ainda representa um grande ponto de interrogação para a suinocultura. Até o momento, só foi encontrado na China, em animais com lesões compatíveis com PDNS e distúrbios reprodutivos de algumas propriedades. Se este vírus foi encontrado nessas circunstâncias por acaso ou está relacionado com a causalidade da enfermidade, ainda não se sabe. Recentemente, um estudo realizado na Itália e na Espanha usando um número limitado de amostras de suínos demonstrou que não foi possível detectar o genoma de PCV-4. Portanto, a distribuição do vírus em todo o mundo também é outra incógnita.

Conclusões

Entre os circovírus suínos, o PCV-2 ainda é o mais importante do ponto de vista econômico, bem como o único que sem dúvidas está associado com a doença. Portanto, a vacinação contra esse vírus é um elemento importante para o manejo da saúde dos suínos nas propriedades atuais.

As vacinas para PCV-2 ainda representam a melhor opção para o controle de PCVDs em todo o mundo. No entanto, a alta pressão vacinal exercida nos últimos 10 anos tem implicado em uma mudança na epidemiologia dessa infecção viral, fato que deve ser contrabalançado determinando o melhor momento de vacinação dos animais. Portanto, o monitoramento da infecção por PCV-2 está se tornando uma pedra angular para a prevenção e controle de PCVD. Além disso, a abordagem diagnóstica clássica de PCV-2-SD (histopatologia e detecção viral em tecidos) está aumentando em quadros de suspeita de “falha de vacinação”. Por outro lado, o PCV-3 é um agente infeccioso sem evidências claras de causalidade com a ocorrência de doença, portanto, mais estudos são necessários para associar de forma inequívoca o quadro clínico à infecção. Até agora, sua associação com doenças reprodutivas parece ser o elo mais forte. Por fim, o PCV-4 é um circovírus suíno recentemente descoberto e, até agora, informações mínimas estão disponíveis a respeito dele. Ainda não se sabe se participa ou não de alguma causalidade de enfermidade. Além disso, sua distribuição em todo o mundo também é desconhecida.

Glaesserella australis: outro patógeno com o qual devo me preocupar?

Conny Turni

Queensland Alliance for Agriculture and Food Innovation,
The University of Queensland, Queensland, Australia

A família *Pasteurellaceae* abrange uma variedade de bactérias hemofílicas que colonizam o trato respiratório superior dos suínos. Os mais importantes são *Actinobacillus pleuropneumoniae* e *Glaesserella (Haemophilus) parasuis*. Alguns dos patógenos hemofílicos secundários são *Actinobacillus indolicus*, *A. minor / porcitosillarum* e *A. porcinus*. A esta lista, agora devemos adicionar uma nova espécie *Glaesserella australis*.

Esta nova espécie foi inicialmente reconhecida como sendo diferente quando observamos os 37 isolados por meio da análise de sequenciamento multilocus usando três genes (*recN*, *rpoA* e *thdF*) de acordo com o protocolo de Kuhnert e Korczak (2006), e descobrimos que 17 isolados pertenciam a uma nova espécie.

Outros isolados foram coletados até concluirmos com 29 isolados de 14 propriedades (propriedades de criação ao ar livre, e propriedades convencionais). Esses isolados foram analisados fenotipicamente e genotipicamente (Turni et al 2020).

A comparação da similaridade da sequência do gene 16S rRNA de *G. australis* e outros membros da família *Pasteurellaceae* revelou que *G. australis* era mais semelhante a *Glaesserella (Haemophilus) parasuis* e *Actinobacillus indolicus*.

A análise fenotípica revelou que *G. australis* é um micro-organismo satélite, não hemolítico, gram negativo, catalase negativo, oxidase positivo (fracamente), indol positivo e urease negativo. As características distintivas são reações catalase negativas e indol positivas. *G. parasuis* e *A. indolicus* são catalase positivos e *G. parasuis* é indol negativo, enquanto *A. indolicus* é indol positivo. A fermentação do açúcar também mostra diferenças para *G. australis* com reações positivas para a fermentação de D - (+) Galactose, D - (+) Trealose e D - (-) Arabinose (Tabela 1).

Os isolados de *G. australis* são provenientes de pequenas e grandes pro-

Tabela 1. Padrões de fermentação de açúcar de bactérias hemofílicas e não-hemolíticas associadas ao trato respiratório de suínos.

Espécies	D-(+) Galactose	D-(+) Trealose	D-(-) Arabinose
<i>A. indolicus</i>	-	-	+
<i>G. parasuis</i>	W+	-	-
<i>G. australis</i>	+	+	+

priedades comerciais, de propriedades de criação ao ar livre e convencionais, de propriedades de criação *indoor* e *outdoor*. Algumas propriedades apresentavam outros patógenos (*A. pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Truperella pyogenes*, *G. parasuis* ou *Streptococcus suis*). Outras propriedades não apresentavam outros patógenos respiratórios.

Dois cenários de apresentação de sinais da doença foram observados:

1) A maioria das propriedades não apresentavam sinais de doenças respiratórias. No entanto, no abatedouro, observou-se maior pleurisia, lesões pulmonares e abscessos pulmonares. Uma das propriedades nesta situação tinha boa qualidade do ar com progênie criada em galpões forrados com palha e eram livres de *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* e de parasitas internos e externos. Esta propriedade após a identificação de *G. australis* em sua granja, forneceu antibióticos especificamente direcionados a *G. australis*. Esse tratamento promoveu redução da prevalência de lesões pulmonares de 40% para 23%, menor ocorrência de abscessos pulmonares (**Figura 1**) de 22,5% para 13,5%, menor ocorrência de pleurisia de 13,8% para 11,5% e também ausência de cardiopatia, que antes era de 2% associada aos abscessos pulmonares e pleurisia (todas as observações no abatedouro).

2) O outro cenário era o de morte na propriedade. Amostras de suínos mortos de duas criações foram enviadas para o isolamento e identificação. Uma propriedade tinha suínos mortos com 12, 16 e 20 semanas de idade com lesões que afetavam até 50% do pulmão, sem abscessos expressivos ou pleurisia. As observações na propriedade foram de suínos mortos com extremidades arroxeadas com broncopneumonia multifocal necrosante e fibrinossupurativa, necrose rápida ou autólise da área pulmonar afetada, que era de 50% do pulmão com lesões pulmonares dorsais consolidadas (**Figura 2**). Em um desses casos, obtivemos uma cultura pura de *G. australis*.

A outra propriedade não medicou os suínos e observou tosse, taxa de crescimento mais lenta e aumento da taxa de mortalidade na fase de crescimento por volta de 12 a 14 semanas (**Figura 3**).

Em outro caso, coletamos amostras de 15 pulmões e isolamos *G. australis* de seis dos pulmões, que resultaram em cultura pura de *G. australis*. A observação geral é que muitas das lesões se assemelhavam às lesões de *A. pleuropneumoniae* (**Figura 4**).

Desenvolvemos um PCR multiplex para identificar os três prin-



Figura 1. Abscesso encapsulado crônico nos lobos pulmonares sem necrose ou hemorragia aparente.



Figura 2. Suínos encontrados mortos com extremidades arroxeadas, com lesões pulmonares com autólise ou lesões de necrose rápida e pneumonia fulminante.

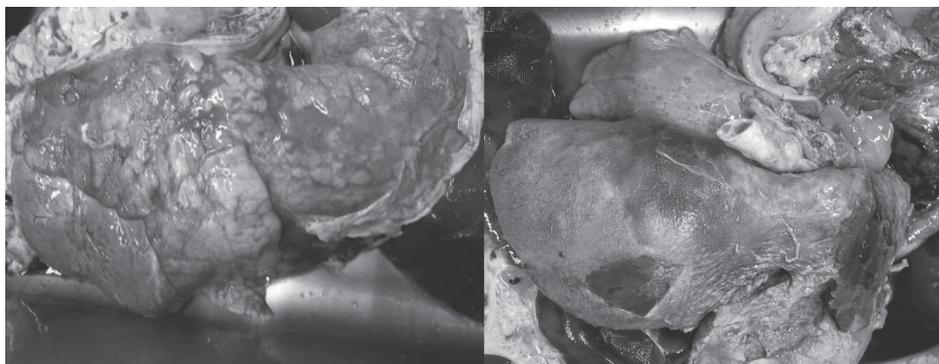


Figura 3. Pulmões de suínos de 12 a 14 semanas que morreram na propriedade.

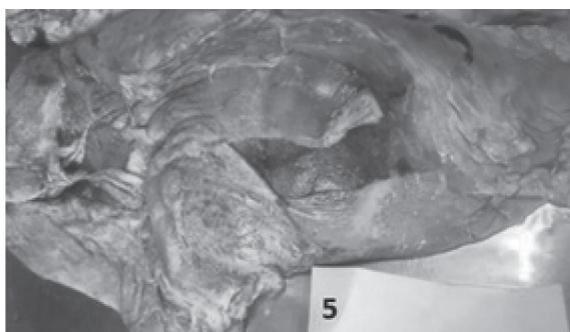


Figura 4. Lesão a partir da qual *G. australis* puro foi cultivado.

cipais patógenos bacterianos respiratórios que afetam suínos na faixa etária de 12 a 20 semanas, que são *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* e *G. australis*.

Para entender o impacto de ainda outro patógeno, temos que olhar para outro estudo. Há alguns anos, fizemos um estudo a respeito de suínos com pleurisia no abatedouro. Amostras

mos pulmões com pleurisia de 46 lotes, com cada lote representando uma propriedade. De cada lote, amostramos cinco pulmões (se pudéssemos encontrar 5 pulmões com pleurisia) e investigamos os patógenos bacterianos respiratórios e o único patógeno viral com consequências na Austrália, que é o PCV2.

Encontramos patógenos sinérgicos: 34 propriedades com *Mycoplasma hyopneumoniae* e 31 propriedades com PCV2. Havia também outros patógenos primários: *A. pleuropneumoniae* em sete propriedades e *Glaesserella parasuis* de uma propriedade.

A abundância de patógenos secundários foi impressionante com 38 propriedades com *Streptococcus suis*, 29 com espécies de *Actinobacillus* (não *A. pleuropneumoniae*), 24 propriedades com *P. multocida* (embora *P. multocida* também possa ser um patógeno primário (de Oliveira et al 2018)), *M. flocculare* em nove propriedades, *M. hyorhinis* em quatro, uma com *S. porcinus* e outra com *S. minor*.

Para seis patógenos, houve evidência de uma associação entre mais patógenos presentes e a categoria de pleurisia (> 10% de pleurisia). Não encontramos uma ligação clara entre alguns patógenos e alta pleurisia. A alta porcentagem de propriedades com patógenos sinérgicos é importante, combinada com o achado de alta prevalência de patógenos secundários.

Estudos demonstraram que o PCV2 pode reduzir a imunidade adquirida para outros patógenos e, portanto, promover a coinfeção com patógenos secundários, pleurisia e lesões pulmonares (Opriessnig et al 2011; Wellenberg et al 2010). Ambos os patógenos sinérgicos identificados em nosso estudo, *M. hyopneumoniae* e PCV2, foram demonstrados como causa de aumento na gravidade da doença respiratória (Opriessnig et al 2011).

Nem todas as granjas com alta pleurisia apresentavam uma combinação de patógenos, o que aponta para outros fatores contribuintes, tais como: parasitas e fatores extrínsecos a infecção como ambiente, manejo, uso de antibióticos e fatores individuais dos suínos.

Estudos têm demonstrado que os parasitas podem afetar a resposta imune à vacinação e desafio com relação ao *M. hyopneumoniae* (Steenhard et al 2009).

A poluição do ar devido à amônia e partículas que têm um efeito negativo no sistema respiratório e, portanto, menos resistência a problemas respiratórios tem sido bem documentada (Banhazi 2013).

Os maiores fatores de risco são produções que não aplicam o sistema *all-in all-out*. Os sistemas em que os suínos com uma diferença de idade de mais de um mês são criados no mesmo ambiente e onde os suínos são frequentemente misturados são reconhecidos como problemáticos (Eze et al 2015; Merialdi et al 2011).

Portanto, embora tenhamos acabado de descobrir um novo patógeno, eu pessoalmente não acho que as coisas mudaram, apenas nos tornamos melhores em isolar patógenos e identificá-los como novos patógenos. Suspeitamos que haja ainda outros novos patógenos, como indica nossa pesquisa preliminar.

Resumo

Acredito que precisamos focar em:

- Controlar os patógenos que estabelecem sinergia;
- Controlar outros fatores por meio do manejo;
- Melhorar o sistema imunológico e promover uma microbioma respiratória saudável;
- Repensar o uso de antibióticos.

Referências bibliográficas

- Banhazi T. (2013) Environmental and management effects associated with improved production efficiency in a respiratory disease free pig herd. In: A. Aland and T. Banhazi (Eds.), *Livestock housing: Modern management to ensure optimal health and welfare of farm animals*. DOI: http://dx.doi.org/10.3920/978-90-8686-771-4_pp297-314
- de Oliveira Filho J.X., Morés M.A.Z., Rebellato R. *et al.* Pathogenic variability among *Pasteurella multocida* type A isolates from Brazilian pig farms. *BMC Veterinary Research* 2018; 14:244.
- Eze JI, Correia-Gomes C, Borobia-Belsue J, Tucker AW, Sparrow D, Strachan DW, Gunn GJ Comparison of respiratory disease prevalence among voluntary monitoring system for pig health and welfare in the UK. *PLOS One* 2015; 10:e0128137.
- Kuhnert P, Korczak BM. Prediction of whole-genome DNA–DNA similarity, determination of G+C content and phylogenetic analysis within the family *Pasteurellaceae* by multilocus sequence analysis (MLSA). *Microbiology* 2006; 152:2537–2548.
- Merialdi, G., Dottori, M., Bonilauri, P., Luppi, A., Gozio, S., Pozzi, P., Spaggiari, B. And Martelli, P. Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors. *The Veterinary Journal* 2011; 193:234 – 239.
- Opriessnig T, Gimenez-Lirola LG, Halbur PG. Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Animal Health Research Reviews* 2011; 12:133–148.
- Steenhard N.R., Jungersen G., Kokotovic B., Beshah E., Dawson H.D., Urban Jr J.F., Roepstorff A. and Thamsborg S.M. *Ascaris suum* infection negatively affects the response to a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination and subsequent challenge infection in pigs. *Vaccine* 2009; 27:5161–5169.
- Turni c, Yu Y, Omaleki L, Giang N, Blackall PJ, Christensen H. *Glaesserella australis* sp. nov., isolated from the lungs of pigs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2020; 70:3686–3692.
- Wellenberg GJ, Bouwkamp FT, Wolf PJ, Swart WA, Mombarg MJ, de Gee AL. A study on the severity and relevance of porcine circovirus type 2 infections in Dutch fattening pigs with respiratory diseases. *Veterinary Microbiology* 2010; 142:217–224.

Influenza suína: como minimizar o impacto desse patógeno?

M. Torremorell, DVM, PhD

College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, St. Paul, Minnesota

Introdução

A influenza é uma das principais doenças virais que os produtores e veterinários têm de lidar regularmente. Lidar com a influenza tem se tornado cada vez mais difícil desde o surgimento do vírus pandêmico H1N1 de 2009, das incursões contínuas de vírus sazonais em humanos e do estabelecimento de vírus endêmicos em suínos com genes de origem humana e aviária. Esta mudança no cenário da influenza começou no final dos anos 90 e foi acentuada se tornando pior na última década. O controle da influenza usando abordagens tradicionais tornou-se frustrante e desafiou a indústria a buscar novas formas de controlar as infecções.

Houve sistemas de produção que priorizaram o controle da influenza devido às perdas econômicas que o vírus representa e tentativas de eliminar o vírus influenza de rebanhos reprodutores selecionados. Todos esses esforços contribuíram para entender melhor as opções de controle da influenza a campo. Nosso grupo tem se concentrado no estudo da transmissão da influenza em propriedades com o objetivo principal de fornecer recomendações para prevenir, controlar e eliminar a influenza em suínos. Neste artigo, iremos resumir as descobertas mais relevantes, algumas opiniões e lições aprendidas que, esperançosamente, nos ajudarão a apontar ações para controlar a influenza em suínos de forma mais eficaz.

Considere ter leitões negativos para influenza ao desmame

Ter rebanhos negativos para influenza seria desejável, se pudéssemos mantê-los como tal. Existem pontos a serem considerados pelas propriedades consistentemente negativas para a influenza para que a longo prazo permaneçam negativas. A introdução de marrãs negativas é um dos fatores mais importantes na prevenção da reintrodução da influenza no rebanho. A introdução de marrãs positivas foi associada ao desmame de leitões positivos para influenza (Chamba et al., 2018). Atualmente, a maioria dos protocolos voltados

às marrãs de reposição não prioriza a prevenção de infecções por influenza. A menos que esses protocolos mudem, o que muitas vezes pode exigir mais salas e galpões, pode ser mais fácil concentrar os esforços no desenvolvimento de estratégias de vacinação e protocolos para conter as infecções dentro da unidade de desenvolvimento de marrãs (UDM). Esses protocolos devem incluir a limitação do deslocamento de pessoas entre a UDM e o restante da propriedade, evitando a movimentação de fômites contaminados entre a UDM e as diferentes áreas da propriedade, além da transferência apenas de marrãs da UDM que não estão excretando, para o galpão de reprodução. Em geral, há uma falta de conhecimento de como manejar as marrãs de forma a minimizar o impacto das infecções por influenza no restante do rebanho reprodutor.

O papel das pessoas na introdução de infecções por influenza em rebanhos de suínos é outro fator que parece ainda ser incerto. Análises de sequenciamento genético de vírus realizadas na última década enfatizaram que as pessoas podem desempenhar um papel importante na introdução do vírus influenza em suínos. Não é incomum relatos de manifestações clínicas semelhantes à influenza em funcionários de propriedades e em seguida a observação de um acometimento semelhante em suínos, com a subsequente detecção de estirpes de influenza de origem humana nesses animais. Assim, o papel das pessoas não pode ser subestimado, mas ainda não temos um entendimento claro sobre a frequência com que os humanos introduzem novos vírus em populações de suínos e o que podemos fazer para evitar que essas introduções aconteçam. Existem casos onde houve disseminação do vírus influenza de origem humana em suínos. Esses vírus podem se estabelecer como vírus de suínos, tornar-se endêmicos nesses animais e, então, se disseminar entre as propriedades.

Por fim, após a eliminação, deixar os rebanhos completamente livres, mas vulneráveis do ponto de vista imunológico pode não ser interessante. Dada a onipresença dos vírus influenza, os rebanhos livres estariam atuando como imãs para os vírus e, se infectados, amplificariam e disseminariam infecções de grande impacto. Um resultado melhor nesse cenário seria ter rebanhos imunizados, mas sem a presença do vírus circulante, ou pelo menos circulando em níveis muito baixos.

Pontos principais para o desmame de leitões negativos para influenza

1. Minimize a introdução de vírus por meio de marrãs e mantenha os vírus influenza na UDM.

As marrãs, em vários estudos, têm sido associadas à introdução do vírus influenza A. Grupos de marrãs nos primeiros 30 dias após o parto em isolamento/ UDM apresentaram maior probabilidade de teste positivo do que os grupos que já estavam na UDM por mais de 30 dias (Diaz et al., 2015). Isso in-

dica que as marrãs serviram como fonte para novos vírus ou foram capazes de amplificar as infecções por influenza após a chegada. Em outro estudo, a introdução de marrãs positivas foi associada à detecção do vírus influenza em leitões ao desmame (Chamba et al., 2018). Portanto, os protocolos para a introdução de marrãs precisam ser adaptados de forma a incluir medidas contra a influenza.

Uma medida que pode ser tomada para diminuir a excreção do vírus influenza A dentro da UDM é a vacinação. As vacinas são úteis para melhorar os sinais clínicos em decorrência da infecção pelo vírus influenza A e também podem ajudar a diminuir a eliminação e a transmissão dentro de um grupo (Romagosa et al., 2011). No entanto, escolher a vacina certa pode ser um desafio, mas as informações históricas sobre as estirpes que circulam no rebanho de marrãs, na própria UDM e na região devem ajudar a fundamentar essa decisão. A outra fonte de propagação da influenza para o restante da propriedade é por meio de fômites contaminados e pelas mãos/pele dos funcionários que interagem com as marrãs e que entram em contato com outros suínos na propriedade. Deve ser dada atenção especial em manter materiais de uso exclusivo na UDM e em limitar a movimentação entre as UDM e o resto da propriedade. A influenza é um vírus muito contagioso e a transmissão por fômites e por meio do pessoal que trabalha com os animais foi demonstrada experimentalmente (Allerson et al., 2013).

2. Proteja o leitão do nascimento até o desmame

Os leitões lactentes desempenham um papel muito importante na manutenção de infecções endêmicas de influenza nos rebanhos reprodutores e na disseminação do vírus para outras granjas no desmame. Os leitões nascem negativos para o vírus influenza; entretanto, em rebanhos reprodutores infectados endemicamente, é comum que os leitões sejam infectados antes do desmame. Cerca de 28% dos 1.523 grupos desmamados testaram positivo para influenza ao desmame (Chamba et al., 2017). Além disso, a co-circulação de vírus influenza A distintos é comum em leitões, o que resulta na co-circulação de estirpes em creches e terminações. Entender como os leitões são infectados durante o período de amamentação e evitar que eles sejam infectados, deve contribuir para desmamar leitões que sejam negativos para influenza.

Em rebanhos de reprodutoras endemicamente infectadas, os leitões têm basicamente 3 semanas para se infectar, pois a idade de desmame mais comum varia entre 18 e 24 dias. É comum detectar níveis crescentes de infecção pelo vírus influenza A na segunda semana de idade, resultando em maior prevalência próximo ao desmame. No entanto, dependendo da propriedade, existe a possibilidade de que os leitões fiquem expostos durante os primeiros dias de vida, provavelmente como resultado da transferência de leitões entre as ninhadas ou de sua exposição a fômites contaminados. Em propriedades de alta

prevalência, não é incomum encontrar escamoteadores, equipamentos, materiais e aerossóis contaminados com o vírus influenza A.

Existem práticas de manejo durante o período de amamentação que podem facilitar a disseminação do vírus influenza A entre as leitegadas. Dentre essas práticas, o uso de mães de leite demonstrou contribuir para a disseminação do vírus em um estudo controlado (Garrido et al., 2020). As mães de leite são fêmeas que adotam leitões mais jovens de diferentes ninhadas na tentativa de melhorar a sobrevivência dos leitões e aumentar o número de leitões desmamados. A maioria das propriedades comerciais normalmente seleciona fêmeas lactantes com boa produção de leite e que tiveram seus leitões desmamados recentemente. Em um estudo recente de Garrido et al., (Manuscrito em preparação), avaliamos o status para o vírus influenza A em leitegadas de suínos adotadas por mães de leite e comparamos com o status de leitegadas criadas pelas mães biológicas. Uma série de mães de leite apresentaram vírus viável no momento da adoção da nova leitegada, o que sugere que essas fêmeas servem como uma possível fonte de transmissão do vírus para os leitões recém-transferidos. As leitegadas adotadas pelas mães de leite eram mais propensas a testar positivo para o vírus influenza A e foram infectadas mais rapidamente do que as leitegadas controle. No entanto, o impacto do uso de mães de leite na prevalência de influenza tornou-se menos significativo à medida que os leitões envelheciam e ao desmame não havia diferenças no status entre leitegadas de mães de leite e controle. Além disso, também houve evidência de fêmeas infectadas durante o período de lactação. No geral, esses resultados fornecem fortes evidências de que as fêmeas lactantes desempenham um papel importante na transmissão do vírus influenza A para leitões e na manutenção de infecções endêmicas em rebanhos de reprodutoras.

A transferência de leitões, em particular, a movimentação feita com os leitões entre salas também facilita a propagação do vírus durante o período pré-desmame. Deve ser dada atenção em especial à limitação da transferência de leitões entre as leitegadas/salas, se buscamos desmamar leitões negativos para influenza.

Além de limitar a exposição a infecções por influenza, deve-se considerar aumentar a resistência do leitão à infecção durante o período de pré-desmame, o que pode ser realizado por meio da imunização do leitão. A maneira mais comum de tornar o leitão imune é empregando a vacinação das reprodutoras antes do parto ou vacinação em massa. A vacinação de matrizes tem como objetivo aumentar a transferência da imunidade materna (passiva) aos leitões por meio do colostro. A imunidade materna pode proteger os leitões dos sinais clínicos, apesar de serem infectados (“portadores silenciosos”) e pode diminuir a transmissão do vírus influenza A se a imunidade gerada pela vacina puder neutralizar as infecções virais. O impacto da imunidade passiva na transmissão da influenza difere ligeiramente do impacto da imunidade ativa. No caso de suínos que receberam imunidade passiva gerada pela vacinação

de reprodutoras com uma vacina autógena que corresponde perfeitamente ao vírus envolvido no desafio, R (Número efetivo de reprodução que é uma medida da disseminação do vírus dentro de uma população) foi estimado em 0,84 (CI 0,05-3,68) (Allerson et al., 2013). O intervalo de confiança obtido para este valor de R indica que embora em muitos casos a imunidade passiva possa resultar em transmissão limitada, em outros casos ilustra que a disseminação do vírus influenza A dentro das populações ainda pode ocorrer. Em contraste, o valor de R para suínos com imunidade passiva heteróloga foi estimado em 7,81 (CI 4,57-12,56), o que indica que o vírus influenza A pode ser transmitido de forma eficiente, apesar da presença de imunidade. Portanto, embora a imunidade materna possa ser protetora, os níveis de imunidade diminuem à medida que os leitões envelhecem e há variabilidade entre os leitões dentro de um grupo. Embora ajude, a imunidade de um leitão por si só não é suficiente para que seja desmamado efetivamente negativo para influenza.

Além disso, o impacto da vacinação das matrizes na infecção de leitões pelo vírus influenza A ao desmame foi avaliado epidemiologicamente. Os protocolos de vacinação pré-parto e de fêmeas em massa têm mostrado diminuir o número de grupos de leitões infectados ao desmame e a prevalência dentro desses grupos. Curiosamente, neste estudo os dois tipos de vacinas, comercial e autógena, tiveram resultados semelhantes em um estudo de Chamba et al (Chamba et al., 2020), sugerindo que a vacinação de fêmeas pode ser usada para diminuir o nível de infecção no desmame. Em outro estudo, o uso da vacinação de matrizes foi um dos poucos parâmetros também associados a níveis mais baixos de infecção pelo vírus Influenza A no desmame (Chamba et al., 2017). Assim, a combinação da vacinação das fêmeas para melhorar a resistência do leitão às infecções pelo vírus influenza A e a implementação de medidas para limitar a exposição do leitão ao vírus parecem ser a melhor abordagem para melhorar as chances de desmamar animais negativos para influenza.

3. Reforçar as práticas gerais de biossegurança

O desmame de um leitão negativo para influenza só se sustenta se conseguirmos manter os vírus externos fora das granjas. No caso da influenza, é muito importante fortalecer as práticas externas de biossegurança, em particular para limitar a introdução de materiais contaminados e mitigar as infecções transmitidas pelas pessoas. Em relação as pessoas, requisitos adicionais devem limitar que aqueles que apresentem doença semelhante a gripe compareçam ao trabalho. O uso de máscaras N-95 e luvas descartáveis também é recomendado para mitigar a transmissão bidirecional do vírus.

A vacinação periódica dos funcionários é altamente recomendada, embora não saibamos o real impacto da prática na prevenção da transmissão do vírus influenza A de pessoas para suínos.

Por fim, medidas de biossegurança interna que limitam a movimentação

de funcionários entre áreas contaminadas e não contaminadas dentro de uma granja e a movimentação de equipamentos e materiais entre as salas de parto devem ser avaliadas e implementadas quando possível.

Resumo

Um aspecto chave no controle da influenza parece ser desmamar leitões negativos para influenza. Embora algumas perguntas permaneçam sem resposta, avanços significativos foram feitos para entender a transmissão da influenza dentro das propriedades e os fatores que ajudam a manter as infecções endêmicas. O enfoque no leitão lactente como a meta para o controle da influenza deve ajudar os sistemas de produção a priorizar as ações a serem tomadas a nível de produção para controlar a influenza. Ações como introdução de marrãs negativas (ou pelo menos isolá-las e esperar que se recuperem da infecção antes de entrarem no rebanho), uso de vacinação para minimizar a transmissão e o impacto clínico do vírus influenza A, implementação de estratégias de manejo para manter os leitões livres da exposição e realizar procedimentos para limitar a introdução por funcionários infectados devem estar no centro do controle da influenza em suínos. Produzir leitões livre de influenza ao desmame deve ser desejável não apenas para limitar as perdas de produção, mas também para limitar o risco de transmissão do vírus influenza A para as pessoas.

Referências bibliográficas

- Allerson M, Deen J, Detmer S, Gramer M, Joo HS, Romagosa A, Torremorell M. (2013) The impact of maternally derived immunity on influenza A virus transmission in neonatal pig populations. *Vaccine*. doi:pii: S0264-410X(12)01616-7. 10.1016/j.vaccine.2012.11.023.
- Allerson M, Davies PR, Gramer M, Torremorell M (2013). Infection dynamics of pandemic 2009 H1N1 influenza virus in a two-site swine herd. *Transboundary and Emerging Diseases*. Doi:10.1111/tbed.12053.
- Allerson M[§], Cardona C, Torremorell M (2013). Indirect transmission of influenza A virus between pig populations under two different biosecurity settings. *PLoS ONE* 8(6): e67293. doi:10.1371/journal.pone.0067293.
- Chamba Pardo FO, Alba-Casals A, Nerem J, Morrison RB, Puig P, Torremorell M (2017). Influenza herd-level prevalence and seasonality in breed-to-wean pig farms in the Midwestern United States. *Front Vet Sci*. 4:167, <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00167>
- Chamba Prado FO[§], Allerson MW, Culhane MR, Morrison RB, Davies PR, Perez A, Torremorell M (2020). Effect of influenza A virus sow vaccination on infection in pigs at weaning: A prospective longitudinal study. *Transbound Emerg Dis*. doi:

10.1111/tbed.13688. Online ahead of print. PMID: 32652870

Chamba Pardo FO⁶, Schelkopf A, Allerson M, Morrison R, Culhane M, Perez A, Torremorell M (2018). Breed-to-wean farm factors associated with influenza A virus infection in piglets at weaning. *Prev Vet Med.* 2018 Dec 1;161:33-40. doi: 10.1016/j.prevetmed.2018.10.008. Epub 2018 Oct 12.

Diaz A, Perez A, Sreevatsan S, Davies P, Culhane M, Torremorell M (2015). Association between influenza A virus infection and pigs subpopulations in endemically infected breeding herds. *PLoSOne*, 10(6):e0129213. doi: 10.1371/journal.pone.0129213

Garrido-Mantilla J, Culhane MR, Torremorell M (2020). Transmission of influenza A virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus using a novel nurse sow model: a proof of concept. *Vet Res*, Mar 14;51(1):42. doi: 10.1186/s13567-020-00765-1.

Romagosa A, Allerson M, Gramer M, Joo HS, Deen J, Detmer S, Torremorell M (2011). Vaccination of influenza A virus decreases transmission rates in pigs. *Vet Res.* 2011 Dec 20;42(1):120

Glaesserella parasuis: como manter esse patógeno sob controle nas granjas?

Rafael Frandoloso^{1,2} & Luiz Carlos Kreutz^{1,2}

¹Laboratório de Microbiologia e Imunologia Avançada, Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS, Brasil.

²AFK Imunotech Ltda., Passo Fundo, RS, Brasil.

1. Introdução

A *Glaesserella parasuis* é uma bactéria Gram-negativa que infecta exclusivamente suínos. Este microrganismo é considerado um agente colonizador precoce que, em condições apropriadas, induz uma patologia inflamatória sistêmica grave, denominada Doença de Glässer (DG), a qual é considerada a das principais afecções bacterianas emergentes do rebanho suíno.

A DG ocupa uma posição de destaque entre os principais desafios infecciosos da fase de creche. Muitas são as causas que podem explicar o incremento de casos clínicos de DG e, entre elas, destacam-se as seguintes: o manejo (mistura de lotes com diferentes *backgrounds* microbiológicos e imunológicos); o uso de vacinas com potencial de proteção cruzada limitada ou mesmo ausente; a circulação de cepas de *G. parasuis* altamente virulentas e capazes de desencadear a doença de Glässer em animais convencionais saudáveis (perfil de patógeno primário); as coinfeções virais (circovírus suíno e vírus da influenza A) e bacterianas (*Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*) que, de forma geral, facilitam o processo de infecção da *G. parasuis*.

Economicamente, infecções descontroladas produzidas por *G. parasuis* resultam em perdas altamente significativas, as quais podem superar 80 milhões de dólares por ano para a cadeia produtiva de suínos (Holtkamp et al., 2006). Este prejuízo é o somatório de diversas variáveis, como por exemplo: a) atraso no crescimento; b) aumento no índice de conversão alimentar; c) diminuição do ganho de peso diário; d) altos custos derivados do uso de antibióticos; e) assistência técnica veterinária; e f) altas taxas de mortalidade que podem alcançar os 10% (Oliveira et al. 2004).

O controle da DG representa um dos principais desafios para os veterinários clínicos e para a indústria farmacêutica veterinária em razão, principalmente, das características antigênicas da *G. parasuis*. Clinicamente, a

caracterização microbiológica de surto de DG é imprescindível para o tratamento efetivo e prevenção de futuros surtos. Para a indústria, pesquisas com alvo em antígenos estruturais protetores é o caminho para a obtenção de vacinas modernas capazes de conferir proteção heteróloga contra este patógeno antigenicamente complexo.

Nesta revisão, abordaremos os principais mecanismos utilizados pela *G. parasuis* para produzir a DG. E, apresentaremos e discutiremos estratégias racionais que devem ser utilizadas para caracterizar surtos clínicos de DG, bem como, para instituir procedimentos capazes de controlar as infecções produzidas pelo agente em nível de granja.

2. *Glaesserella parasuis* e sua diversidade fenotípica

A *G. parasuis* é um microrganismo bastante complexo do ponto de vista fenotípico e patogênico e, atualmente, todos os sorovares (SVs) conhecidos são classificados de acordo com a virulência e ao tipo capsular em três grupos distintos: os SVs 1, 5, 10, 12 e 14 compõem o grupo de SVs considerados de alta virulência; os SVs 2, 4, 8 e 15 constituem o grupo considerado de virulência moderada e os SVs 3, 6, 7 e 9 são classificados no grupo de baixa virulência ou mesmo avirulentos (Kielstein & Rapp-Gabrielson 1992). Os estudos iniciais de classificação da virulência do *G. parasuis* quanto ao tipo capsular são muito consistentes para a maioria dos SVs; no entanto, recentemente, demonstramos que a cepa de referência para o SV7 (cepa 174) mostrou-se altamente virulenta em suínos (Guizzo et al. 2018) e capaz de induzir, além de todas as lesões descritas durante episódios severos de DG, duas novas lesões: endofalmite e depleção linfoide tímica (Dazzi et al. 2020).

Infecções causadas pela *G. parasuis* já foram descritas em todos os países com suinocultura intensiva e, no Brasil, casos clínicos de DG tem sido observados com frequência crescente e desencadeados por um painel muito diversificado de sorovares de *G. parasuis*. Recentemente, por meio de um robusto estudo de tipificação envolvendo 459 cepas clínicas brasileiras de *G. parasuis* isoladas ao longo de 20 anos (1987 - 2016), demonstramos a circulação em nossos rebanhos de 9 sorovares diferentes (SV1, SV2, SV4, SV5, SV7, SV12, SV13, SV14 e SV15) além de um número expressivo de cepas não tipificáveis (NT), as quais foram classificadas molecularmente em 9 perfis diferentes (Pires Espindola et al. 2019; Prigol 2019). Ainda, conforme ilustrado na **Figura 1**, nossos resultados atuais demonstram que em 2019, e mesmo em 2020, os sorovares NT, SV12, SV4 e SV1 tem sido os mais frequentemente encontrados nos casos clínicos de DG (AFK Imunotech, dados não publicados). Ainda, destacamos que em 2019 identificamos 2 casos clínicos de DG causados pelo SV8 e, em 2020, outros casos clínicos causados pelos SV3 (n=1) e SV11 (n=2).

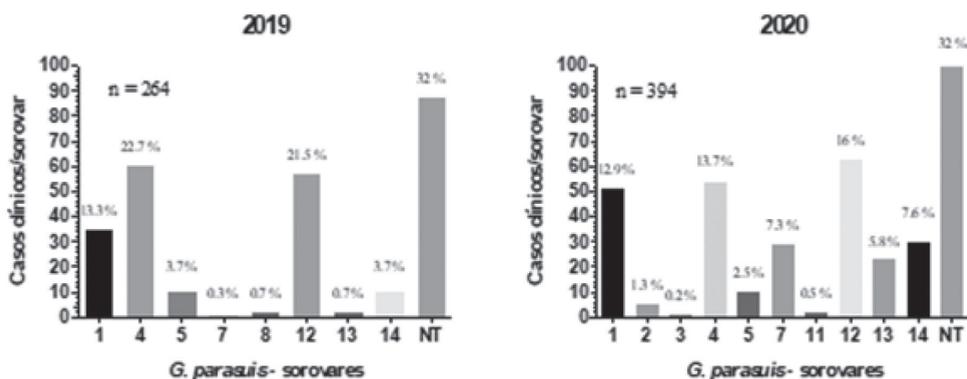


Figura 1. Distribuição dos sorovares de *Glaesserella parasuis* associados com casos clínicos de doença de Glässer no Brasil. Um total de 658 cepas clínicas de *G. parasuis* foram incluídas nesta análise; destas, 264 cepas foram isoladas no ano de 2019 e 394 isoladas no primeiro semestre de 2020.

3. Quando e como leitões se infectam com *Glaesserella parasuis*?

Os leitões são normalmente colonizados já na primeira semana de vida pelas cepas de *G. parasuis* que estão presentes na maternidade; portanto, as matrizes se constituem no principal reservatório e transmissoras da *G. parasuis* aos leitões. De modo geral, durante a fase de maternidade, a evolução da infecção é controlada pelos anticorpos maternos transferidos por meio do colostro e o efeito positivo do colostro sobre a redução da colonização de *G. parasuis* nas mucosas respiratórias de leitões já foi demonstrado (Cerdeira-Cuellar et al. 2010). Logo, a vacinação de matrizes consiste em uma estratégia interessante para reduzir a carga de *G. parasuis* que pode atingir as mucosas respiratórias dos leitões durante a maternidade e, conseqüentemente, a transmissão do agente na fase de creche.

Muitos leitões tem o primeiro contato com a *G. parasuis* na fase de creche, quando animais de diferentes origens são misturados. Nesse caso, a transmissão ocorre principalmente pelo contato direto entre leitões livres de *G. parasuis* e aqueles colonizados por cepas virulentas, mas que não manifestaram doença clínica por conta da existência de imunidade materna ou imunidade ativa. Ainda, em cenários mais complexos, devido a mistura de lotes infectados por diferentes SVs, é possível observar casos clínicos de DG produzidos simultaneamente por diferentes SVs virulentos. O contato com a *G. parasuis* presente no ambiente e a transmissão via aerógena (acredita-se que o agente possa ser transportado a curtas distâncias pelo ar) devem ser consideradas como as principais formas de infecção. Sem nenhuma dúvida, a mistura de lotes de leitões de diferentes origens consiste no principal gatilho para o desenvolvimento da DG no contexto atual.

Quando a infecção ocorre pela primeira vez em uma granja, é possível observar quadros clínicos superagudos, com mortes súbitas, após um período de

incubação de 7 a 10 dias. Por outro lado, em granjas com reinfecções, os animais normalmente desenvolvem o quadro clássico da doença e, em granjas com infecção endêmica, somente os leitões de origens negativas desenvolvem a doença. Ainda, embora a doença se manifeste principalmente na fase de creche, suínos de qualquer idade são susceptíveis quando uma cepa virulenta e antigenicamente diferente é introduzida na granja (Oliveira & Pijoan 2002).

4. Como a *G. parasuis* produz a doença de Glässer?

Uma vez no interior do trato respiratório superior a *G. parasuis* secreta uma protease que degrada especificamente as IgAs de mucosa (Mullins et al. 2011) e que lhe permite migrar eficientemente para os seios maxilares (Frاندoloso et al. 2020, em preparação). A infecção pode avançar para o ouvido médio e, ao mesmo tempo, para a traqueia, onde cepas virulentas de *G. parasuis* se aderem com bastante avidéz nas células epiteliais (Vahle et al. 1997).

No pulmão, a *G. parasuis* encontra um ambiente imunológico hostil e sua sobrevivência fica condicionada a sua capacidade de evadir as respostas das células sentinelas pulmonares, em especial a dos macrófagos. Cepas virulentas de *G. parasuis* são capazes de atrasar o processo de fagocitose através de duas proteínas superficiais denominadas VtaA8 e VtaA9 (Costa-Hurtado et al. 2012) e diminuir a síntese e expressão superficial de moléculas de SLA-II (Frاندoloso et al. 2012). Por meio destes mecanismos, a bactéria permanece por mais tempo viável no ambiente pulmonar, retarda o desenvolvimento de imunidade específica, e consegue atingir o seu grande objetivo, entrar na circulação sanguínea sistêmica e migrar para as serosas.

Atualmente, os dados disponíveis sobre a patogênese da *G. parasuis* não nos permitem entender com clareza todos os passos da infecção produzida por este agente. Nesse particular, demonstramos que suínos desafiados pela via intratraqueal com uma cepa virulenta (Nagasaki, SV5) desenvolvem bacteremia ao fim de 12 horas do desafio, sugerindo que a via pulmonar é muito eficiente para facilitar o acesso do patógeno a circulação sanguínea (Frاندoloso et al. 2011). Por outro lado, demonstramos que suínos desafiados pela via intranasal com diferentes cepas de *G. parasuis* (SV1, SV5, SV7 e NT) desenvolvem, consistentemente, após 36 horas do desafio, intensa resposta inflamatória sistêmica, no entanto, sem lesões pulmonares (pneumonia); esses dados nos permite destacar que, durante o processo de infecção natural, a *G. parasuis* pode alcançar a circulação sanguínea diretamente do trato respiratório superior e causar a DG.

Uma vez na corrente circulatória, o desenvolvimento da DG dependerá da habilidade da *G. parasuis* em superar o ataque do sistema imune inato. Há alguns anos demonstramos que, durante a fase sistêmica da infecção, a *G. parasuis* induz depleção da principal subpopulação de linfócitos T que circulam no sangue periférico dos suínos, constituída pelos linfócitos TCRgd (Frاندoloso et al. 2012). Estes linfócitos são os únicos que podem atuar diretamente sobre

bactérias e vírus independentemente da implicação do SLA-I, sendo, portanto, um alvo estratégico para a *G. parasuis*. O mecanismo pelo qual o agente mata os linfócitos TCRgd está sob investigação em nosso laboratório, e neste particular, demonstramos que a bactéria produz uma depleção dos linfócitos tímicos e, isso pode ser uma das causas para explicar a diminuição destes linfócitos do sangue periférico (Dazzi et al. 2020).

Além disso, a *G. parasuis* altera (diminui) a expressão superficial de moléculas de SLA-II em monócitos, comprometendo a habilidade funcional destas células (Frاندoloso et al. 2012). Em relação aos neutrófilos, a fagocitose da *G. parasuis* somente é eficiente quando a bactéria se encontra opsonizada por anticorpos (IgGs) (Barasuol et al. 2017), sugerindo que o *G. parasuis* possui mecanismos que dificultam o processo normal de fagocitose pelos neutrófilos, os quais desempenham um papel crucial contra bactérias com transição sanguínea.

Ainda no sangue, a *G. parasuis* precisa resistir ao ataque do sistema do complemento e, nesse particular, Wang et al. (2018) demonstraram que a sialilação do lipo-oligossacarídeo (incorporação do ácido N-acetilneuramínico ao resíduo terminal de galactose) confere as cepas virulentas (gene *lsgB*⁺) capacidade de resistir ao ataque da via alternativa do sistema do complemento, condição essencial para que a bactéria consiga chegar as diferentes serosas do hospedeiro.

Durante todo esse complexo processo, a *G. parasuis* precisa adquirir ferro do hospedeiro para manter-se viva (necessário para a geração de energia, replicação do DNA, transporte de oxigênio e proteção contra o estresse oxidativo) e avançar no processo infeccioso. No suíno, o ferro se encontra, quase que na sua totalidade, associado a proteínas intracelulares (ferritina, hemoglobina) ou plasmática (transferrina), fato que restringe o acesso desta molécula as bactérias, fenômeno hoje conhecido como “nutrição imunológica”. A *G. parasuis*, e também o *Actinobacillus pleuropneumoniae*, possui um sofisticado sistema proteico superficial constituído pelas proteínas TbpA e TbpB (proteínas de união a transferrina A e B) capaz de retirar o ferro da transferrina suína. Estas proteínas, além de serem vitais para a sobrevivência da *G. parasuis*, constituem excelentes antígenos vacinais (Frاندoloso et al. 2015).

Vencido todos os confrontos com os componentes do sistema imunológico, a *G. parasuis* inicia a replicação em sítios específicos, como a membrana sinovial, peritônio, pericárdio, pleura e meninges. O acesso da bactéria a estas serosas é mediado pela sua capacidade em se aderir e invadir células endoteliais (Frاندoloso et al. 2013b). Por fim, nos tecidos alvos, o patógeno desencadeia uma intensa resposta inflamatória.

5. Apresentação clínica e patológica da doença de Glässer

Quatro formas clínicas podem ser observadas durante as infecções produzidas pela *G. parasuis*: **doença de Glässer** (poliserosites fibrinosas), **septicemia** (sem poliserosites), **miosite aguda** (nos músculos masseter) e a **forma respira-**

tória (brônco-pneumonias). Diferentes estudos demonstram que a DG pode ser causada por diferentes cepas, sorovares e concentrações de *G. parasuis* (Blanco et al. 2004; Dazzi et al. 2020; Frandoloso et al. 2011; Guizzo et al. 2018; Oliveira et al. 2003). O estado imunológico dos suínos e o seu modelo de obtenção (convencionais, livres de patógenos específicos - SPF e privados de colostro) devem ser levados em consideração durante o delineamento de experimentos relacionados com a patogenicidade de cepas ou mesmo estudos vacinais. Nossa experiência nesse tema nos permite afirmar que o modelo animal impacta significativamente no desenvolvimento clínico controlado da doença.

Poliserosite fibrinosa. O curso da doença é agudo e acomete principalmente animais com idades de 5 a 12 semanas. Clinicamente, se observa febre alta (> 40.5°C), seguida de inapetência e apatia. Em algumas ocasiões, por conta da alta transcrição de TNF- α (Frandoloso et al. 2013a), é possível observar áreas cianóticas na pele (falha circulatória periférica). A respiração dos animais normalmente é afetada (encontra-se aumentada e com aparência abdominal), bem como a frequência cardíaca (taquicardia). Problemas articulares são bem comuns (artrites em especial na articulação radio-umeral) (Dazzi et al. 2020) e, em alguns surtos epidêmicos, é possível observar sinais neurológicos compatíveis com meningite.

As lesões que caracterizam essa forma da doença são as poliserosites e poliartrites fibrino-purulentas. É bastante comum observar depósito de grandes quantidades de fibrina sobre os órgãos abdominais e torácicos. Líquido serofibrinoso abundante pode ser observado em todas as cavidades e também no saco pericárdico. Por outro lado, nas articulações, observa-se aumento do líquido sinovial menos viscoso. As lesões no sistema nervoso central se caracterizam pela opacidade das meninges, especialmente daquelas que recobrem o cerebelo (área estratégica para isolar *G. parasuis*) (Dazzi 2018).

Septicemia. Em casos de septicemia os animais apresentam-se apáticos, deprimidos, dispnéicos, cianóticos e com hipertermia (~ 41°C). Alterações na coagulação sanguínea, diminuição do número de plaquetas e leucopenia são observados 24 horas após a infecção. Na necropsia, observa-se focos de hemorragia com petéquias em alguns órgãos (Amano et al. 1997). Na histopatologia observa-se a presença de microtrombos de fibrina nos pulmões, cérebro e rins. A bactéria pode ser observada no interior dos pequenos vasos e no citoplasma dos fagócitos que formam o infiltrado inflamatório (Amano et al. 1997; Martin de la Fuente et al. 2009)

Miosite do músculo masseter. Hoefling (1991) descreveu esta forma da doença após infectar leitões livres de patógenos específicos (SPF) com *G. parasuis*. Os animais apresentaram hipertermia, inapetência, debilidade e ataxia; no entanto, a característica mais importante foi observada na cabeça, que aparecia inchada, com grandes áreas cianóticas. Durante o estudo histopatológico foi observado linfadenite submandibular supurativa e a presença de exsudato serofibrinoso que continha abundante número de células inflamatórias no tecido

subcutâneo que se estendia pelo perimísio e endomísio do músculo masseter.

Forma respiratória. Podem ser observados quadros respiratórios caracterizados por tosse e dispneia. Espirros são frequentes após o desafio intranasal com o *G. parasuis*. Broncopneumonia catarral-purulenta e, em alguns casos mais graves, broncopneumonia fibrino-hemorrágica podem ser observadas após o desafio experimental com *G. parasuis* (Rapp-Gabrielson et al. 2006; Rapp-Gabrielson 1999).

6. Estratégia de diagnóstico

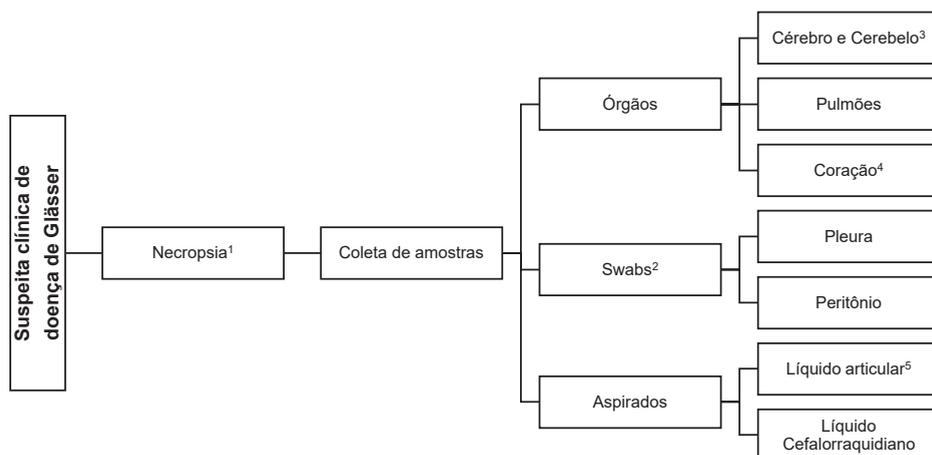
O diagnóstico da DG pode ser realizado observando-se a história clínica, sintomas e lesões dos animais. Em razão de que muitos dos sintomas são comuns a outras infecções de suínos, é imprescindível o uso de ferramentas microbiológicas, moleculares e imunológicas para identificar a presença da *G. parasuis* nos animais afetados.

Estudo anatomopatológico. O exame *post-mortem* consiste na primeira abordagem norteadora do diagnóstico da DG. As lesões macroscópicas observadas se caracterizam pela presença de exsudato seroso ou fibrino-purulento sobre a superfície das serosas, normalmente no peritônio, pleura, pericárdio, articulações e meninges. Em nossos estudos observamos que animais submetidos a infecções experimentais desenvolvem com frequência broncopneumonia com consolidação crânio-ventral local ou multifocal, ou ainda, pneumonia intersticial (Dazzi 2018; Frandoloso et al. 2011).

Embora as lesões macroscópicas associadas aos sinais clínicos dos animais são, na maioria das vezes, bastante convincentes sobre um possível episódio de DG, o isolamento do agente segue sendo imprescindível para instituir um correto tratamento com antibióticos e para desenhar um programa preventivo assertivo. Nesse sentido, representamos na **Figura 1**, com base na nossa experiência, a lista de amostras que devem ser coletas durante a necropsia para serem enviadas ao laboratório de diagnóstico bacteriológico. É importante lembrar que o *G. parasuis* é um microrganismo que produz, primariamente, uma doença inflamatória sistêmica, e não pneumonia. Portanto, o isolamento de *G. parasuis* de sítios sistêmicos é fundamental para definir a(s) cepa(s) que está(ão) provocando o caso clínico (Frandoloso 2019).

Fase de granja. Esta fase é especialmente importante, pois o sucesso do isolamento de *G. parasuis* está condicionado à qualidade do procedimento de coleta das amostras (as amostras devem ser coletadas de forma asséptica).¹ Durante um caso clínico, recomendamos que sejam selecionados no mínimo 5 animais por unidade de produção para realizar a necropsia e coleta de materiais. Este número é importante em razão de que mais de um sorovar de *G. parasuis* pode estar circulando na granja e causando a DG.² Todos os swabs que serão enviados para isolamento bacteriano devem conter meio de transporte do tipo Stuart ou Amies.³ O cerebelo é frequentemente afetado durante a

Fase de Granja



Fase laboratorial

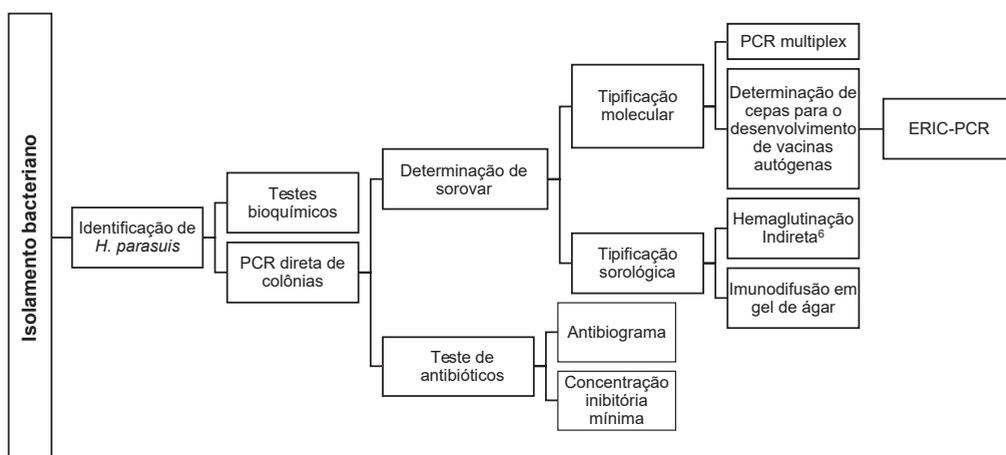


Figura 2. Fluxograma estratégico para coleta e processamento de amostras clínicas procedentes de animais com suspeita de padecerem doença de Glässer.

fase sistêmica da infecção e, portanto, recomendamos que a cabeça do animal seja enviada ao laboratório para proceder-se a coleta de material em condições assépticas, evitando contaminações por outros agentes de crescimento rápido. ⁴Casos de pericardite são muito comuns na DG e, para o isolamento do agente em cultivo, livre de qualquer outro microrganismo (puro), recomendamos que o órgão seja remetido juntamente com os pulmões e com o saco pericárdico intacto. ⁵Líquido articular pode ser coletado com o auxílio de uma agulha 25'8. O local de introdução da agulha deve ser desinfetado (álcool 70% ou cloredixina 2%) ou cauterizado. É importante que, após a coleta, a agulha seja mantida acoplada à seringa e que o êmbolo permaneça retraído. Na impossibilidade de aspirar líquido articular, remeter ao laboratório a articulação fechada. Fase

laboratorial. Nesta fase o microrganismo é isolado e caracterizado. ⁶A tipificação de *G. parasuis* pode ser realizada mediante PCR multiplex (atualmente utilizada em nosso laboratório) ou através de testes sorológicos como a Hema-glutinação indireta (HI) e a Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA). A técnica de HI é mais específica que a IDGA, no entanto, ambas são menos específicas e discriminatórias que a PCR multiplex (Frاندoloso, 2019).

Ainda no estudo histopatológico, é possível observar inflamação fibri-nopurulenta, com infiltrados de neutrófilos, macrófagos e de outras células in-flamatórias nos órgãos afetados. Transtornos vasculares são observados com frequência em casos de septicemia, assim como edema, hemorragias e trom-bos no cérebro (em casos severos), pulmões, fígado, baço e rins. A formação de trombos e microtrombos está associada as endotoxinas liberadas pela bacté-ria durante a infecção e o resultado patológico consiste no desenvolvimento de um quadro compatível com coagulação intravascular disseminada (CID) (Amano et al. 1997).

Diagnóstico bacteriológico direto. Consiste no procedimento confirmatório da doença de Glässer. O isolamento do agente é realizado a partir das amostras descritas na figura 1 e o sucesso está condicionado a dois fatores importantes: a) o procedimento de coleta realizado pelo médico veterinário; e b) ao tempo de transporte da amostra até o laboratório. Com relação ao primeiro, orienta-mos que a necropsia seja conduzida primeiramente com o objetivo de coletar amostras para o estudo microbiológico, ou seja, evitando ao máximo a abertura exagerada das cavidades durante a coleta de swabs e, sempre, utilizando uten-sílios de necropsia estéreis ou desinfetados. Posteriormente, pode-se conduzir a investigação de lesões macroscópicas e coleta de tecidos. Com relação ao tempo de transporte, é muito importante que as amostras sejam acondicionadas em caixas térmicas com temperatura interna de 4 - 8°C e que cheguem ao labora-tório num intervalo de 24 - 36 horas após a coleta. O sucesso de recuperação de *G. parasuis* após 48 horas é bastante baixo em razão, fundamentalmente, da proteólise tecidual (pH abaixo de 6.2 induz a morte de *G. parasuis*).

No laboratório, as amostras são semeadas em meios adequados para o cres-cimento de *G. parasuis* e, nesse particular, o ágar chocolate suplementado com NAD, glicose e IsoVitaleX™ aporta mais nutrientes ao microrganismo em com-paração com qualquer outro meio de cultivo. O isolamento de *G. parasuis*, com frequência, se complica em razão de contaminações por outras bactérias de cres-cimento rápido (principalmente quando a coleta da amostra não é realizada cor-retamente); portanto, o uso de bacitracina nos meios de cultivo pode facilitar a recuperação deste microrganismo em cultivos puros (Miani et al. 2017).

Embora a identificação das colônias de *G. parasuis* possa ser realizada atra-vés de testes bioquímicos, atualmente, diversas opções de identificação mo-lecular por meio da PCR estão disponíveis para acelerar o processo de iden-tificação do agente (Angen et al. 2007; Oliveira et al. 2001; Turni et al. 2010). Nesta doença, é fundamental a recuperação de cepas sistêmicas e, mais ainda,

a definição do sorovar das cepas recuperadas de todos os sítio sistêmicos e de todos os animais com isolamento positivo; com frequência isolamos mais de um sorovar de *G. parasuis* por granja (diferentes sorovares isolados de diferentes animais) e, também, já identificamos animais coinfectados por 2 sorovares virulentos de *G. parasuis* (SV1 isolado de cérebro e SV12 isolado de peritônio).

O processo de tipificação de *G. parasuis* evoluiu drasticamente nos últimos anos. No começo da década de 1990, Kielstein & Rapp-Gabrielson (1992) utilizaram a técnica de Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA) para definir os 15 sorovares de referência deste patógeno. Anos mais tarde, Del Rio et al. (2003) apresentaram a Hemaglutinação Indireta (HI) como metodologia alternativa de tipificação de *G. parasuis*, tendo como principal vantagem sobre a IDGA, melhor especificidade e menos reações cruzadas entre os sorovares. Recentemente, nosso grupo propôs uma modificação na técnica de HI (HI_m), aumentando o potencial de resolução do diagnóstico e, fundamentalmente, a constância e linearidade desta técnica (Lorenson et al. 2017).

Hoje, embora a IDGA, HI e HI_m podem ser utilizadas para a *G. parasuis*, a tipificação molecular, através das PCR multiplex descritas por Howell et al. (2015) e Jia et al. (2017), vem ganhando espaço e, racionalmente, seu uso faz mais sentido por conta da sua fácil execução, potencial discriminatório dos sorovares e reprodutibilidade entre laboratórios. Todas as técnicas de tipificação têm suas bases assentadas sobre as características fenotípicas (sorotipificação) ou genotípicas (PCR multiplex) das 15 cepas de referência de *G. parasuis*. Por esse motivo, um grande número de cepas clínicas isoladas de casos de DG que não encontram padrão similar ao esquema KRG são classificadas como cepas não tipificadas (NT).

Neste particular, recentemente, apresentamos uma estratégia molecular para diferenciar cepas NT e demonstramos que a diversidade fenotípica de *G. parasuis* é ainda maior do que se pensava; no Brasil circulam no mínimo 9 cepas NT diferentes (Espíndola et al. 2019), o que nos permite entender melhor o enorme desafio da prevenção da DG através do uso de vacinas clássicas (bacterinas). Cabe mencionar que inúmeras técnicas moleculares podem ser utilizadas para a tipificação de *G. parasuis* (de la Puente Redondo et al. 2003; Mullins et al. 2013; Turni et al. 2018), no entanto, na nossa opinião e experiência, a PCR multiplex (Howell et al. 2015; Jia et al. 2017) é a mais recomendada.

Ainda, duas estratégias moleculares estão disponíveis para se estudar a virulência de cepas implicadas em um caso clínicos de DG (Galofre-Mila et al. 2017; Howell et al. 2017). A investigação da virulência e o estudo da diversidade genética de cepas clínicas (Rafiee et al. 2000) são imprescindíveis para se definir com critérios científicos a base antigênica de uma vacina autógena, quando necessário.

Diagnóstico sorológico. A presença e circulação de cepas virulentas de *G. parasuis* em granjas pode ser detectada através de testes sorológicos. Neste particular, vale destacar, que cepas não virulentas e que colonizam o trato

respiratório superior nem sempre induzem respostas imunológicas com repercussão sistêmica e, esta característica precisa ser levada em consideração na hora de certificar granjas como negativas para *G. parasuis*.

Os testes disponíveis para a avaliação de anticorpos (IgM e IgG) anti-*G. parasuis* incluem a fixação do sistema do complemento (FC) (Takahashi et al. 2001) e a técnica de ELISA (Miniats et al. 1991; Segalés 1996; Solano-Aguilar et al. 1999). A técnica de ELISA apresenta inúmeras vantagens sobre a FC, entre elas destacamos principalmente a especificidade e reprodutibilidade sendo, portanto, a técnica mais indicada para avaliar a resposta de anticorpos em suínos durante processos de infecção (clínica e subclínica) e imunização.

Através de uma abordagem experimental, Macedo et al. (2016), demonstraram que a proteína OppA (*oligopeptide permease A*) de *G. parasuis* além de ser imunogênica em suínos é um excelente antígeno para o diagnóstico sorológico específico deste agente. Estes autores apresentaram o desenvolvimento de um ELISA Indireto específico baseado nesta proteína e, atualmente, o teste pode ser adquirido comercialmente através da empresa BioCheck (*Haemophilus parasuis* Antibody Test Kit).

Em paralelo ao ELISA descrito por estes autores, nosso grupo desenvolveu um ELISA capaz de detectar e diferenciar animais infectados por cepas virulentas de *G. parasuis* daqueles colonizados por cepas incapazes de causar a doença de Glässer. Este ELISA está baseado na proteína periplasmática de união ao ferro (FbpA) de *G. parasuis* (Giacobbo et al. 2019).

Por último, a utilização de ELISAs customizados e baseados em cepas de *G. parasuis* circulantes na granja consiste numa estratégia interessante para posicionar corretamente protocolos de vacinação em leitões. Nesse sentido, destacamos que a quantificação de anticorpos maternos circulantes no leitão (ELISA quantitativo) consiste na estratégia a ser seguida e que erros frequentes são cometidos ao tomar decisões baseadas apenas na absorbância do soro (ELISA qualitativo).

7. Prevenção das infecções produzidas pela *Glaesserella parasuis*

A prevenção da doença de Glässer vem sendo realizada, há longa data, através do uso de vacinas inativadas e formuladas com um ou dois sorovares de *G. parasuis*. Hoje, com muita certeza, trata-se de uma doença que produz um impacto econômico muito negativo para a produção de suíno e sua ampla prevenção, desejada pelo setor, vem fomentando muitas pesquisas acadêmicas e industriais.

A grande dificuldade de se conseguir ampla proteção contra *G. parasuis* reside na heterogeneidade intrínseca dos diferentes sorovares deste microrganismo, o que dificulta o desenvolvimento de uma imunidade efetiva e capaz de prevenir um processo de infecção causado por sorovares diferentes daqueles contidos na formulação da vacina.

No Brasil, duas vacinas comerciais estão disponíveis para a prevenção da

doença de Glässer e, antigenicamente, são compostas pelo SV5 (Porcilis Glässer, MSD) (Segers et al. 2009) e uma mistura dos SVs 1 e 6 (Hiprasuis Glässer, HIPRA). A seleção destes sorovares para formular as referidas vacinas foi baseada em resultados de estudos epidemiológico conduzidos em diferentes países e a capacidade de proteção homóloga (animais vacinados e desafiados com uma cepa virulenta e com o mesmo tipo capsular da cepa vacinal) destas vacinas já foi demonstrada por diferentes grupos, incluindo o nosso (Frاندoloso et al. 2011).

Conforme já mencionado, no Brasil, casos de doença de Glässer já foram associados a 12 sorovares de *G. parasuis* diferentes e a no mínimo 9 novos tipos capsulares ainda não caracterizados. Levando em consideração que a resposta protetora induzida pelas vacinas clássicas é predominantemente sorovar específica, no entanto, assumindo que exista reatividade protetora cruzada entre certos sorovares conforme descrito por Bak & Riising (2002), uma vacina baseada no SV5 poderia potencialmente proteger aproximadamente 42,9% e 44,8% dos casos clínicos representados na figura 1 nos anos de 2019 e 2020, respectivamente. A cobertura de proteção heteróloga de uma vacina baseada no SV1 ainda não foi experimentalmente demonstrada, desta maneira, podemos somente assumir o seu potencial de proteção homólogo, o que poderia representar uma cobertura de proteção de aproximadamente 13% dos casos clínicos observado no Brasil.

Quando uma vacina comercial falha em proteger rebanhos vacinados, a solução mais apropriada, a curto prazo, consiste no desenvolvimento de vacinas autógenas, as quais precisam ser desenvolvidas com bastante racionalidade. Recomenda-se que sejam incluídas na formulação **cepas isoladas de sítios sistêmicos**, como meninges, pericárdio, e articulação (Oliveira & Pijoan 2004; Smart et al. 1988) e que se caracterize o perfil de virulência das mesmas. Desta maneira, é imprescindível que os laboratórios produtores de vacinas autógenas sigam criteriosamente esta premissa e evitem ao máximo a inclusão de cepas isoladas de traqueia e pulmões em suas formulações, as quais podem não representar a cepa que está causando a doença sistêmica. Outra característica importante, muito observada no Brasil, é a formulação de vacinas com patógenos que apresentam baixa compatibilidade antigênica entre si e que produzem doenças em fases totalmente diferentes da produção.

Ainda com relação às vacinas autógenas e, de modo a selecionar racionalmente as cepas de *G. parasuis* que serão incluídas na vacina, é de suma importância tipificar o agente e caracterizar sua virulência, e também definir o perfil genético de cepas pertencentes a um mesmo sorovar. Nossa experiência nos permite afirmar que é possível encontrar em uma mesma granja e, inclusive no mesmo animal, duas cepas geneticamente diferentes pertencentes a um mesmo sorovar. Neste caso, a vacina autógena deve ser formulada com as duas cepas diferentes e o não cumprimento desta recomendação pode comprometer o efeito protetor desejado da vacina.

Embora as vacinas autógenas tenham ganhado protagonismo na preven-

ção da DG no Brasil, sua utilização a longo prazo tende a diminuir na medida que vacinas comerciais com amplo espectro de proteção sejam lançadas no mercado. Nesse sentido, nosso grupo tem assumido a liderança mundial na busca de uma composição vacinal que não fique restrita as variações dos polissacarídeos capsulares e sim, consiga promover imunidade protetora contra todos os sorovares de *G. parasuis*. Tal feito somente é possível através da utilização de um antígeno estrutural, imunogênico e conservado dentro da espécie “*parasuis*” e, nessa linha, a proteína TbpB apresenta-se como o antígeno vacinal mais promissor deste agente.

Nossos estudos vêm demonstrando de forma consistente a capacidade de proteção homóloga e heteróloga da proteína mutante TbpB de *G. parasuis* (Barasuol et al. 2017; Frandoloso et al. 2011; Frandoloso et al. 2015; Guizzo et al. 2018; Prigol 2019). Ademais, através de uma análise *in silico*, demonstramos que uma vacina composta por três variantes da proteína TbpB poderia prevenir não somente infecções produzidas pelo *G. parasuis* mas também por infecções causadas pelo *Actinobacillus pleuropneumoniae* e *A. suis* (Curran et al. 2015; Guizzo et al. 2018).

8. Tratamento da doença de Glässer

A escolha e o uso de antibióticos durante o tratamento de casos clínicos de doença de Glässer precisa ser norteado pelos resultados dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos. No Brasil, demonstramos a circulação de cepas clínicas de *G. parasuis* resistentes a diferentes moléculas antimicrobianas utilizadas rotineiramente na clínica de suínos (Miani et al. 2017).

Recentemente, avaliamos o efeito *in vitro* da Tildipirosina sobre 100 cepas clínicas virulentas de *G. parasuis* isoladas de suínos procedentes de 6 estados brasileiros (RS, SC, PR, SP, MG e MS). Os resultados deste trabalho demonstraram que a concentração terapêutica do produto foi efetiva para matar 90% das cepas clínicas (Peres et al. 2020). Ainda, demonstramos que a mesma eficácia foi encontrada ao tratar animais experimentalmente infectados com *G. parasuis* com os sorovares 4 e 5 (dados não publicados). Desta maneira, recomenda-se o uso da Tildipirosina no tratamento de casos clínicos de doença de Glässer.

Por último, ilustramos na figura 3 o perfil de susceptibilidade de 394 cepas clínicas de *G. parasuis* isoladas em 2020 em nosso laboratório. Dos antimicrobianos avaliados, alertamos que as cepas foram pouco susceptíveis a Lincomicina, Sufa+Trimetoprim, Tetraciclina, Norfloxacin, Doxiciclina, Marbofloxacina e Tilmicosina. De forma contrária, a Fosfomicina, Amoxicilina, Ceftiofur e Florfenicol foram os antimicrobianos mais efetivos nesta avaliação (AFK Imunotech, dados não publicados).

De forma geral, estes resultados destacam a importância do monitoramento constante do perfil de susceptibilidade de cepas de *G. parasuis* que estejam circulando na granja, de modo a evitar o uso equivocado de drogas e reduzir as chances do surgimento de novas cepas resistentes.

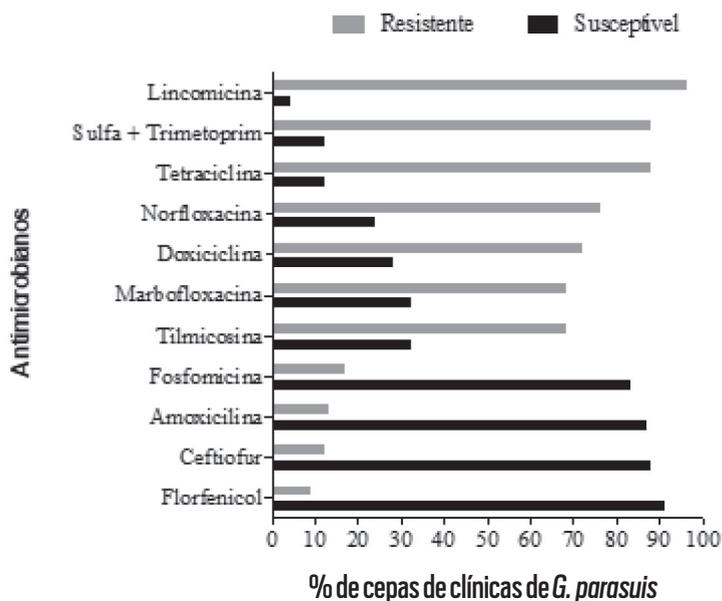


Figura 3. Perfil de susceptibilidade e resistência de cepas clínicas de *G. parasuis*. Um total de 394 cepas clínicas foram avaliadas pelo ensaio de antibiograma.

9. Considerações finais

A *G. parasuis* é um microrganismo complexo e capaz de causar uma enfermidade inflamatória sistêmica que acomete leitões jovens, conhecida como DG. Embora existam informações limitadas sobre a patogenia da infecção, hoje sabemos que o agente é capaz de evadir diferentes respostas imunológicas para chegar às serosas do hospedeiro. Durante episódios de DG, o isolamento e a definição do sorovar de *G. parasuis* (tipificação molecular) são imprescindíveis para se estabelecer um correto programa de prevenção, baseado em vacinas comerciais (quando o sorovar presente na granja estiver presente na formulação da vacina) ou autógenas (unicamente quando o sorovar presente na granja não estiver presente em nenhuma vacina comercial). O diagnóstico sorológico pode ser utilizado estrategicamente para posicionar corretamente o protocolo de imunização de modo a reduzir a janela de susceptibilidade dos leitões à DG durante a fase de creche. O futuro da prevenção das infecções produzidas pela *G. parasuis* está condicionado ao desenvolvimento de vacinas modernas e com ampla proteção heteróloga.

10. Referências bibliográficas

- Amano H, Shibata M, Takahashi K, and Sasaki Y. 1997. Effects on endotoxin pathogenicity in pigs with acute septicemia of *Haemophilus parasuis* infection. *J Vet Med Sci* 59:451-455.
- Angen O, Oliveira S, Ahrens P, Svensmark B, and Leser TD. 2007. Development of an improved species specific PCR test for detection of *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 119:266-276. 10.1016/j.vetmic.2006.10.008
- Bak H, and Riising HJ. 2002. Protection of vaccinated pigs against experimental infections with homologous and heterologous *Haemophilus parasuis*. *Vet Rec* 151:502-505.
- Barasuol BM, Guizzo JA, Fegan JE, Martinez-Martinez S, Rodriguez-Ferri EF, Gutierrez-Martin CB, Kreutz LC, Schryvers AB, and Frandoloso R. 2017. New insights about functional and cross-reactive properties of antibodies generated against recombinant TbpBs of *Haemophilus parasuis*. *Sci Rep* 7:10377. 10.1038/s41598-017-10627-0
- Blanco I, Galina-Pantoja L, Oliveira S, Pijoan C, Sanchez C, and Canals A. 2004. Comparison between *Haemophilus parasuis* infection in colostrums-deprived and sow-reared piglets. *Vet Microbiol* 103:21-27. 10.1016/j.vetmic.2004.06.011
- Cerda-Cuellar M, Naranjo JF, Verge A, Nofrarias M, Cortey M, Olvera A, Segales J, and Aragon V. 2010. Sow vaccination modulates the colonization of piglets by *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 145:315-320. 10.1016/j.vetmic.2010.04.002
- Costa-Hurtado M, Ballester M, Galofre-Mila N, Darji A, and Aragon V. 2012. VtaA8 and VtaA9 from *Haemophilus parasuis* delay phagocytosis by alveolar macrophages. *Vet Res* 43:57. 10.1186/1297-9716-43-57
- Curran DM, Adamiak PJ, Fegan JE, Qian C, Yu RH, and Schryvers AB. 2015. Sequence and structural diversity of transferrin receptors in Gram-negative porcine pathogens. *Vaccine* 33:5700-5707. 10.1016/j.vaccine.2015.07.097
- Dazzi CC. 2018. Caracterização clínica e anatomopatológica da infecção por *Haemophilus parasuis* sorovar 7 cepa 174 em leitões privados de colostro Mestrado. Universidade de Passo Fundo.
- Dazzi CC, Guizzo JA, Prigol SR, Kreutz LC, Driemeier D, Chaudhuri S, Schryvers AB, and Frandoloso R. 2020. New Pathological Lesions Developed in Pigs by a “Non-virulent” Strain of *Glaesserella parasuis*. *Frontiers in Veterinary Science* 7. 10.3389/fvets.2020.00098
- de la Puente Redondo VA, Navas Mendez J, Garcia del Blanco N, Ladron Boronat N, Gutierrez Martin CB, and Rodriguez Ferri EF. 2003. Typing of *Haemophilus parasuis* strains by PCR-RFLP analysis of the *tbpA* gene. *Vet Microbiol* 92:253-262.
- Del Rio ML, Gutierrez CB, and Rodriguez Ferri EF. 2003. Value of indirect hemagglutination and coagglutination tests for serotyping *Haemophilus parasuis*. *J Clin Microbiol* 41:880-882.
- Espíndola JP, Balbinott N, Gressler LT, Machado G, Klein CS, Rebelatto R, Gutiérrez-

- Martín CB, Kreutz LC, Schryvers AB, and Frandoloso R. 2019. Molecular serotyping of clinical strains of *Haemophilus* (*Glässerella*) *parasuis* brings new insights regarding Glässer's disease outbreaks in Brazil. *PeerJ* Accepted.
- Frandoloso R. 2019. *Haemophilus* (*Glaesserella*) *parasuis*: Infecção, diagnóstico e prevenção. In: Bortolozzo F, Wentz, I., Takeuti, K.L., Mellagi, A.P.G., Ulguim, R.R., Barcellos, D.E., editor. *Avanços em sanidade, produção e reprodução de suínos IV*. Porto Alegre: UFRGS. p 299.
- Frandoloso R, Martinez S, Rodriguez-Ferri EF, Garcia-Iglesias MJ, Perez-Martinez C, Martinez-Fernandez B, and Gutierrez-Martin CB. 2011. Development and characterization of protective *Haemophilus parasuis* subunit vaccines based on native proteins with affinity to porcine transferrin and comparison with other subunit and commercial vaccines. *Clin Vaccine Immunol* 18:50-58. 10.1128/CVI.00314-10
- Frandoloso R, Martinez-Martinez S, Calmettes C, Fegan J, Costa E, Curran D, Yu RH, Gutierrez-Martin CB, Rodriguez-Ferri EF, Moraes TF, and Schryvers AB. 2015. Non-binding site-directed mutants of transferrin binding protein B exhibit enhanced immunogenicity and protective capabilities. *Infect Immun* 83:1030-1038. 10.1128/IAI.02572-14
- Frandoloso R, Martinez-Martinez S, Rodriguez-Ferri EF, Yubero S, Rodriguez-Lazaro D, Hernandez M, and Gutierrez-Martin CB. 2013a. *Haemophilus parasuis* subunit vaccines based on native proteins with affinity to porcine transferrin prevent the expression of proinflammatory chemokines and cytokines in pigs. *Clin Dev Immunol* 2013:132432. 10.1155/2013/132432
- Frandoloso R, Martínez-Martínez S, Yubero S, Rodríguez-Ferri EF, and Gutiérrez-Martín CB. 2012. New insights in cellular immune response in colostrum-deprived pigs after immunization with subunit and commercial vaccines against Glässer's disease. *Cell Immunol* 277:74-82. 10.1016/j.cellimm.2012.05.010
- Frandoloso R, Pivato M, Martinez-Martinez S, Rodriguez-Ferri EF, Kreutz LC, and Martin CB. 2013b. Differences in *Haemophilus parasuis* adherence to and invasion of AOC-45 porcine aorta endothelial cells. *BMC Vet Res* 9:207. 10.1186/1746-6148-9-207
- Galofre-Mila N, Correa-Fiz F, Lacouture S, Gottschalk M, Strutzberg-Minder K, Bensaïd A, Pina-Pedrero S, and Aragon V. 2017. A robust PCR for the differentiation of potential virulent strains of *Haemophilus parasuis*. *BMC Vet Res* 13:124. 10.1186/s12917-017-1041-4
- Giacobbo I, Guizzo J, GCP; F, Klein R, Rong-hua Y, Schryvers A, Kreutz L, and Frandoloso R. 2019. Potential use of FbpA protein to assess the immunogenicity of commercial and autogenous vaccines against *Haemophilus* (*Glaesserella*) *parasuis*. In: Santos RCF, editor. *XIX Abraves*. Toledo: Abraves. p 237-238.
- Guizzo JA, Chaudhuri S, Prigol SR, Yu RH, Dazzi CC, Balbinott N, Frandoloso GP, Kreutz LC, Frandoloso R, and Schryvers AB. 2018. The amino acid selected for generating mutant TbpB antigens defective in binding transferrin can compromise the in vivo protective capacity. *Sci Rep* 8:7372. 10.1038/s41598-018-25685-1
- Hoefling DC. 1991. Acute myositis associated with *Hemophilus parasuis* in primary

- SPF sows. *J Vet Diagn Invest* 3:354-355. 10.1177/104063879100300418
- Howell KJ, Peters SE, Wang J, Hernandez-Garcia J, Weinert LA, Luan SL, Chaudhuri RR, Angen O, Aragon V, Williamson SM, Parkhill J, Langford PR, Rycroft AN, Wren BW, Maskell DJ, Tucker AW, and Consortium. BRT. 2015. Development of a Multiplex PCR Assay for Rapid Molecular Serotyping of *Haemophilus parasuis*. *J Clin Microbiol* 53:3812-3821. 10.1128/JCM.01991-15
- Howell KJ, Weinert LA, Peters SE, Wang J, Hernandez-Garcia J, Chaudhuri RR, Luan SL, Angen O, Aragon V, Williamson SM, Langford PR, Rycroft AN, Wren BW, Maskell DJ, and Tucker AW. 2017. "Pathotyping" Multiplex PCR Assay for *Haemophilus parasuis*: a Tool for Prediction of Virulence. *J Clin Microbiol* 55:2617-2628. 10.1128/JCM.02464-16
- Jia A, Zhou R, Fan H, Yang K, Zhang J, Xu Y, Wang G, and Liao M. 2017. Development of Serotype-Specific PCR Assays for Typing of *Haemophilus parasuis* Isolates Circulating in Southern China. *J Clin Microbiol* 55:3249-3257. 10.1128/JCM.00688-17
- Kielstein P, and Rapp-Gabrielson VJ. 1992. Designation of 15 serovars of *Haemophilus parasuis* on the basis of immunodiffusion using heat-stable antigen extracts. *J Clin Microbiol* 30:862-865.
- Lorenson MS, Miani M, Guizzo JA, Barasoul B, Martinez-Martinez S, Rodriguez-Ferri EF, Gutierrez-Martin CB, Kreutz LC, and Frandoloso R. 2017. Altered indirect hemagglutination method for easy serotyping of *Haemophilus parasuis*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 69:15-21. 10.1590/1678-4162-9193
- Macedo N, Oliveira S, Torremorell M, and Rovira A. 2016. Immune response to oligopeptide permease A (OppA) protein in pigs naturally and experimentally infected with *Haemophilus parasuis*. *Res Vet Sci* 107:62-67. 10.1016/j.rvsc.2016.05.006
- Martin de la Fuente AJ, Gutierrez Martin CB, Perez Martinez C, Garcia Iglesias MJ, Tejerina F, and Rodriguez Ferri EF. 2009. Effect of different vaccine formulations on the development of Glasser's disease induced in pigs by experimental *Haemophilus parasuis* infection. *J Comp Pathol* 140:169-176. S0021-9975(08)00147-3 [pii]10.1016/j.jcpc.2008.10.007
- Miani M, Lorenson MS, Guizzo JA, Espíndola JP, Rodríguez-Ferri EF, Gutiérrez-Martín CB, Kreutz LC, and Frandoloso R. 2017. Antimicrobial susceptibility patterns of Brazilian *Haemophilus parasuis* field isolates. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 37:1187-1192. 10.1590/s0100-736x2017001100001
- Miniats OP, Smart NL, and Ewert E. 1991. Vaccination of gnotobiotic primary specific pathogen-free pigs against *Haemophilus parasuis*. *Can J Vet Res* 55:33-36.
- Mullins MA, Register KB, Bayles DO, and Butler JE. 2011. *Haemophilus parasuis* exhibits IgA protease activity but lacks homologs of the IgA protease genes of *Haemophilus influenzae*. *Vet Microbiol* 153:407-412. 10.1016/j.vetmic.2011.06.004
- Mullins MA, Register KB, Brunelle BW, Aragon V, Galofre-Mila N, Bayles DO, and Jolley KA. 2013. A curated public database for multilocus sequence typing (MLST) and analysis of *Haemophilus parasuis* based on an optimized typing scheme. *Vet Microbiol* 162:899-906. 10.1016/j.vetmic.2012.11.019

- Oliveira S, Galina L, Blanco I, Canals A, and Pijoan C. 2003. Naturally-farrowed, artificially-reared pigs as an alternative model for experimental infection by *Haemophilus parasuis*. *Can J Vet Res* 67:146-150.
- Oliveira S, Galina L, and Pijoan C. 2001. Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parasuis* infections. *J Vet Diagn Invest* 13:495-501. 10.1177/104063870101300607
- Oliveira S, and Pijoan C. 2002. Diagnosis of *Haemophilus parasuis* in affected herds and use of epidemiological data to control disease. *Journal of Swine Health and Production* 10:221-225.
- Oliveira S, and Pijoan C. 2004. *Haemophilus parasuis*: new trends on diagnosis, epidemiology and control. *Vet Microbiol* 99:1-12. 10.1016/j.vetmic.2003.12.001
- Oliveira S, Pijoan C, and Morrison R. 2004. Evaluation of *Haemophilus parasuis* control in the nursery using vaccination and controlled exposure. *Journal of Swine Health and Production* 12:123-128.
- Peres PR, Prigol SR, Martín CBG, Feronatod C, Suriñach MC, Kreutz LC, and Frandoloso R. 2020. Tildipirosin: An effective antibiotic against *Glaesserella parasuis* from an in vitro analysis. *Veterinary and Animal Science* 10:100136. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2020.100136>
- Pires Espindola J, Balbinott N, Trevisan Gressler L, Machado G, Silene Klein C, Rebelatto R, Gutierrez Martin CB, Kreutz LC, Schryvers AB, and Frandoloso R. 2019. Molecular serotyping of clinical strains of *Haemophilus* (*Glaesserella*) *parasuis* brings new insights regarding Glasser's disease outbreaks in Brazil. *PeerJ* 7:e6817. 10.7717/peerj.6817
- Prigol SR, Guizzo, J.A., Chaudhuri, S., Kreutz, L.C., Schryvers, A.B., Frandoloso, R. 2019. Vacina baseada na proteína TbpBY167A pode prevenir casos clínicos de doença de Glässer produzidos pelo sorovar 7 de *Haemophilus* (*Glaesserella*) *parasuis*. In: Bortolozzo F, Wentz, I., Takeuti, K.L., Mellagi, A.P.G., Ulguim, R.R., Barcellos, D.E., editor. XII Sinsui. Porto Alegre, Brazil: UFRGS gráfica. p 242-243.
- Rafiee M, Bara M, Stephens CP, and Blackall PJ. 2000. Application of ERIC-PCR for the comparison of isolates of *Haemophilus parasuis*. *Aust Vet J* 78:846-849.
- Rapp-Gabrielson V, Oliveira S, and Pijoan C. 2006. *Haemophilus parasuis*. In: Press ISU, ed. *Disease of Swine*. 9th ed ed. Iowa, 1153.
- Rapp-Gabrielson VJ. 1999. *Haemophilus parasuis*. In: University IS, ed. *Diseases of Swine* 8th ed, 475-482.
- Segalés J. 1996. Enfermedad de Glässer: conceptos generales de la infección por *Haemophilus parasuis*. *Med Vet* 13:595-605.
- Segers RPAM, Witvliet MH, and Hensen SM. 2009. Vaccine for protection against *haemophilus parasuis* serotype 4 in piglets. Google Patents.
- Smart NL, Miniats OP, and MacInnes JI. 1988. Analysis of *Haemophilus parasuis* isolates from southern Ontario swine by restriction endonuclease fingerprinting. *Can J Vet Res* 52:319-324.

- Solano-Aguilar GI, Pijoan C, Rapp-Gabrielson V, Collins J, Carvalho LF, and Winkelman N. 1999. Protective role of maternal antibodies against *Haemophilus parasuis* infection. *Am J Vet Res* 60:81-87.
- Takahashi K, Naga S, Yagihashi T, Ikehata T, Nakano Y, Senna K, Maruyama T, and Murofushi J. 2001. A cross-protection experiment in pigs vaccinated with *Haemophilus parasuis* serovars 2 and 5 bacterins, and evaluation of a bivalent vaccine under laboratory and field conditions. *J Vet Med Sci* 63:487-491.
- Turni C, Pyke M, and Blackall PJ. 2010. Validation of a real-time PCR for *Haemophilus parasuis*. *J Appl Microbiol* 108:1323-1331. 10.1111/j.1365-2672.2009.04526.x
- Turni C, Singh R, and Blackall PJ. 2018. Virulence-associated gene profiling, DNA fingerprinting and multilocus sequence typing of *Haemophilus parasuis* isolates in Australia. *Aust Vet J* 96:196-202. 10.1111/avj.12705
- Vahle JL, Haynes JS, and Andrews JJ. 1997. Interaction of *Haemophilus parasuis* with nasal and tracheal mucosa following intranasal inoculation of cesarean derived colostrum deprived (CDCD) swine. *Can J Vet Res* 61:200-206.
- Wang H, Liu L, Cao Q, Mao W, Zhang Y, Qu X, Cai X, Lv Y, Chen H, Xu X, and Wang X. 2018. *Haemophilus parasuis* alpha-2,3-sialyltransferase-mediated lipooligosaccharide sialylation contributes to bacterial pathogenicity. *Virulence*. 10.1080/21505594.2018.1502606

PRRS: medidas para minimizar o risco de introdução desta doença no rebanho

Marcelo N. Almeida, Giovani Trevisan,
Edison Magalhães e Cesar A. A. Moura, Daniel C. L. Linhares.
Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine Department,
College of Veterinary Medicine, Iowa State University,
Lloyd Veterinary Medical Center, 1809 S Riverside Dr., Ames, IA 50011-3619.

Destaques:

1. Uma poderosa caixa de ferramentas incluindo estratégias, materiais e métodos eficazes foi desenvolvida para a prevenção, detecção e gerenciamento de infecções por PRRSV.

2. A maioria dessas ferramentas pode ser usada para controlar outros patógenos endêmicos atualmente em circulação no Brasil.

3. Até onde sabemos, várias dessas ferramentas não estão sendo implementadas atualmente em muitas das operações suínas brasileiras. Assim, os autores encorajam fortemente gestores e médicos veterinários a considerar a implementação dessas ferramentas. Isso permitiria o preparo para infecção pelo vírus da PRRSV e outros agentes emergentes na suinocultura global além de, ao mesmo tempo, trazer benefícios na eficiência de produção de suínos no curto prazo.

Introdução

Este manuscrito é um resumo do material apresentado pelo nosso grupo na conferência online do FarmaTalks, apresentada em 12 de agosto de 2020 a partir dos estúdios da Farmabase no Brasil. O principal objetivo foi resumir e destacar as principais estratégias e ferramentas que foram desenvolvidas para gerenciar o vírus da síndrome respiratória e reprodutiva dos suínos (PRRSV) em populações suínas. O objetivo secundário foi ilustrar que várias dessas estratégias, apesar de terem sido desenvolvidas em resposta ao PRRSV, foram adaptadas e implementadas para outros patógenos, incluindo *Mycoplasma hyopneumoniae*, Senecavirus A (SVA) e coronavírus entérico dos suínos (PEDV).

Assim como a apresentação, este artigo é organizado nas seguintes seções: considerações sobre o PRRSV, prevenção, diagnóstico, epidemiologia e controle, e situação Brasil.

Considerações sobre o PRRSV

O PRRSV é um vírus da família Arterividae que afeta somente suínos, estando presente em todos os países com produção de suínos relevante a nível global, com algumas poucas exceções incluindo o Brasil, onde é exótica.

O PRRSV é sub-dividido em duas espécies, PRRSV-1 também conhecido como espécie de origem européia, e o PRRSV-2, também conhecido como tendo origem norte-americana. Ambas espécies tem circulação global, apesar de terem algumas exceções, como por exemplo, na Espanha um artigo recente conduzido em um dos maiores sistemas de produção de suínos reportou detecção apenas do PRRSV-2 (Torrents et al., 2019). Estudos com vacinação usando vírus vivo atenuado reportam alguma proteção cruzada do PRRSV-2 contra PRRSV-1 mas não vice-versa.

O impacto econômico do PRRSV nos EUA foi estimado a U\$ 250 por porca, U\$ 2-20 por cevado, ou aproximadamente um bilhão de dólares por ano naquele país (Holtkamp et al., 2013).

O PRRSV é um dos vírus mais mutagênicos conhecidos, evoluindo em velocidade mais rápida do que os vírus da Influenza ou da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) (Jenkins et al., 2002; Hanada et al., 2005).

A excreção do vírus pode ser detectada a partir de fluídos orais, sêmen, secreções e aerossóis respiratórios. A transmissão pode ocorrer por vias diretas e indiretas, sendo a primeira pelas formas horizontal e vertical. Tanto cepas patogênicas quanto atenuadas tem alto potencial de transmissão em populações susceptíveis. Similarmente, a manifestação clínica da infecção por PRRSV depende de diversos fatores incluindo o nível de imunidade do rebanho, virulência da cepa viral em questão, e outros fatores de estresse. Em outras palavras é possível (e comum em populações endêmicas) a infecção pelo PRRSV sem manifestação clínica evidente. Por outro lado, introdução de cepas altamente patogênicas em populações naïve podem gerar impacto clínico severo incluindo perdas reprodutivas expressivas, assim como atraso no desempenho de crescimento e aumento na taxa de mortalidade de todas idades.

Uma das principais características da replicação do PRRSV é que esse processo se dá principalmente nos macrófagos em pulmões, o que cause um impacto significativo na habilidade do sistema imune em responder efetivamente a outros desafios sanitários. Por isso existe uma sinergia importante na infecção por PRRSV e agentes secundários, incluindo o vírus da Influenza A, *Mycoplasma hyopneumoniae*, ou *Streptococcus suis*.

Prevenção

O objetivo dessa seção não é fazer uma revisão completa de práticas e aspectos de biossegurança, mas sim ressaltar os aspectos de biossegurança que foram desenvolvidos e/ou aprimorados em resposta a PRRSV. É importante

salientar que grande parte dessas estratégias tem se mostrado eficazes na prevenção de vários outros agentes infecciosos.

Considerando que o PRRSV, assim como outros vírus, possuiu uma meia-vida de infectividade relativamente alta (ou seja, mantém-se infeccioso por muito tempo no meio ambiente) em temperaturas baixas, é muito importante assegurar que carretas usadas para transporte de animais sejam propriamente descontaminadas entre carregamentos. É consenso entre especialistas que biossegurança de transporte é um fator chave na prevenção de PRRSV. Fatores relacionados com biossegurança de transporte incluem procedimentos para lavagem e descontaminação da carreta e cabine, procedimentos para assegurar secagem completa pós-lavagem, seja por meios naturais ou pelo uso de ventiladores. Para veículos transportando suínos de alto valor, como suínos para reprodução, é comum o uso de ar quente forçado (thermo-assisted drying and decontamination - TADD) com o objetivo de alcançar altas temperaturas (70-72°C) por 20 a 30 minutos, assegurando a inativação do vírus. Segundo Dr. Gustavo Simão, unidades de TADD foram implementadas com sucesso no Brasil. Outros pontos da biossegurança de transporte incluem garantir que o motorista permaneça na cabine (ou seja, sem contato com o carregador ou qualquer acesso a granja); o uso de rotas de transporte de suínos baseados em pirâmides sanitárias; e possuir frota de carretas dedicadas a pirâmides 'limpas' - ou seja, carretas que tem acesso a granjas positivas para PRRSV (ou seja, excretando vírus) não devem ter acesso a granjas negativas.

Outro ponto importante de biossegurança contra PRRSV é o conceito de biossegurança em camadas onde múltiplas 'zonas' são implementadas para minimizar risco de transporte do vírus entre área suja e área limpa. Um exemplo simples é o uso de zoneamento durante o procedimento de carregamento de leitões de desmama, aonde ao invés de simples divisão entre área suja / área limpa, uma (ou múltiplas) área(s) de transição com funcionários e utensílios dedicados a esta(s) zona(s) é(são) implementada(s). No final do processo, as zonas de transição podem ser descontaminadas iniciando da mais próxima aos animais para a mais distante. Outros conceitos importantes incluem esforços para implementar fluxos (pessoas e animais) unidirecionais, número mínimo de origens, uso de reposição interna garantindo a autossuficiência de reposição genética), a aclimação sanitária de leitões o quanto antes possível da introdução no rebanho reprodutivo (idealmente no mínimo 90 dias antes); o uso de quarentenário com introdução de animais no rebanho após confirmação com testes de diagnóstico do status negativo; e uso de escores de biossegurança para ajudar a entender o grau de vulnerabilidade de introdução de patógenos no rebanho (Silva et al., 2019).

Diagnóstico

Sorologia é um método amplamente usado principalmente para fazer a triagem em populações supostamente negativas (para confirmar este status) para PRRSV. A soroconversão ocorre entre 7 a 14 dias pós infecção e pode ser

detectada com kits comerciais como o da IDEXX. Em casos de resultados positivos não-esperados, a confirmação pode ser feita por IFA ou IPMA. A amostragem para sorologia pode ser feita em animais de todas idades, utilizando fluídos de processamento, fluídos orais, ou soro sanguíneo.

A detecção do RNA viral é feita pelo teste de rRT-PCR, detectando viremia em sangue ou fluídos de processamento, ou excreção em fluídos orais de família, fluídos orais de animais de crescimento, abate, ou reprodutores, ou no ar (Prickett et al., 2008; Almeida et al., 2018; Lopez et al., 2018; Almeida et al., 2019; Trevisan et al., 2019a; Trevisan et al., 2019b; Trevisan et al., 2020). A técnica de rRT-PCR também pode ser usada para detecção de status portador do vírus (ou seja, animal infectado mas não-virêmico, e não-excretor) em tonsilas, pulmões ou linfonodos. A detecção de circulação viral em rebanhos de sítio 1 é comumente feita utilizando fluídos de processamento, fluídos orais de família, ou soro de leitões lactentes.

Dados de produção agregados diariamente ou semanalmente podem também ser incorporados no plano de monitoria de PRRSV, complementando os resultados de diagnóstico (Silva et al., 2017). Isso pode ser feito de maneira manual ou automatizada. O objetivo é detectar mudanças significativas em indicadores de produtividade que são tipicamente alterados em função de PRRSV como por exemplo, número de abortos, mortalidade pré-natal (mumificados e natimortos), mortalidade de leitões lactentes, ou indicadores de desempenho de crescimento como ganho de peso diário, e taxa de sobrevivência da desmama até o abate.

Ferramentas de epidemiologia de campo para o controle ou eliminação de PRRSV

Tanto para controle quanto para eliminação de PRRSV de populações suínas, é importante a adoção de estratégias para minimizar a circulação e disseminação do vírus dentro do rebanho, como o uso de fluxo animal unidirecional e uso de estratégias de imunização do plantel. Dentre as ferramentas mais usadas, destacamos o uso de medidas de biossegurança interna (ou seja, biocontenção), evitando disseminação do vírus entre gaiolas, salas, e barracões; o uso de vacinas sobretudo atenuadas para geração de proteção imune (idealmente) homóloga no rebanho; o fechamento temporário de granja, ou seja, interrupção temporária de entrada de animais de reposição; e o fluxo de leitões garantindo entrada de animais imunes e sem excreção em rebanhos em processo de controle/eliminação do vírus.

Assim como qualquer projeto, é importante que programas de controle ou eliminação do PRRSV sejam monitorados de perto usando métricas apropriadas. Algumas métricas que utilizamos, garantindo gerenciamento dos processos e comparação de diferentes ferramentas em estudos de campo incluem:

proporção de sucesso na eliminação do vírus dentro de um período pré-acordado (e.g., 1 ano); tempo para produzir de forma consistente leitões negativos para PRRSV; tempo para recuperar o nível de produtividade que a granja tinha antes da infecção pelo vírus; perdas totais calculadas em número de leitões desmamados abaixo do esperado desde a infecção até recuperação de normalidade; e análise de custo:benefício do programa de controle/eliminação. De uma forma geral, as vacinas atenuadas, especialmente em combinação com fechamento temporário de granja são boas ferramentas para eliminação do vírus de granjas infectadas. Vacinas atenuadas também são eficazes na redução de pneumonia e redução de impacto no crescimento de suínos. Muitos veterinários optam a fazer vacinação preventiva em granjas com surtos frequentes (a cada 2-3 anos ou mais frequente). Muitos veterinários usam também a vacina em resposta (ou seja, uso “terapêutico”) a surtos. A tabela abaixo resume nossas recomendações gerais para o controle e eliminação de PRRSV de populações infectadas.

O que	Alvo, rota para eliminação	Alvo, rota para controle
Circulação viral (prevalência)	Zero	Baixa
Tipo de vírus PRRS	De campo para nenhum	De campo para MLV
Leitoas de reposição	Naíve quando prevalência chega a zero	Previamente imunizada (2-3 meses), sem excreção
Sêmen	Naíve	Naíve
Estratégia de vacinação de leitões	Depende da probabilidade de infecção e severidade do PRRSV na região*	Depende da probabilidade de infecção e severidade do PRRSV na região*

* Variando de múltiplas doses a partir da 1ª semana de vida (situações de alto desafio), até nenhuma vacinação (leitões negativos em regiões livres).

Realidade Brasil

No Brasil, considerando a grande frequência de fluxos contínuos, ventilação natural, mistura de origens, presença de animais de crescimento dentro de fazendas onde também há plantéis reprodutivos, e a baixa adoção de programas de aclimação precoce de leitoas e quarentenários, acreditamos que uma eventual introdução de PRRSV no país resultaria em um impacto econômico significativamente maior do que aquele nos EUA. Com isso, torna-se vital a importância de o país continuar unindo esforços para evitar a introdução de

PRRSV, apesar de diversos países vizinhos serem positivos.

São muitas as ferramentas e conceitos desenvolvidos para PRRSV que servem, na grande maioria das vezes e com pequenas alterações, para PEDV, *Mycoplasma*, Seneca, Rotavírus, Salmonella, *Brachyspira*, *Lawsonia*, e outros agentes. Portanto, deixamos a pergunta para reflexão de líderes e gestores da suinocultura no Brasil: *por que não implementar esses conceitos e estratégias hoje, nos preparando para os grandes desafios do futuro, enquanto melhoramos a eficiência de produção e cultura de sanidade/biossegurança no curto prazo?*

Acreditamos que com o aumento do tamanho das populações de suínos (granjas, sistemas de produção), aumento da competitividade global na produção de suínos, e aumento da diversidade de patógenos, **o valor da sanidade só tende a aumentar ao longo do tempo**, diferenciando aqueles que tem lucro vs perdas. Com isso o investimento em sanidade se paga no curto e no longo prazo através de uma melhor eficiência de produção.

Referências bibliográficas

- Almeida, M.N., Rotto, H., Schneider, P., Robb, C., Zimmerman, J.J., Holtkamp, D.J., Rademacher, C.J., Linhares, D.C.L., 2019. Collecting oral fluid samples from due-to-wean litters. *Prev Vet Med* 174, 104810.
- Almeida, M.N., Zimmerman, J.J., Wang, C., Linhares, D.C.L., 2018. Assessment of abattoir based monitoring of PRRSV using oral fluids. *Prev Vet Med* 158, 137-145.
- Hanada, K., Suzuki, Y., Nakane, T., Hirose, O., Gojobori, T., 2005. The origin and evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Molecular biology and evolution* 22, 1024-1031.
- Holtkamp, D., Kliebenstein, J., Neumann, D., 2013. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on United States pork producers. *J Swine Health Prod* 21, 72-84.
- Jenkins, G.M., Rambaut, A., Pybus, O.G., Holmes, E.C., 2002. Rates of molecular evolution in RNA viruses: a quantitative phylogenetic analysis. *Journal of Molecular Evolution* 54, 156-165.
- Lopez, W.A., Angulo, J., Johnson, C., Zimmerman, J.J., Linhares, D.C.L., 2018. Processing fluids for PRRSV monitoring and surveillance systems. In, 49th Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians, San Diego, CA, 61-62.
- Prickett, J.R., Kim, W., Simer, R., Yoon, K.-J., Zimmerman, J., 2008. Oral-fluid samples for surveillance of commercial growing pigs for porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 infections. *Journal of Swine Health and Production* 16, 86-91.
- Silva, G.S., Machado, G., Baker, K.L., Holtkamp, D.J., Linhares, D.C.L., 2019. Machine-learning algorithms to identify key biosecurity practices and factors associated with breeding herds reporting PRRS outbreak. *Preventive Veterinary Medicine* 171.

- Silva, G.S., Schwartz, M., Morrison, R.B., Linhares, D.C.L., 2017. Monitoring breeding herd production data to detect PRRSV outbreaks. *Prev Vet Med* 148, 89-93.
- Torrents, D., Miranda, J., Pedrazuela, R., Gauger, P.C., Ramirez, A., Linhares, D.C.L., 2019. Implementation of PRRSV status classification system in swine breeding herds from a large integrated group in Spain. *Porcine Health Manag* 5, 26.
- Trevisan, G., Jablonski, E., Angulo, J., Lopez, W.A., Linhares, D.C.L., 2019a. Use of processing fluid samples for longitudinal monitoring of PRRS virus in herds undergoing virus elimination. *Porcine Health Manag* 5, 18.
- Trevisan, G., Linhares, L.C.M., Crim, B., Dubey, P., Schwartz, K.J., Burrough, E.R., Main, R.G., Sundberg, P., Thurn, M., Lages, P.T.F., Corzo, C.A., Torrison, J., Henningson, J., Herrman, E., Hanzlicek, G.A., Raghavan, R., Marthaler, D., Greseth, J., Clement, T., Christopher-Hennings, J., Linhares, D.C.L., 2019b. Macroepidemiological aspects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection by major United States veterinary diagnostic laboratories over time, age group, and specimen. *PLoS One* 14, e0223544.
- Trevisan, G., Linhares, L.C.M., Crim, B., Dubey, P., Schwartz, K.J., Burrough, E.R., Wang, C., Main, R.G., Sundberg, P., Thurn, M., Lages, P.T.F., Corzo, C.A., Torrison, J., Henningson, J., Herrman, E., Hanzlicek, G.A., Raghavan, R., Marthaler, D., Greseth, J., Clement, T., Christopher-Hennings, J., Muscatello, D., Linhares, D.C.L., 2020. Prediction of seasonal patterns of porcine reproductive and respiratory syndrome virus RNA detection in the U.S. swine industry. *J Vet Diagn Invest*, 1040638720912406.

02

Saúde Entérica



Rotavírus: Como controlar os diferentes sorotipos - experiência norte-americana

Jeremy S Pittman, DVM, MS, DABVP
Smithfield Hog Production - North Region
Waverly, Virginia, USA

Introdução

Os rotavírus são causa comum de diarreia neonatal e no período pós-desmame de suínos em todo o mundo.¹ A diarreia é primariamente um mecanismo de má absorção em decorrência da destruição dos enterócitos apicais por vírus, resultando em enterite atrófica, mas também há um mecanismo secretor em virtude da liberação de uma enterotoxina viral.^{1,2} A diarreia clínica por rotavírus resulta em redução do ganho de peso (225-635 gramas no desmame), aumento dos custos com tratamento, morbidade e mortalidade (3-20%).³⁻⁵ A maioria das perdas ocorre em leitões lactentes com menos de 1-2 semanas de idade; no entanto, a diarreia pós-desmame pode ser significativa, especialmente se houver coinfeções ou outros fatores de estresse. Embora os rotavírus em suínos sejam conhecidos há algum tempo⁶, desenvolvimentos recentes de ferramentas diagnósticas (PCR multiplex, análise de sequência) destacaram a prevalência e a diversidade na produção suína atualmente.^{2,7} Rotavírus comumente observados em suínos são os tipos A (RVA), B (RVB) e C (RVC), e embora E e H tenham sido relatados, esses tipos são menos prevalentes.¹ Curiosamente, RVC parece ser o que mais tem frustrado aos veterinários, com medidas de controle de sucesso variável.^{3,8,9} RVB aparentemente é menos prevalente e em geral não é o foco em apresentações ou discussões a respeito do controle do rotavírus. Há uma suposição geral de que o RVC é mais prevalente no período pré-desmame e que o RVA é mais prevalente no pós-desmame; no entanto, RVA, RVB e RVC podem ser observados em qualquer idade em suínos² e dependerão da imunidade do rebanho, dinâmica populacional e exposição ambiental. É importante notar que um indivíduo pode ser coinfectado por vários tipos (RVA, RVB e RVC) de rotavírus¹⁰ e, provavelmente, também ocorrem coinfeções por tipos (isto é, vários tipos G).

Desafios

Os rotavírus são vírus de RNA de fita dupla não envelopados, com um genoma de 11 segmentos, o que permite recombinação e aumento das taxas de mutação.^{7,11} Não há imunidade cruzada entre os serotipos RVA, RVB e RVC, o que significa que o controle deve ser considerado de forma independente e voltado para cada um deles. Entre os tipos, há mais diversidade genética dos epítomos imunogênicos; as proteínas de capsídeo externo VP7 (grupo G) e VP4 (grupo P), que induzem imunidade neutralizante.⁷ A variação dentro dos grupos de rotavírus (A, B, C) nos tipos G e P, gera diversidade significativa e limita a proteção cruzada entre os isolados. O rotavírus tem sido mencionados como a “influenza do intestino”, devido às características descritas anteriormente, e o controle relativo à vacinação possivelmente apresenta desafios semelhantes quando comparado ao controle da influenza em suínos.⁴¹ Dois outros epítomos de interesse são: o capsídeo interno mais conservado VP6 (define o tipo A / B / C), que produz anticorpos de reação cruzada dentro do grupo apenas⁴¹; e a glicoproteína não estrutural NSP4, que atua como uma enterotoxina viral, resultando em diarreia secretora.¹² Mais estudos são necessários a respeito da eficácia clínica da imunidade a esses epítomos posteriores, mas pode ser que garantam uma proteção mais ampla contra rotavírus se usados em combinação com epítomos VP7 e VP4.

Uma das maiores limitações em relação ao avanço do conhecimento e controle do rotavírus é que apenas RVA cresce de imediato em cultura de células, enquanto RVB e RVC são muito mais difíceis de crescer. O que limita o desenvolvimento de pesquisas, testes diagnósticos e vacinas comerciais. A única vacina comercial contra rotavírus disponível para suínos na América do Norte é um vírus *RVA-based* (baseado em RVA) vivo modificado (ProSystem Rota line, Merck Animal Health, Madison, NJ). Foi possível, embora difícil, desenvolver vacinas autógenas limitadas contra RVC usando métodos convencionais ou a plataforma de tecnologia de partícula de RNA (RP) (SEQUIVITY, Merck Animal Health, Madison, NJ). No entanto, a eficácia dessas vacinas foi avaliada apenas recentemente e os dados são limitados.^{4,5}

O desenvolvimento de testes de diagnósticos tem sido difícil devido à natureza fastidiosa de RVB e RVC. Embora, atualmente dispomos de testes como PCR multiplex⁷ e hibridização *in situ*¹³, ainda faltam testes comerciais para outras ferramentas úteis, como sorologia tipo-específica e imunohistoquímica (apenas RVA IHC está disponível). Os testes sorológicos para RVA e RVC são atualmente limitados à pesquisa em pequenas proporções. Trabalho recente de Chepngo et al. utilizou um ELISA feito de partículas semelhantes ao vírus RVC, que poderia ser benéfico se comercializado.¹⁴ Embora essas ferramentas possam não adicionar vantagem significativa ao diagnóstico de rotavírus à campo, elas serviriam para nos ajudar a entender melhor a epidemiologia e eficácia das medidas de controle.

Controle

O controle do rotavírus visa o saneamento do ambiente, fornecendo níveis adequados de imunidade materna (passiva) por meio do colostro e do leite (imunidade lactogênica) e estratégias de manejo que maximizam e mantêm a ingestão adequada dos constituintes imunes.^{6,14} Métodos para melhorar a imunidade lactogênica incluem exposição da mãe aos patógenos de alguma forma (“feedback”, vacinação etc) em algum momento antes do parto, com tempo suficiente para desenvolver anticorpos (particularmente IgA e IgG; especificamente direcionados a VP7 e VP4) no leite que neutralizam os rotavírus e previnem a entrada do vírus e danos aos enterócitos.^{15,16} A exposição tardia na gestação, comumente entre 6 e 3 semanas anteriores ao parto, é considerada um reforço da exposição anterior (efeito *booster*), embora essa prática muitas vezes não seja definitivamente conhecida. Tal como acontece com muitas doenças dos suínos, o rotavírus parece ser mais um desafio em leitões / leitegadas de mães, o que é muito provavelmente devido à imaturidade imunológica da leitoa e à qualidade inferior da imunidade lactogênica, em comparação com as fêmeas de ordens de parto superiores.¹⁴

Higienização

Como acontece com a maioria das doenças, e especialmente com patógenos entéricos com transmissão fecal-oral, as medidas sanitárias se torna importante no controle das enfermidades por meio da redução da carga ambiental e da dose do desafio. Qualquer imunidade transferida aos leitões no leite pode ser superada por doses extremamente altas do patógeno. Em galpões de maternidade, os escamoteadores devem ser completamente limpos entre os usos e com sistema *all-in/all-out* em cada galpão de maternidade como um padrão, se possível. A higienização deve incluir o uso de detergente/desincrustante, água quente pressurizada, desinfetante e esperar até que as superfícies sequem por completo. A escolha dos desinfetantes deve ser considerada de forma a abranger os tipos de patógenos de maior preocupação na propriedade. Os Rotavírus, por serem não envelopados, seriam mais sensíveis aos aldeídos e hipoclorito de sódio (alvejante) seguido por álcalis e peroxigênios. O espectro antimicrobiano de desinfetantes comuns pode ser encontrado em: [<http://www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/Assets/AntimicrobialSpectrumDisinfectants.pdf>] É importante notar que muitos desinfetantes têm ação reduzida na presença de material orgânico, portanto, a limpeza completa das superfícies antes da desinfecção é fundamental. Permitir que as superfícies sequem completamente faz com que os patógenos sejam mortos por dessecação; no entanto, em muitos sistemas de produção atualmente, o tempo é um *commodity* e o fluxo de suínos pode não permitir um tempo de secagem adequado. Nesse caso, adicionar calor ou dessecantes às superfícies pode ser benéfico, mas deve ser avaliado quanto à eficácia.

Vacinas

Vacinas vivas modificadas comerciais para rotavírus do tipo A para suínos (ProSystem Rota / RCE, Merck Animal Health, Madison, NJ) existem e são geralmente relatadas como eficazes quando implementadas. A eficácia geral da vacina está provavelmente relacionada à natureza viva modificada da vacina, que se replicaria ativamente e estimularia a imunidade entérica no animal. Existem dois tipos G (G9 e G5 com base na análise de sequência) incluídos na vacina, portanto, a falha da vacina pode ser devido a uma incompatibilidade com o tipo G em uma propriedade ou sistema específico.

Parte do desafio e da frustração com RVB e RVC é a dificuldade de isolar e se adaptá-los ao cultivo celular, e com isso impossibilitando o desenvolvimento de vacinas convencionais. Portanto, métodos não tradicionais de desenvolvimento de vacinas, como partícula de RNA, expressão de baculovírus ou partículas semelhantes ao vírus (*virus-like*) são necessários, mas esses métodos podem ser caros e limitar a imunogenicidade da vacina. Até o momento, existem poucos relatos a respeito da eficácia das vacinas direcionadas contra RVC^{4,5,17}, no entanto, o desenvolvimento de vacinas eficazes para vários tipos de rotavírus seria benéfico ao remover os aspectos negativos e riscos envolvidos com a exposição natural planejada (“feedback”) discutidos a seguir. Mais estudos precisam ser feitos para demonstrar a eficácia das diferentes metodologias em relação as vacinas.

É preciso levar em conta que o uso de uma vacina morta ou tecnologia que não resulte em imunidade semelhante à infecção viva, muito provavelmente não produz uma boa imunidade como um protocolo isoladamente. Muitas dessas estratégias de vacinação exigirão que os animais sejam expostos ao vírus vivo, por meio de exposição natural ou planejada, e então submetidos a um reforço com a vacina no momento programado antes do parto para maximizar a imunidade.

Como explicado acima, os rotavírus são geneticamente diversos e a seleção do isolado da vacina é importante. A seleção do isolado para uma vacina deve levar em consideração tanto o sorotipo (A, B, C) como os tipos G (VP7) e/ou P (VP4). Isso se torna mais importante e desafiador ao desenvolver uma vacina para várias propriedades ou sistemas. A pesquisa sugere que tanto G quanto P são epítomos importantes para imunidade neutralizante, no entanto, as vacinas podem conter apenas epítomos do tipo G. Com a análise de sequenciamento, podemos determinar a porcentagem geral de semelhanças de ácidos nucleicos e aminoácidos (AA) entre epítomos isolados, mas há muito pouca informação sobre quais alterações específicas de AA influenciam a imunologia clínica. Como uma diretriz vaga, 95% de similaridade AA ou acima é o nível atualmente utilizado para prever proteção cruzada clínica. Devido a essas questões, o autor acredita que o uso bem-sucedido de uma vacina contra rotavírus incorpora algum nível de vigilância em particular e comparações de análise de sequenciamento.

Exposição natural planejada (*feedback*)

Devido à frustração com o controle de RVB e RVC, e falta de vacinas convencionais, vários métodos criativos foram desenvolvidos para controlar o rotavírus.^{3,8,9,18-20} A exposição proposital a qualquer combinação de diarreia, dejetos, tecidos às matrizes, comumente conhecido como “feedback” ou Exposição Natural Planejada (ENP), tem sido usada há muito tempo como uma medida de controle para patógenos entéricos e sistêmicos em granjas de suínos.²¹ As principais preocupações com este método são: 1) o controle temporário e “montanha-russa”²², efeito frequentemente observado quando o material infeccioso já não está mais disponível a partir do momento que a doença está controlada; e 2) a qualidade inconsistente e o desconhecimento de quais patógenos estão ou não, presentes no material de “feedback”²³.

Em uma tentativa de controlar melhor o efeito “montanha-russa”, algumas pessoas que praticam a técnica aprimoraram o processo descrito acima, congelando grandes quantidades de material de “feedback” na propriedade. Embora isso ajude prolongar a vida útil do material “infeccioso” entre mais grupos de reprodutoras, ainda não leva em conta os problemas relacionados aos patógenos desconhecidos nem a constância entre os lotes.

A próxima etapa na evolução do processo de “feedback” foi o método comumente referido como “cubo de gelo”, em que os suínos *colostrum deprived* (CD) (animais intencionalmente privados da ingestão do colostro) recebem material sabidamente positivo para o(s) rotavírus desejado(s), são então mantidos durante o período de replicação viral de forma natural ao longo de 24 horas, em seguida, são eutanasiados e o conteúdo intestinal e/ou tecido intestinal são colhidos, diluídos e congelados para uso futuro em uma exposição do tipo “feedback”. O conteúdo homogeneizado de intestino é, em geral, alíquotado em formas de cubos de gelo como uma forma conveniente de congelar volumes padronizados, originando o termo “cubo de gelo”.

Em uma tentativa de melhorar o método de “cubo de gelo” descrito acima, o autor previamente reportou em um protocolo modificado, no qual o processo era feito ao nível de produção, em camadas por diversas propriedades com RVA e RVC comuns, denominado método “Semente Mestre” (do inglês *Master Seed*).²⁰ O material ENP é metodicamente testado para os principais patógenos (Rotavírus, PRRS, PCV2, PCV3, coronavírus, bactérias, etc.) e considerado “Aprovado ou Reprovado” antes do uso do material congelado em cada propriedade. Embora seja considerada como uma suposta melhoria em relação aos métodos acima, o método “Semente Mestre” ainda apresenta desvantagens semelhantes: 1) os rotavírus continuam a sofrer mutação e atualizações para os isolados podem se fazer necessárias ao nível do sistema ou da propriedade; 2) nunca é possível realizar a triagem para todos os possíveis patógenos; 3) o processo é um trabalho intenso e envolve a eutanásia de leitões; 4) o processo de ENP ainda pode apresentar variabilidade entre as

propriedades; 5) os lotes de ENP ainda são inerentemente altamente variáveis dentro e entre as propriedades. A vantagem desse processo é a possibilidade de padronizar o processo em vários locais e controlar melhor a dose de exposição e o volume fornecido aos animais.

Estudos recentes sugerem que o número de vezes e o tempo de exposição da ENP podem ser aspectos importantes para otimizar o controle do rotavírus.^{4,24} O que é corroborado por outro estudo realizado com o vírus da diarreia epidêmica suína (PED)²⁵, que provavelmente está relacionado de forma semelhante aos mecanismos do eixo imune fêmea-leitão voltado para as enfermidades entéricas em suínos. O trabalho com PED demonstrou que um nível mais alto de imunidade transferida da fêmea para o leitão foi observado quando a exposição inicial às marrãs livres foi realizada na metade do período gestacional em comparação com a exposição ao final da gestação, no entanto, não está claro se ao reforçar uma resposta imune anterior seriam observados os mesmos impactos relacionados ao estágio da gestação. Alguns trabalhos não publicados com vacinas com vírus da PED e rotavírus mortos em animais previamente expostos sugerem que o reforço da imunidade até 1 semana antes do parto fornece uma melhora significativa da proteção clínica. Deve-se ter cuidado, pois a exposição no final da gestação pode aumentar a excreção nas marrãs na entrada da maternidade e aumentar a carga ambiental.

Uma limitação da ENP é que a dose de desafio eficaz para fêmeas prenhes não é conhecida, e é provável que a quantidade de vírus vivo necessária para estimular ou reforçar a imunidade seja bastante alta, especialmente em animais previamente expostos e imunes.²¹ Além disso, a medição da dosagem está limitada aos valores de ciclos do PCR (ct), o que não equivale ao vírus vivo infectante, mas é a única medida atual de carga viral para rotavírus. Os volumes e doses atuais de material de ENP para uso em matrizes parecem ser baseados exclusivamente na experiência individual dos veterinários.

Medidas combinadas

É provável que, com as ferramentas e desafios atualmente disponíveis, uma combinação das estratégias descritas anteriormente seja necessária para o controle bem-sucedido dos rotavírus nas propriedades. É a opinião do autor que os animais de reposição precisam ser expostos de forma proposital ao rotavírus vivos endêmicos ao entrar na propriedade, antes da reprodução. E que em algum momento da gestação sejam vacinadas com o vírus morto, com epítomos semelhantes, para aumentar a imunidade que será transferida para os leitões por meio do leite. Ainda há muitas dúvidas quanto à metodologia para otimizar este protocolo, mas ajustes podem ser feitos à medida que dados estiverem disponíveis. Enquanto isso, controle o que você pode controlar.

Rotavírus pós-desmame

Até o momento, o foco na América do Norte parece estar exclusivamente no controle do rotavírus no período de lactação. Existem poucos relatos ou pesquisas publicadas a respeito do controle do rotavírus pós-desmame. Segundo a experiência do autor, uma proporção muito grande (perto de 100%) dos suínos são infectados com vários rotavírus imediatamente após o desmame, o que se deve a perda de imunidade lactogênica. Em um estudo que acompanhou um subgrupo de suínos desde o nascimento até 3 semanas após o desmame, 100% dos leitões apresentaram resultados positivos no PCR fecal para RVA, RVB e RVC 1, 2 e 3 semanas após o desmame. Seria importante entender se a exposição precoce ao RV (< 14 dias de idade) produz imunidade que forneceria proteção pós-desmame (> 3 semanas de idade) e reduziria as perdas de produção (ganho, morbidade, mortalidade) associadas ao rotavírus. Faria sentido que um melhor controle para o rotavírus durante o período de lactação pudesse aumentar os desafios com rotavírus no pós-desmame, devido à exposição limitada e ao desenvolvimento imunológico ativo dos leitões. No entanto, os suínos menos afetados no início da vida tendem a ser mais robustos após o desmame e, portanto, o impacto relativo do rotavírus seria menor com a idade.

Necessário trabalho futuro

Ainda há muito o que aprender sobre rotavírus, principalmente RVC, em suínos. É opinião do autor que as áreas abaixo devem ser exploradas de forma a fornecer informações valiosas aos veterinários e produtores para um melhor controle do rotavírus.

Veterinários, suinocultores e pesquisadores precisam continuar a avaliar e comunicar o impacto dos rotavírus em suas propriedades, rebanhos e sistemas. Os estudos que avaliam as perdas produtivas e o impacto econômico ajudarão a indústria a caracterizar a oportunidade e ajudar os pesquisadores a garantir financiamento para as pesquisas mais essenciais discutidas a seguir.

Precisamos continuar a desenvolver e prover testes comerciais sorológicos e de anticorpos baseados no leite. Isso permitirá que pesquisadores e veterinários de campo avaliem a imunidade do rebanho e determinem se as medidas de controle estão realmente estimulando uma imunidade eficaz. Esses testes também beneficiariam os estudos a seguir.

Precisamos determinar qual a dose correta ou eficaz de desafio com rotavírus para fêmeas adultas previamente expostas. Uma dose eficaz conhecida ajudaria os veterinários a estabelecer as quantidades de material necessário para os protocolos de exposição, sem desperdiçar de forma excessiva produtos e recursos. A dose de desafio eficaz pode ser diferente para RVA, RVB e RVCs, e pode ser influenciada pelo nível de imunidade prévia dos animais. Com base na experiência e em dados limitados^{5,26}, a opinião do autor é de que a dose eficaz de um material de

ENP deve ter valores de ct no PCR para rotavírus de 20 ou menos para RVA, RVB e/ou RVC. Por exemplo, a taxa de mistura de ENP atual adotada pelo autor é de 0,4 mL inicial por animal a ser exposto, mas primeiro diluída em um volume de água (~ 1%: 0,4 mL de ENP + 39,6 mL de água) de forma a ser pulverizado ou misturado ao alimentado/água (1/2 xícara) para que na forma de alimento seja conveniente para que os funcionários da propriedade forneçam o conteúdo com eficácia.

Mais trabalho precisa ser realizado para definir o momento ideal de exposição e/ou vacinação para maximizar a imunidade materna em animais previamente expostos e/ou animais que nunca tiveram contato com o agente. Tal como acontece com a influenza, compreender as alterações específicas dos aminoácidos em epítomos de rotavírus e como elas se relacionam com a proteção imunológica cruzada dentro dos sorotipos G, P seria benéfico para prever quando as vacinas precisariam ser atualizadas, ou quais isolados forneceria proteção mais ampla para as estirpes circulantes em uma propriedade, sistema ou região. A análise clínica dos dados de sequência para rotavírus ainda é muito recente.

Com a eficácia relativa da vacina RVA viva modificada disponível, seria benéfico o trabalho contínuo na adaptação do RVB e RVC às culturas de células permitindo a fabricação de vacinas vivas modificadas multivalentes. Vacinas vivas modificadas multivalentes podem ser utilizadas para avaliar a eficácia na prevenção ou mitigação dos impactos do rotavírus em suínos após o desmame. Uma área que não é bem compreendida é a epidemiologia dos rotavírus em rebanhos de reprodução. Subpopulações podem existir em rebanhos e resultar em doenças endêmicas que se perpetuam. É altamente provável que os animais de reposição sejam infectados subclínicamente e tragam rotavírus para dentro das granjas. Se as cepas de entrada forem semelhantes às cepas presentes no sistema, a doença endêmica pode persistir, mas a alteração na origem das leitões pode resultar em novas cepas diferentes de rotavírus entrando em um rebanho e, portanto, resultar na ocorrência de prováveis epidemias da doença.

Resumo

O rotavírus continua a ser um patógeno predominante identificado na diarreia de leitões em todo o mundo. A complicação no controle da doença deve-se principalmente à diversidade antigênica e ao caráter fastidioso dos rotavírus, limitando as técnicas diagnósticas e imunológicas disponíveis aos pesquisadores e veterinários. Além disso, em comparação com outros patógenos suínos, o trabalho com rotavírus é limitado. Como resultado, veterinários e produtores se frustraram com o controle do rotavírus e desenvolveram técnicas únicas para tentar controlar a enfermidade com resultados variados. Novas tecnologias estão se tornando disponíveis e nos permitirão entender melhor a diversidade dos rotavírus, avaliar a epidemiologia e manipular a imunidade de forma a controlar o rotavírus e manifestações clínicas subsequentes.

Referências bibliográficas

- Vlasova AN, Amimo JO, Saif LJ. 2017. Porcine Rotaviruses: Epidemiology, Immune Responses and Control Strategies. *Viruses*. 9(3):48.
- Torrison J, Marthaler D, Rossow K. 2010. Porcine Rotavirus: New Twists or New Tests. *ISU Swine Disease Conference*, Ames, IA. 13-20.
- Groth D. 2014. Clinical management of rotavirus. *Proc AASV*. 561-562.
- Anderson AV, Madigan J, Holtkamp D, Dominguez F, Pittman JS, Marthaler D. 2018. Evaluating natural planned exposure protocols on rotavirus shedding patterns in gilts and the impact on their suckling pigs. *Proc AASV*. 64-66.
- Boyd W, Pittman J, Wolfe Z, Kumar D, Marthaler D. 2020. Comparison of prefarrow rotavirus vaccine and natural planned exposure on suckling pig performance. *Proc AASV*. 228-229.
- Saif, LJ. 1999. Enteric Viral Infections of Pigs and Strategies for Induction of Mucosal Immunity. *Adv Vet Med*. 41:429-446.
- Marthaler D, Ciarlet M. 2014. Porcine Rotaviruses: What we've learned and what we're still missing. *Proc AASV*. 13-14.
- Dufrese L. 2012. Rotavirus: Field challenges of prevention and control of a reemerging disease. *Proc AASV*. 433-434.
- Sprague M. 2013. Rotavirus and undifferentiated diarrhea in suckling piglets: Case management/control methods. *Proc AASV*. 535-536.
- Madson D, Hoang H, Arruda P, Stevenson G, Yoon K-J. 2012. Rotavirus Coinfection: Diagnostic Overview. *Proc ISU Swine Dis Conf*. 69-72.
- Saif LJ, Vlasova A, Chattha K. 2011. The ABCs of swine rotaviruses. *Proc AASV*. 435-440.
- Zhang M, Zeng C Q-Y, Morris AP, Estes MK. 2000. A Functional NSP4 Enterotoxin Peptide Secreted from Rotavirus-Infected Cells. *J Virology*. 74(24):11663-11670.
- Resende TP, Marthaler D, Vannucci FA: 2016. A novel diagnostic platform for *in situ* detection and subtyping of rotaviruses and influenza A in pigs. *IPVS*. Dublin, Ireland. 458.
- Chepngeno J, Diaz A, Paim FC, Saif LJ, Vlasova AN. 2019. Rotavirus C: prevalence in suckling piglets and development of virus-like particles to assess the influence of maternal immunity on the disease development. *Vet Res*.50:84-96.
- Paul PS, Lyoo YS. 1993. Immunogens of rotaviruses. *Vet Micro*. 37:299-317.
- Angel J, Franco MA, Greenberg HB. 2012. Rotavirus immune responses and correlates of protection. *Current Opin Virol*. 2:419-425.
- Classen DM. 2014. Rotavirus piglet diarrhea – Diagnostic and control strategies; deno-grams, feedback, and vaccines. *Proc AASV*. 21-22.
- Armbrecht P. 2010. Manure Feedback Helps Control Rotavirus in Young Pigs. *Natio-*

nal Hog Farmer. available at: <https://www.nationalhogfarmer.com/health-diseases/archive/feedback-rotavirus-young-pigs-0215>

Vansickle J. 2012. Refining Feedback. *National Hog Farmer*. Available at: <https://www.nationalhogfarmer.com/health/refining-feedback>

Pittman JS. 2016. Field Experiences with Interventions for Rotavirus Control. *Proc James D McKean Swine Dis Conf*. 30-36.

Schwartz K: 2014. The science of feedback. *22nd Annual Iowa State University Swine Disease Conference for Swine Practitioners*. Ames, IA. pp 51-66.

Bruner L: 2011. Field experiences with rotavirus type C and *Clostridium* spp. *Allen D Lemman Swine Conference*. St Paul, MN. pp 81-82.

Robbins R and Byers E: 2013. What do we really know about feedback to gestating dams? *AASV*. San Diego, CA. pp 537-540.

Farkas A, Ochoa L, Greiner L. 2020. Effect of different natural planned exposure (NPE) strategie on the shedding of rotavirus A, B, C, ad pre-wean morbidity and mortality in an endemic sow farm. *Proc AASV*. 357-358.

Langel SN, Paim FC, Alhamo MA, Buckley A, Van Geelen A, Lager KM, Vlasova AN, Saif LJ. 2019. Stage of Gestation at Porcine Epidemic Diarrhea Virus Infection of Pregnant Swine Impacts Maternal Immunity and Lactogenic Immune Protection on Neonatal Suckling Piglets. *Frontiers Immunology*. 10:Article 727.

Pittman JS, Anderson A, Boyd W, Madigan J, Wolfe Z. 2019. Update on rotavirus control from the field. *Proc James D McKean Swine Dis Conf*. 87-96.

Estratégias para Prevenir e Controlar a Enteropatia Proliferativa (Ileíte)

Nathan L. Winkelman, DVM
Swine Services Unlimited, Inc.
Rice MN USA

A indústria de produção de suínos possui hoje as informações e ferramentas para tentar tanto prevenir a ileíte em rebanhos de matrizes, ou entre lotes, como também para eliminá-la dos sistemas que atualmente são positivos. Como os rebanhos de suínos excretam patógenos causadores de doenças economicamente importantes, como PRRS, PEDV e *M. hyopneumoniae*, a ileíte deve ser a próxima bactéria endêmica economicamente importante a ser combatida. Os veterinários devem primeiro entender e estar convencidos do custo significativo da ileíte clínica e subclínica e estar dispostos a monitorar o fluxo de suínos para ter certeza de que nenhuma das formas da doença estão presentes.

Nossos programas de controle atuais com vacinas ou pulsos de antibióticos, embora sejam muito econômicos, não previnem a infecção subclínica e nunca apresentam resultados tão bons quanto a ausência de infecção. Em ensaios clínicos randomizados controlados de desafio por *Lawsonia intracellularis* com vacinas e/ou antibióticos, essa situação é repetidamente comprovada. Os grupos de controle estritamente negativos (não desafiados, não tratados) quase sempre apresentam um desempenho significativamente melhor do que os grupos vacinados ou que receberam antibióticos (tratados, desafiados).

Quatro elementos-chave - existem quatro elementos principais (“ferramentas”) que os veterinários de suínos devem compreender e aplicar para prevenir e/ou eliminar a ileíte com sucesso de uma produção ou sistema:

1. Antibióticos - O Carbadox é um composto antimicrobiano único que pode ser usado para prevenir a colonização de *Lawsonia intracellularis* e também eliminar portadores de *Lawsonia* quando administrado via ração por pelo menos 14 dias a 50 g/ton.^{1,2} Essa molécula é proibida no Brasil.
2. Imunidade para *Lawsonia* - A *Lawsonia intracellularis* é uma bactéria intracelular única que promove a própria eliminação pois, uma vez exposto, o suíno obtém imunidade potencialmente para a vida toda. Os suínos são resistentes à reinfeção após a exposição inicial a doses baixas ou altas da bactéria.³ Essa informação pode ser útil para eliminar a infecção subclínica e clínica em rebanhos de matrizes, marrãs de reposição e lotes de suínos no

crescimento-terminação com exposição controlada seguida de um pulso de antimicrobiano.

3. Ferramentas de diagnóstico para análise - O PCR fecal *ante-mortem* e a sorologia pelo Teste da imunoperoxidase em monocamada (IPMA) são úteis para determinar o status para ileíte de um rebanho e diferenciar os títulos provenientes de vacinação *versus* títulos em decorrência da infecção.
4. Biossegurança - Não é preciso nem dizer, que apenas rebanhos de elevada biossegurança permanecerão livres de ileíte. Não existem indícios de que a ileíte seja transmitida pelo ar ou pela alimentação, portanto, na verdade deve ser mais fácil de prevenir do que algumas outras enfermidades.

Prevenindo a Ileíte com Carbadox - A “Prevenção” aqui significa não apresentar nenhuma apresentação subclínica ou clínica a *L. intracellularis*, ou seja, PCR de fluido oral ou fecal negativos. Embora não haja uma aprovação por parte do FDA (*U.S. Food and Drug Administration*), o tratamento ou controle da ileíte foi extensamente estudado em estudos randomizados e controlados de desafio por ileíte. É o único composto antimicrobiano conhecido que, quando administrado na ração, 50 g/ton por 14 dias, elimina *Lawsonia* de portadores clínicos ou subclínicos.¹ É também o único antimicrobiano que previne a colonização em suínos desafiados com doses baixas ou altas de *Lawsonia intracellularis*.² Existem cinco antibióticos de administração via ração aprovados pelo FDA e que controlam e tratam a ileíte clínica. Esses antibióticos geralmente não impedem a colonização por *Lawsonia* ou eliminam a questão do suíno portador. No entanto, em níveis mais elevados de antibióticos e/ou tempos de tratamento mais longos, esses antibióticos também podem prevenir a colonização ou eliminar a infecção em suínos portadores subclínicos. Mais pesquisas com ensaios clínicos randomizados precisarão ser realizadas para que isso seja determinado.

Exemplo em Wean-to-Finish - Em uma produção com o alto fluxo de animais dividida em 8 locais separados possuindo entre 4.000 e 10.000 suínos, os potenciais portadores subclínicos são tratados com Carbadox e 400 ppm de Oxitetraciclina nas rações de fase inicial- 1 e fase inicial -2 por cerca de 17 dias após a chegada. Isso nos dá confiança de que a *L. intracellularis* não está “vazando” da granja de matrizes por meio de portadores subclínicos. Em três desses locais, não vacinamos contra ileíte porque eles possuem uma excelente biossegurança e historicamente não apresentaram bactéria alguma. Nos outros locais, vacinamos contra ileíte para aumentar a imunidade em caso de exposição a *Lawsonia*. Todos os locais são monitorados por meio de PCR de amostras de fezes e/ou de fluido oral quanto a presença de *Lawsonia* quando os indivíduos estão pesando em torno de 54-82 kg, para ter certeza de que os programas estão funcionando.⁵

Prevenção nos rebanhos de matrizes - Da mesma forma, evitar que a ileíte se estabeleça em um novo rebanho ou em um rebanho repovoado, em virtude da introdução carregada por leitões subclínicos pode ser possível utili-

zando Carbadox a 50 g/ton por pelo menos 14 dias nas dietas de marrãs antes de movê-las para as novas instalações ou instalações limpas. Uma vez que um rebanho de matrizes negativas é estabelecido, as marrãs de reposição precisam ser monitoradas via PCR fecal para garantir que não haja leitoadoras subclínicas. Estabelecer rebanhos de fêmeas livres de ileíte e/ou monitorar as marrãs de reposição para garantir um status negativo de *Lawsonia* pode e deve ser feito em granjas multiplicadoras de reprodutoras. Uma vez que um rebanho de matrizes se estabelece como negativo, ele estará fornecendo um leitão desmamado livre de *Lawsonia*. Os fluxos subsequentes de suínos para as próximas fases também podem ser realizados livres de ileíte. O que pode ser muito benéfico nos nichos de mercado dos produtos provenientes de criação do tipo “livres de antibiótico” ou que não façam nenhum uso de antimicrobianos ao longo da vida do animal (do inglês *no-antibiotics-ever* - NAE).

A eliminação da ileíte em rebanhos de matrizes pode provavelmente ser realizada com os mesmos protocolos de antibióticos usados para eliminar a disenteria suína (*Brachyspira hyodysenteria*) dos rebanhos de reprodutoras. Por exemplo, é comprovado que o tratamento de seis semanas com 200g/tonelada de tiamulina, com condições sanitárias adequadas, controle de roedores e um rebanho fechado, é eficaz para a eliminação de *Lawsonia*. Cabe aos veterinários de suínos aplicar e testar essa hipótese.

Eliminação em suínos na transição crescimento-terminação com exposição controlada à *Lawsonia* e uso de antimicrobianos

Nas fases finais da produção de suínos, o primeiro objetivo dos programas de controle da ileíte é nunca apresentar quaisquer sinais clínicos de ileíte. A ileíte clínica custará entre US\$ 10 e US\$ 22 por suíno em decorrência da perda de desempenho, mortalidade e custos de tratamento, dependendo da gravidade clínica.⁵ O segundo objetivo importante é não ter qualquer ileíte subclínica - ou seja, nenhuma amostra fecal positiva para *Lawsonia* no período de crescimento e terminação. Isso pode ser feito com o programa de imunidade LID^R (*Lawsonia intracellularis* Diluída).

A imunidade LID^R é um método patenteado que consiste na administração via oral de uma dose controlada específica de *Lawsonia* viva visando um aumento da estimulação imunológica quando comparado à vacina comercial. O programa requer uma fonte autógena, uma supervisão alinhada (veterinário-produtor-animal), seguida de um pulso de antimicrobianos duas semanas após a LID^R. Quando feito corretamente, os suínos se tornam completamente resistentes à colonização e subsequente eliminação de bactérias nas fezes, observado tanto em casos de ileíte subclínica quanto clínica.^{3,4}

A exposição à bactéria viva realizada na imunidade por LID^R é aplicada para eliminar a ocorrência de ileíte clínica e subclínica e possibilita que não

haja excreção fecal ou qualquer sinal clínico de diarreia, nem a observação de alteração de coloração das fezes sugestivas de casos positivos em suínos durante o crescimento. É uma boa ferramenta para uso em galpões ou locais onde a ileíte é problemática.

A vacina Enterisol^R contra ileíte demonstrou reduzir a doença clínica e aumentar o ganho de peso. No entanto, embora a infecção natural com *L. intracellularis* possa fornecer proteção completa contra a reinfecção, tal resultado não tem sido alcançado por meio do uso desta vacina. As respostas imunes mediadas por células são prováveis responsáveis pela imunidade protetora contra *L. intracellularis*, com células efectoras CD8 + e células T de memória CD4 +, CD8 + positivas como principais contribuintes para a produção de IFN- γ específica para o antígeno.

Eliminação em Leitões de Reposição com Exposição Natural

Uma fonte provável de exposição a *Lawsonia* em rebanhos de matrizes são as marrãs de reposição subclínicas assintomáticas. Essas marrãs devem ser monitoradas por PCR fecal, fluidos orais e/ou sorologia para garantir que não estão excretando *Lawsonia* antes de entrarem na unidade das reprodutoras. Surtos ocasionais de EPH (Enteropatia Proliferativa Hemorrágica) ocorrem em marrãs vacinadas para ileíte e também, raramente, em fêmeas múltiparas. Isso poderia ser evitado com a aplicação do programa de imunidade LID^R em marrãs de reposição seguido por antibioticoterapia por 14 dias. Este sistema funciona bem em galpões com aplicação do sistema *all-in/all-out* entre lotes. Eventualmente, todo o rebanho de reprodutoras estaria completamente protegido contra *Lawsonia*, já que a taxa normal de reposição de matrizes equivale à reposição de marrãs imunizadas para ileíte. Este exemplo foi usado em uma propriedade comercial com “elevado status sanitário” por cerca de 8 anos, que fornece suínos livres de ileíte para projetos pesquisa.⁵

Diagnóstico e Monitoramento Antemortem

Os PCRs para *Lawsonia* são úteis em diversas aplicações:

- Garantir a ausência de excreção fecal em leitões desmamados de rebanhos de fêmeas negativas.
- Monitorar *pools* de amostras (amostras agrupadas) provenientes de leitões, para ter certeza de que não estão mais excretando após a imunidade por LID^R e um pulso de antibiótico (por exemplo, Carbadox, Tiamulina, etc).
- Monitorar os suínos de terminação pós-LID^R para confirmar que não há ileíte subclínica (ou clínica) presente.
- Determinar a presença por PCR e quantificação de *Lawsonia* em amostras fecais frescas ou fluidos orais.

Em geral, os PCRs fecais são uma ferramenta de diagnóstico muito útil para garantir se uma diarreia leve ou presença de sangue nas fezes, é ou não, positiva para *Lawsonia*. Se o valor ct proveniente de uma unidade localizada em MN for <31 ct 40, a amostra é associada a lesões intestinais de EPS e perda de desempenho econômico.

PCR de fluido oral - os fluidos orais também são úteis para determinar a presença e a quantidade de *Lawsonia* no ambiente. Os valores de ct são interpretados da mesma maneira que com PCRs de amostras fecais e têm valores numéricos semelhantes ou ligeiramente menores do que com PCRs de *pool* de amostras de fezes frescas. Uma vantagem é que, geralmente mais animais estão mastigando as cordas, aumentando a sensibilidade.

Sorologia - Os anticorpos IgG anti-*Lawsonia* medem a exposição prévia à infecção de campo ou à vacina contra *Lawsonia*. Saiba o que esperar em relação aos títulos em testes para detecção de anticorpos anti-*Lawsonia*. Por exemplo:

- Rebanhos não vacinados e negativos não terão títulos de anticorpos.
- Animais vacinados com a Porcilis^R e imunidade por LID^R apresentarão < 480 de título na IPMA.
- A vacina oral Enterisol^R não incita uma resposta de título detectável por ELISA e uma resposta inconsistente de títulos no IPMA8.
- Os títulos de exposição à campo ou surto de ileíte são geralmente > 480 e muito mais altos (até 15.000), dependendo do impacto da enfermidade.

Mais sobre biossegurança - o conhecimento sobre a epidemiologia e transmissão de *Lawsonia intracellularis* é imprescindível para evitar a contaminação de um local limpo. Embora ainda existam muitas lacunas de conhecimento, sabemos que a transmissão ocorre principalmente por meio de suínos portadores assintomáticos e fômites (pessoas, veículos, equipamentos, etc.) em contato com fezes contaminadas. A *Lawsonia* pode viver em dejetos e fossas por pelo menos duas semanas, provavelmente mais. Os procedimentos de limpeza e desinfecção devem incluir uma etapa de detergente, lavagem com água quente e desinfecção. Está comprovado que insetos (moscas, baratas) e roedores são vetores mecânicos e biológicos de transmissão de *Lawsonia*, respectivamente.⁹

Resumo

É sempre mais econômico prevenir e eliminar doenças do que tratá-las e/ou controlá-las. A suinocultura agora possui o conhecimento e as ferramentas disponíveis para prevenir e/ou eliminar *Lawsonia intracellularis* da produção. Os veterinários de suínos precisam começar a estabelecer sistemas e fluxos livres de *Lawsonia*, monitorando seu sucesso para motivar outros a fazer o mesmo.

Referências bibliográficas

- Kinsley K, Winkelman et al; Elimination of *Lawsonia intracellularis* from Pigs Fed Carbadox (Mecadox[®]); AASV 2006 pp 157-161
- Winkelman N., Gebhart C., Deen J., Gramin B.; Correlation of Clinical Signs and Diagnostic Indicators of Ileitis in Pigs Fed Carbadox; AASV 2003 pp 135-139
- Collins A.M., Love R.J.; Re-challenge of Pigs Following Recovery From Proliferative Enteropathy; Vet Micro 120 (2007) pp 381-386
- Winkelman N., Mueller A., Domanque R.; Effectiveness of DLI[®] (diluted *Lawsonia intracellularis*) "Vaccine" Followed by Denagard LC, Aivlosin[®], or Mecadox[®] in Finishing Pigs Challenged with a High Dose *Lawsonia intracellularis* Mucosal Homogenate AASV 2014 pp 273-278
- Winkelman N., personal communication 2019
- Ulla Riber, Peter M.H. Heegaard, Henriette Cordes, Marie Stahl, Tim Kare Jensen, Gregers Jungersen; Vaccine of pigs with attenuated *Lawsonia intracellularis* induced acute phase protein responses and primed cell-mediated immunity without reduction in bacterial shedding after challenge; Vaccine 33 (2015) pp 156-162
- Winkelman N.; Subclinical Ileitis: Diagnostic Monitoring, R² and Economics; 2018 AASV pp 488-493
- Vasquez E.; Comparison of IPMA and Commercial Blocking ELISA for *Lawsonia intracellularis*; AASV 2018 pp
- Friedman M., Bednar V., Klimes J., et al 2008; Lett App1 Microbiol 47: pp 117-121

Diferença entre imunidade lactogênica e colostrar: imunologia entérica prática

Alejandro Ramirez, DVM, MPH, PhD, DACVPM

Iowa State University

Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine

Introdução

Todas as granjas de reprodutoras têm como objetivo comum: produzir de forma consistente, leitões de alta qualidade de maneira eficiente e lucrativa. A consistência é fundamental, pois ajuda quem é responsável por fornecer os leitões para o mercado (abate ou venda de animais de reposição). A eficiência é um ponto crítico, pois a disponibilidade de mão de obra na produção está se tornando cada vez mais um problema em todo o mundo. Por fim, a lucratividade é de extrema importância, pois, é a força motriz para a existência de qualquer indústria.

As doenças entéricas são alguns dos fatores que mais contribuem para a morbidade e mortalidade dos leitões nas maternidades. Os dados mais recentes do Relatório de Suínos do Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal dos EUA (NAHMS) de 2012 indicaram que 60,6% dos rebanhos reprodutores tiveram problemas com infecções de umbigo e 47,8% tiveram problemas com colibacilose. Após o desmame, 65,2% dos rebanhos relataram problemas com *Streptococcus suis*, 46,6% com síndrome reprodutiva e respiratória suína e 32,4% com colibacilose. Especialmente no momento imediato após o desmame, os desafios entéricos são bem reconhecidos pela suinocultura, à medida que os suínos se adaptam a novos ambientes e fazem a transição de uma dieta líquida (leite) para sólida (ração farelada). E na chegada à terminação, as enfermidades respiratórias (PRRS, Influenza e *Mycoplasma hyopneumoniae*).

Com a introdução da diarreia epidêmica dos suínos nos Estados Unidos, os veterinários de suínos foram lembrados da diferença entre o colostro e a imunidade lactogênica. O objetivo deste artigo é revisar brevemente os principais conceitos sobre a maximização da imunidade dos leitões por meio do colostro e da imunidade lactogênica. O objetivo é fornecer dicas práticas e relevantes que ajudarão as granjas de reprodutoras a atingir uma meta consistente de produção de leitões de alta qualidade com eficiência e lucratividade.

Imunidade do leitão

O peso ao desmame é considerado um dos fatores mais importantes com impacto no desempenho pós-desmame e no crescimento ao longo da vida (Lalor et al, 2002). Há uma diferença entre o colostro e a imunidade lactogênica e como eles protegem os leitões dos patógenos aos quais podem ser expostos, especialmente patógenos entéricos. Os problemas entéricos dos leitões na maternidade são os principais responsáveis pelo mau desempenho. Para maximizar a sobrevivência dos leitões, os suínos devem obter colostro suficiente e de boa qualidade em tempo hábil.

Colostro

O dicionário Oxford define o colostro como: "Líquido claro amarelado secretado pelas glândulas mamárias de mulheres e fêmeas de mamíferos alguns meses antes e alguns dias após o parto, até que dê lugar ao leite, é caracterizado por ser rico em proteínas e sais minerais, com baixa proporção de lactose." Os suínos não são capazes de obter anticorpos de suas mães enquanto ainda estão no útero devido às características da placenta. Isso exige que os leitões obtenham todos os seus anticorpos iniciais de forma passiva por meio do colostro. Estima-se que os leitões precisam de cerca de 240 - 255 ml (1,5 kg X 160 - 170 ml / kg) de colostro para sobreviver (Le Dividich et al, 2005). A sobrevivência dos leitões começa a diminuir drasticamente quando a ingestão de colostro é < 200 ml (Ferrari et. Al, 2014). Essas necessidades não são apenas para os anticorpos (IgG) necessários, mas também para a glicose e a gordura (ambas são fontes de energia) encontradas no colostro. Um estudo recente de Foisnet et al (2010) estimou que a média diária de produção de colostro por porca foi de 3,22 ± 0,34 kg de colostro (variação de 0,85 - 4,80 kg). E são intervalos semelhantes aos encontrados por Devillers et al. (2005) que estimou a produção de colostro em uma média de 3,6 kg/porca/dia, com um intervalo de 1,9 - 5,3 kg. A baixa produção de colostro não está relacionada ao tamanho da leitegada, nem ao peso ao nascimento ou à incapacidade dos leitões recém-nascidos de mamar (Foisnet et al, 2010).

Muitas publicações enfatizam a importância de permitir que os leitões mamem o colostro nas primeiras 24-36 horas após o nascimento, antes que ocorra o fechamento intestinal. É verdade que ocorre o fechamento intestinal, mas o mais importante é enfatizar que esse fechamento é exponencial e, portanto, do ponto de vista do produtor, garantir que os leitões recebam colostro nas primeiras 6 horas de vida é fundamental. Essa relação pode ser observada na Figura 1 abaixo adaptada de Miller et al (1962). Essas mudanças na absorção intestinal são devidas a mudanças fisiológicas que ocorrem no intestino relacionadas à digestão de proteínas, bem como mudanças físicas nas células in-

testinais (estreitamento das junções entre as células). No estudo de Foisnet et al (2010) constatou-se que o tempo médio entre o nascimento e a primeira mamada (colostro) foi de 29 ± 2 min.

A produção de colostro e o peso médio ao nascimento do leitão são determinantes importantes de viabilidade do recém-nascido. A ordem de nascimento também desempenha um papel importante na determinação de quais leitões têm acesso à maior quantidade de colostro, conforme relatado no artigo de revisão de Farmer e Quesnel (2009). Este mesmo

artigo enfatiza que pesquisas corroboram a teoria de que é a fêmea que limita a quantidade de colostro que os leitões podem consumir em um dia. A taxa de mortalidade geral de leitões nos primeiros dois dias de vida é significativamente diferente entre leitegadas que são amamentadas por reprodutoras com baixa produção de colostro e leitegadas de fêmeas de alta produção (21 ± 10 vs. $4 \pm 3\%$. $P = 0,04$) (Foisnet et al, 2010).

O colostro também desempenha um papel importante na promoção de mudanças dramáticas no crescimento intestinal, em sua estrutura e função em leitões recém-nascidos durante as primeiras 6 horas de amamentação. O que está altamente relacionado com a quantidade de colostro ingerida e pode resultar em um aumento de aproximadamente 100 vezes na área de absorção do intestino (revisão por Farmer et al, 2006). O objetivo de todos que trabalham na maternidade deveria ser potencializar a imunidade dos leitões e a função intestinal, maximizando as oportunidades para que os leitões tenham acesso a boas quantidades de colostro de alta qualidade o mais rápido possível após o nascimento. Isso requer não apenas que as reprodutoras produzam o colostro, mas que o manejo adequado seja aplicado para possibilitar esse processo.

Imunidade Lactogênica

Após a introdução do vírus da diarreia epidêmica dos suínos nos EUA, rapidamente nos recordamos que a imunidade dos leitões não estava apenas relacionada ao colostro ou IgG, mas também à IgA. As moléculas de IgA contêm

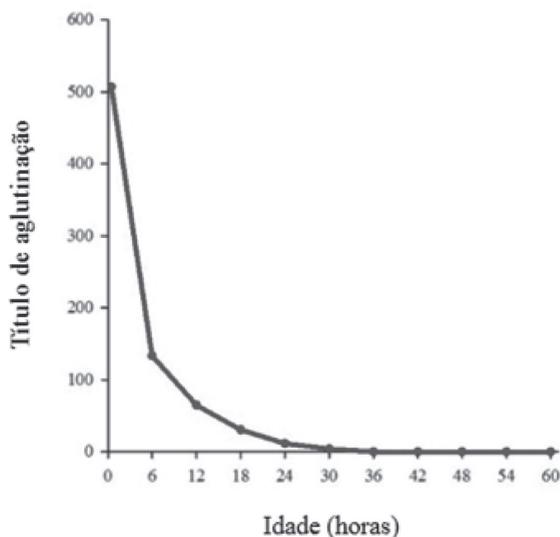


Figura 1. Título de anticorpos séricos em leitões que absorveram anticorpos do colostro.

dois domínios de imunoglobulinas ligados entre si. IgA secretor (sIgA) inclui este dímero de IgA com um componente secretor anexado. É na forma de sIgA que as imunoglobulinas são secretadas nas superfícies mucosas. O componente secretor serve para proteger a IgA dos ácidos e da digestão, permitindo que ela atue como imunidade da mucosa. Lembre-se de que as imunoglobulinas são proteínas e, se não fossem protegidas, seriam digeridas como outras proteínas e não seriam capazes de funcionar como parte do sistema imunológico.

O sIgA também é secretado pelas fêmeas no leite. O sIgA, do leite da fêmea ou o sIgA produzido pelo leitão, ajudam a bloquear os patógenos na superfície do lúmen intestinal, impedindo-os de se ligarem aos receptores no epitélio de mucosa, assim, evitando que causem enfermidades. Isso ocorre para bactérias, vírus, toxinas ou outros patógenos.

A concentração das diferentes imunoglobulinas no leite muda ao longo da lactação. Inicialmente com alta concentração de IgG (coloostro) e depois muda rapidamente para sIgA principalmente, conforme visto na **Tabela 1**.

É importante notar que embora haja algumas mudanças drásticas na porcentagem dos tipos de imunoglobulinas, a concentração real de IgA é ligeiramente mais alta no coloostro, mas como a IgG é altamente concentrada, a porcentagem geral de IgA é baixa inicialmente.

Para doenças como a PED, é necessário que a imunidade lactogênica atue na superfície da mucosa para evitar a fixação e, portanto, a infecção do epitélio intestinal. A IgG seria útil se o patógeno se tornasse sistêmico, mas a imunidade da mucosa é crítica quando o patógeno precisa ser bloqueado na superfície da mucosa. O que se tornou muito aparente durante os surtos de PED. Os leitões que foram desmamados, mas mantidos na maternidade, apresentariam imediatamente diarreia severa, enquanto os outros leitões que permaneceram amamentando estavam inicialmente protegidos. Há uma necessidade contínua de sIgA no leite para “revestir” o lúmen intestinal com imunoglobulinas protetivas.

Tabela 1. Mudança na porcentagem de imunoglobulinas no leite de fêmeas durante a lactação. Adaptado de Markowska-Daniel e Pomorska-Mól (2010).

	IgG	IgM	IgA
1h	75%	7%	18%
6h	76%	6%	18%
12h	77%	6%	17%
24h	59%	13%	28%
6d	30%	20%	50%
12d	20%	21%	59%
18d	19%	24%	57%
28d	17%	21%	62%

Produção

1. Minimizando a exposição ao patógeno

A doença não ocorre a menos que três condições sejam propiciadas. Você deve primeiro ter um patógeno que seja viável e em número suficiente para causar doenças. Então você precisa colocar esses patógenos em contato com o suíno. Finalmente, você precisa ter um indivíduo que seja suscetível ao patógeno e, portanto, a doença possa se manifestar. Uma das primeiras coisas a se fazer é eliminar, se não minimizar, a exposição ao patógeno. Existem várias maneiras de se conseguir isso. No caso de problemas entéricos, além da gastroenterite transmissível, a maioria dos outros patógenos com os quais lidamos é comumente encontrada em propriedades (*Clostridium*, *E. coli*, Rotavírus, PED e o *Cystoisospora suis*). Três das práticas mais comuns para reduzir a exposição a patógenos em leitões recém-nascidos envolvem a limpeza e desinfecção da gaiola de parto, limpeza da matriz antes de ir para as salas de parto e retirada dos dejetos de trás das fêmeas. Essas práticas fazem sentido e a maioria são apoiadas por algumas pesquisas.

A lavagem, quando feita corretamente, removerá > 99,99% dos microrganismos do ambiente. Isso pode ser feito em conjunto com detergentes e água quente para maximizar a eficiência e eficácia deste processo. Em seguida, o desinfetante certo deve ser usado visando patógenos específicos da propriedade. O desinfetante serve apenas como um bônus adicional e não deve ser considerado o principal meio de controle dos patógenos. Isso ocorre porque a maioria dos desinfetantes são inativados por matéria orgânica e, portanto, não serão eficazes a menos que todos os detritos orgânicos sejam primeiro removidos da maternidade. O efeito da falta de higiene na morbidade e mortalidade associada à doença entérica foi demonstrado por Svendsen et al (1975).

Lavar a fêmea antes de ir para o parto minimiza a possibilidade de levar dejetos da gestação para a maternidade. Essa prática provavelmente é ainda mais importante em instalações ao ar livre, mas mesmo no ambiente confinado atuais, algumas matrizes ficam muito sujas. A limpeza da reprodutora especialmente em relação ao úbere e à área vulvar, minimizará a exposição ao patógeno, especialmente considerando que essas fêmeas estão sendo transferidas para gaiolas de parto limpas. É também um processo psicológico que ajuda a enfatizar a importância da limpeza. Por fim, raspar as gaiolas de parto não é um trabalho divertido, mas pode ser muito importante. Não conheço pesquisas que embasam a prática, mas faz sentido que quanto menos dejetos houver na parte de trás do piso da gaiola quando os leitões nascem, menor será a probabilidade de que sejam expostos a uma extensa gama de patógenos diferentes. Lembre-se de que esses leitões recém-nascidos também têm um cordão umbilical com uma ferida aberta e será arrastada pelo piso logo após o nascimento.

Os dados de campo também corroboram o conceito da carga de patógenos. Os leitões que nasceram primeiro em um galpão levarão de 3 a 4 dias antes de começarem a apresentar diarreia, enquanto os nascidos no final da semana começarão a apresentar diarreia em 24 horas (Cutler et al, 2006). O acúmulo de patógenos no ambiente pode ocorrer muito rapidamente, especialmente durante um surto com patógenos entéricos.

2. Assistência ao parto e atendimento imediato pós-nascimento

Mais de 50% da mortalidade pré-desmame ocorre nos primeiros 3 dias após o nascimento, com a maioria dos leitões morrendo em virtude de terem consumido muito menos colostro no primeiro dia de vida quando comparado aos sobreviventes (revisão em Foisnet et al, 2010). A supervisão adicional dos leitões nos primeiros 3 dias de vida demonstrou diminuir a mortalidade de 1,29 para 0,85 leitões por ninhada (Probst Miller, 2007). Para maximizar o cuidado com os leitões, é necessário estar presente no momento do parto para poder ajudar esses leitões recém-nascidos o quanto antes. Em Foisnet et al (2010) foi calculada a duração média do parto de 16 porcas em três repetições resultando em 284 ± 50 min. No estudo de Gunvaldsen et al (2007) mesmo com o uso de protocolos de indução, 60% das fêmeas iniciaram o parto durante a noite. Este mesmo estudo mostrou que para cada dia de gestação, o crescimento do leitão aumentou em 26g ($P < 0,01$). Isso se traduziu em um suíno com média de 576 g a menos ($P < 0,01$) aos 16 dias de idade e 2,0 vezes mais probabilidade de ter um risco relativo de morbidade elevada ($P < 0,01$). A indução do parto prematuro também afeta a composição do colostro e do leite principalmente no que diz respeito à gordura (Jackson et al, 1995). A gordura é uma importante fonte de energia necessária para a sobrevivência dos leitões recém-nascidos, pois os suínos nascem com reservas mínimas de gordura.

3. Amamentação parcelada e transferência de leitões

O conceito de amamentação parcelada e transferência de leitões teoricamente faz sentido, mas as pesquisas nem sempre corroboram as práticas. Com a amamentação parcelada, a ideia é maximizar as oportunidades para que os leitões ingiram colostro. Não encontrei estudos que fundamentam a prática, mas acho que existem muitos desafios. Um ponto chave é que a amamentação parcelada tem o potencial de funcionar, apenas, se for feito de maneira adequada. Com a maioria dos leitões nascendo durante a noite, é difícil saber há quanto tempo os leitões realmente nasceram. Isso é fundamental, pois, a partir daí, sabemos que quanto mais cedo os leitões mamarem, melhores serão as chances de absorção de anticorpos. Se não for feito corretamente, podemos realmente criar mais variação no processo.

Um estudo de Donovan e Dritz (2000) mostrou que não houve diferença estatística entre os grupos com amamentação parcelada em no GPD, pesos ao desmame e concentrações séricas de IgG. Eles descobriram que a porcentagem de leitões com peso <3,6 kg ao desmame era maior no grupo de controle (1,3 e 1,6% vs. 3%, $P \leq 0,05$). Neste estudo, eles separaram a amamentação dos leitões por 2 horas nas primeiras 24 horas de vida. É difícil saber quais os efeitos sobre os leitões da aplicação da amamentação parcelada nas primeiras 6 horas de vida.

No que diz respeito à transferência de leitões entre fêmeas, a esmagadora maioria dos dados sugerem que, embora a variação do peso da ninhada seja reduzida, o desempenho individual dos suínos é realmente comprometido (Straw, 1997, Cutler et al, 2006). Price et al (1994) relataram que em leitões com mais de 2 dias de idade < 50% deles mamaram durante as 6 horas após serem transferidos para uma nova fêmea. Pieters e Bandrick (2008) demonstraram que a transferência de leitões pode ajudar na aquisição anticorpos, desde que seja realizada nas primeiras 6 horas após a ingestão inicial de colostro na sua própria mãe (**Tabela 2**).

Tabela 2. Proporção de leitões positivos para anticorpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* (ELISA). Adaptado de Pieters e Bandrick (2008).

Grupo	Horas mamando antes da transferência				Não transferidos
	0	6	12	20	
Vacinado (Vac.) Controle	NA	NA	NA	NA	10/10 (100%)
Não-Vac Controle	NA	NA	NA	NA	0/26 (0%)
Vac. → Vac.	12/12 (100%)	11/11 (100%)	11/11 (100%)	10/10 (100%)	11/11 (100%)
Vac. → Não Vac.	0/10 (0%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)	9/9 (100%)	9/9 (100%)
Não Vac. → Vac.	10/10 (100%)	7/9 (78%)	1/10 (10%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)

Dewey et al (2008) também demonstraram que a transferência de leitões antes e após um dia de vida pode ter um impacto negativo no peso dos leitões aos 16 dias de idade. Em seu modelo multivariado, após o controle de outros parâmetros significativos, os leitões transferidos antes do dia 1 (um) eram 0,18 kg menores ($P = 0,002$), enquanto os transferidos após o dia dois eram 0,80 kg menores ($P = 0,0001$) aos 16 dias de idade quando comparados aos leitões não transferidos. Wattanaphansak et al (2002) também mostraram que a transferência contínua criou quase três vezes mais leitões leves ao desmame do que as ninhadas não transferidas. Eles especularam que isso poderia ter sido devido a uma disputa agressiva entre os indivíduos das leitegadas misturadas. Essa disputa pode resultar em menor consumo de leite por parte desses leitões.

4. Ambiência

Uma breve observação é importante para garantir que o ambiente em que esses leitões recém-nascidos são criados seja adequado. É fundamental lembrar que um ambiente limpo, quente e seco é desejável. O desafio é estabelecer a temperatura ambiente e as zonas aquecimento para maximizar o consumo de ração por parte das fêmeas, o que tem um impacto direto na lactação, e ainda sim atender às necessidades dos leitões. Os leitões recém-nascidos têm uma faixa de temperatura crítica inferior (TCI) de cerca de 30 – 34°C, enquanto as matrizes têm um TCI em torno de 15 – 19°C (revisão em Cutler et al, 2006). Nos primeiros dois dias de vida, os leitões têm dificuldade em lidar com o estresse por frio (temperatura <34°C) devido à imaturidade fisiológica que não os permite mobilizar as reservas energéticas de carboidratos (glicogênio) de forma eficiente (revisão em Cutler et al, 2006).

Do ponto de vista do sistema imune, os suínos em baixas temperaturas utilizam energia direcionada para o aquecimento, ao invés de favorecer o fortalecimento e desenvolvimento da própria proteção imunológica (a produção de anticorpos demanda muita energia). A motilidade intestinal também é desacelerada em temperaturas mais baixas, o que predispõe os leitões a doenças entéricas. A diminuição da motilidade intestinal permitirá que ocorra o supercrescimento bacteriano, contribuindo para que haja uma exposição do trato intestinal à uma carga bacteriana ainda maior e por um período mais prolongado. A motilidade intestinal atua como parte do sistema imunológico interno do organismo.

Conclusões

O peso ao desmame é considerado um dos fatores mais importantes com impacto no desempenho pós-desmame e no crescimento ao longo da vida (Lawlor et al, 2002). As doenças entéricas dos leitões contribuem significativamente para a morbidade e mortalidade dos leitões na maternidade. Os leitões devem ser cuidados adequadamente para maximizar sua imunidade, o que acabará por ter um melhor resultado em sua capacidade de sobrevivência e desempenho durante sua fase inicial de vida. O colostro adequado, a imunidade lactogênica e o manejo são essenciais para ajudar a maximizar a sobrevivência dos leitões. Uma melhor compreensão do mecanismo de diarreia promovido pelos patógenos mais comumente encontrados no período pré-desmame é essencial para que se estabeleça o melhor diagnóstico, tratamento e prevenção para os problemas entéricos no rebanho.

Referências bibliográficas

- Crooks, A.C., H.S. Hurd, D.A. Dargatz and G.W. Hill. 1993. Economic cost of preweaning mortality: A report of the NAHMS national swine survey. *J. Swine Health Prod.* 1(3):15-21.
- Cutler, R.S., V.A. Fahy, G.M. Cronin and E.M. Spicer. Preweaning Mortality. In (Straw, B.E., J.J. Zimmerman, S. D'Allaire and D.J. Taylor, Ed) *Diseases of Swine*. Wiley-Blackwell Publishing. Ames, Iowa, US. Pp.993-1009.
- Devillers, N., J. Le Dividich, C. Farmer, A.M. Mounier, M. Lefebvre and A. Prunier. 2005. Origine et conséquences de la variabilité de la production de colostrum par la truie et de la consommation de colostrum par les porcelets. *J. Rech. Porc. France*. 37:435-42.
- Dewey, C.E., T. Gomes and K. Richardson. 2008. Field trial to determine the impact of providing additional care to litters on weaning weights of pigs. *Can. J. Vet. Res.* 72:390-395.
- Donovan, T.S. and S.S. Dritz. 2000. Effect of split nursing on variation in pig growth from birth to weaning. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 217(1):79.
- Farmer, C., N. Devillers, J.A. Rooke and J.L. Le Dividich. 2006. Colostrum production in swine: from mammary glands to the piglets. *CAB Rev.: Persp. Ag. Vet. Sci. Nut. Nat. Res.* 1(3).
- Farmer, C. and H. Quesnel. 2009. Nutritional, hormonal, and environmental effects on colostrum in sows. *J. Anim. Sci.* 87(Suppl. 1):56-65.
- Ferrari, C.V., P.E. Sbardella, M.L. Bernardi, M.L. Coutinho, I.S. Vaz Jr, I. Wentz, F.P. Bor-tolozzo. 2014. Effect of birth weight and colostrum intake on mortality and performance of piglets after cross-fostering in sows of different parties. *Prev. Vet. Med.* 114 (3-4):259-266.
- Foisnet, A., C. Farmer, C. David and H. Quesnel. 2010. Relationship between colostrum production by primiparous sows and sow physiology around parturition. *J. Anim. Sci.* 88:1672-1683.
- Gunvaldsen, R.E., C. Waldner and J.C. Harding. 2007. Effects of farrowing induction on suckling piglet performance. *J. Swine Health Prod.* 15(2):84-91.
- Jackson, J.R., W.L. Hurley, R.A. Easter. A.H. Jensen and J. Odle. 1995. Effects of induced or delayed parturition and supplemental dietary fat on colostrum and milk composition on sows. *J. Anim. Sci.* 73:1906-1913.
- Lawloe, P.G., P.B. Lynch, P.J. Caffrey and J.V. O'Doherty. 2002. Effects of pre- and post-weaning management on subsequent performance to slaughter and carcass quality. *J. Anim. Sci.* 75:245-256.
- Le Dividich, J., J. Rooke and P. Herpin. 2005. Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig. *J. Agric. Sci.* 143:469-485.
- Markowska-Daniel, I. and M. Pomorska-Mól. 2010. Shifts in immunoglobulins levels in porcine mammary secretions during whole lactation period. *Bull. Vet. Inst. Pu-*

lawy. 54:345-349.

- Miller, E.R., B.G. Harmon, D.E. Ullrey, D.A. Schmidt, R.W. Luecke and J.A. Hoefler. 1962. Antibody absorption, retention and production by the baby pig. *J. Anim. Sci.* 21(2):309-314.
- Moeser, A.J. and A.T. Blikslager. 2007. Mechanisms of porcine diarrheal diseases. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 231(1):56-67.
- Pieters, M. and M. Bandrick. 2008. The effect of cross-fostering on the transfer of *Mycoplasma hyopneumoniae* maternal immunity from the sow to the offspring. In *Proc. Intern. Pig Vet. Soc. Durban, South Africa.* pp. OR.02.08.
- Price, E.O., G.D. Huston, M.I. Price and R. Borgwardt. 1994. Fostering in swine as affected by age of offspring. *J. Anim. Sci.* 72:1697-1701.
- Probst Miller, S. 2007. Day 1 critical care: How to get pigs out alive and started right. In *Proc. Am. Assoc. Swine Pract. Orlando, Florida.* pp.15-30.
- Straw, B.E. 1997. Veterinary Practice: art, science and politics. In *Proc. Am. Assoc. Swine Pract. Quebec, Canada.* pp.1-31.
- Svendensen, J., N. Bille, N.C. Nielsen, J.L. Larsen and H.J. Riising. 1975. Prewearing mortality in pigs. 4. Diseases of the gastrointestinal tract in pigs. *Nord. Vet. Med.* 27:85-101.
- Wattanaphansak, S., S. Luengyosoluechakul, A. Larriestra and J. Deen. 2002. The impact of cross-fostering on swine production. *Thai J. Vet. Med.* 32:101-106.
- Yaeger, M. 2001. A survey of agents associated with neonatal diarrhea in swine, including *Clostridium difficile* and PRRSV. In *Proc. Amer. Assoc. Swine Vet. Nashville, Tennessee.* pp.505-507.

Diarreia pós-desmame e a relação com a saúde intestinal do leitão

Luiz Felipe Caron¹ & Breno Castelo Branco Beirão¹

¹Professor Universidade Federal do Paraná

Introdução - Diarreias pós-desmame e saúde intestinal

A diarreia pós-desmame é uma das condições mais impactantes na suinocultura moderna. A doença ocorre nas duas semanas subsequentes ao desmame, ocorrendo com uma diarreia intensa que leva à desidratação e morte¹. No Brasil, a presença de diarreias é elevada na maior parte das granjas².

Sabe-se que a doença é uma decorrência de inúmeros fatores que levam a perda da função intestinal. Leitões em desmame apresentam atrofia das vilosidades e hipertrofia das criptas, e aumento das mitoses das células epiteliais. Ocorrem alterações na taxa de produção de novos enterócitos na cripta, inicialmente com uma taxa reduzida na formação de novos enterócitos, e depois com aumento compensatório para reposição epitelial. As maiores alterações na arquitetura intestinal ocorrem por volta de cinco dias após o desmame, recuperando-se em cerca de mais seis dias. Nesse período em que a arquitetura intestinal está prejudicada, também ocorre menor produção de enzimas sendo secretadas nas microvilosidades epiteliais. Há menor produção de lactase, amilopeptidase e maltase, por exemplo.

2. Fatores causais e predisponentes da diarreia pós-desmame

“Saúde intestinal” é um conceito amplo, que depende de inúmeros fatores³. Por isso, a diarreia pós-desmame é uma doença multicausal. Não há um único agente predisponente e mesmo um microrganismo que possam, individualmente, levar ao aparecimento da doença²⁰. A análise individual de cada um destes fatores remete a conclusões que frequentemente são distintas daquilo que se conclui com uma análise integrada. É a análise integrada ou análise de risco que propicia o bom gerenciamento de risco com a finalidade de mitigar os fatores desencadeantes. A remoção dos fatores causais é sinônimo de prevenção. Mesmo quando não se consegue eliminar a doença, a análise de risco permite a compreensão clara do problema para eventuais tratamentos.

Para a análise de risco, é necessária a utilização de critérios práticos e mensuráveis que permitam auxiliar no diagnóstico da situação e correção dos erros. Há muitos conceitos e teorias adventícias, inclusive, que podem explicar facilmente onde deve estar o comprometimento dos técnicos. Como diz o adágio conhecido da teoria econômica: “Não se gerencia o que não se mede, não se mede o que não se define, não se define o que não se entende e não há sucesso no que não se gerencia”. Então de forma prática e aplicada se costumam usar cinco critérios para se definir saúde intestinal. Esses são pontos sobre os quais podemos intervir para evitar a diarreia pós-desmame:

1. Efetiva digestão e absorção de nutrientes
2. Ausência de infecções gastrintestinais
3. Microbiota normal e estável
4. Efetivo status imune
5. Boas condições de bem-estar

Na **Figura 1** se pode observar a combinação destes fatores causais de

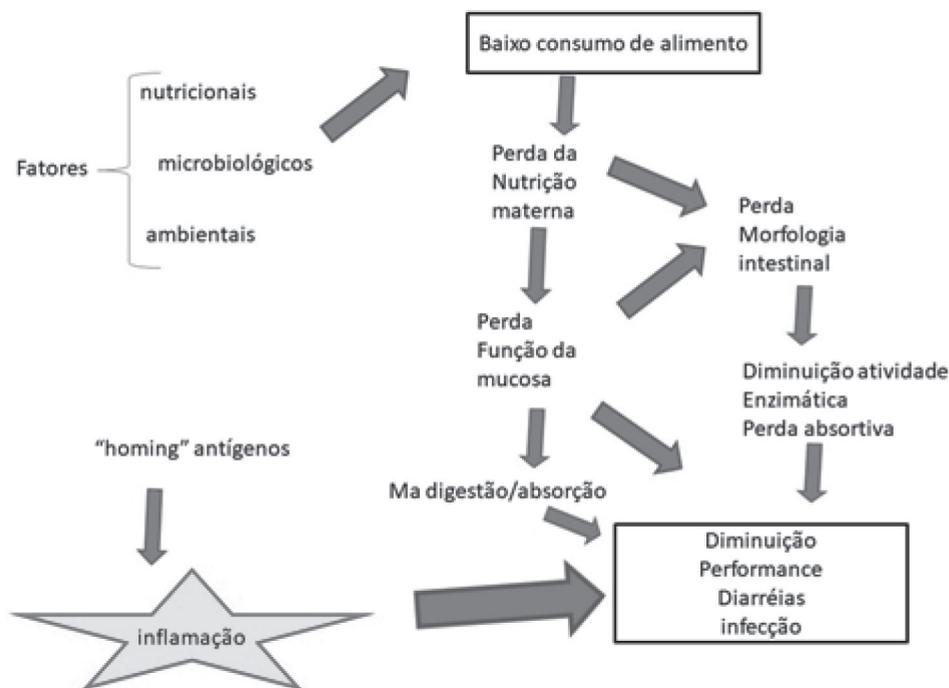


Figura 1. Conexões causais da diarreia pós-desmame.

diarreia pós-desmame em uma condição comum. Esses fatores serão detalhados a seguir.

2.1 Fatores de manejo e ambientais

O manejo do desmame é evidentemente impactante na ocorrência de diarreias. Dos cinco fatores mencionados acima, todos são influenciados por manejo e ambiente.

O manejo inadequado influencia no aparecimento de infecções, no desbalanço da microbiota e do bem-estar. A falta de vazio sanitário é o manejo de maior impacto na ocorrência de diarreias pós-desmame. Embora seja uma recomendação básica na criação animal, em algumas regiões, até 80% das granjas não realizam vazio sanitário na creche. Em seguida, a alta densidade animal na creche vem como um dos fatores mais relevantes para as diarreias, por gerar estresse e interferir desde a imunidade à nutrição².

O manejo também influencia diretamente a imunidade: o desmame precoce propicia doenças pois não permite que o leitão ingira IgA do leite (pós-colostro). Assim, na União Europeia, por exemplo, preconiza-se o desmame com ao menos 28 dias de idade.

Em outro exemplo, o manejo influencia a boa nutrição: Como pode-se observar na **Figura 1**, o baixo consumo de alimento pós-desmame, ou *feed intake rate* (FIR), pode ser considerado um grande gatilho para quebra da homeostase intestinal. Os leitões reduzem o consumo alimentar no desmame principalmente pela mudança na forma física do alimento – de líquida para sólida – e pelo estresse, comum nessa situação. O baixo consumo compromete a nutrição luminal, gera fatores de estresse e compromete a estrutura e função do intestino, induzindo danos. A arquitetura viloso-crípta torna-se muito comprometida, prejudicando ao mesmo tempo a função de barreira do intestino e alterando finalmente a microbiota intestinal com disbiose. A disbiose será mais explorada adiante. Metade dos leitões desmamados consomem o primeiro alimento 24 horas pós desmamados. Um décimo não come ainda 48 horas pós desmame. Os requerimentos energéticos nestas condições, muitas vezes só alcançam o nível necessário 3 a 4 dias pós desmame. Eventualmente, em condições de manejo muito inadequadas, o nível de ingestão energética pré-desmame apenas será alcançado de 8 a 14 dias pós-desmame. Nestas situações é difícil imaginar uma estratégia com produtos ou processos posteriores que possam minimizar os danos causados. Há muitas consequências destes desequilíbrios nutricionais em todo o intestino, sob o aspecto morfológico, funcional, imune e microbiológico.

Nestas condições, dois dias pós-desmame o jejuno diminui sua resistência elétrica, o que está associado com vários prejuízos funcionais do enterócito. Por exemplo, a absorção de glicose pode permanecer diminuída até duas semanas pós-desmame. O enterócito reduz o uso de nutrientes e perde sua adesividade com as células ao redor. Neste contexto, o intestino estará mais permeá-

vel para patógenos após o desmame²¹.

As lesões, ou por vezes, apenas o atraso no desenvolvimento, causadas pelo jejum pós-desmame têm consequências duradouras. Quando o epitélio intestinal é danificado pelo jejum, ocorre “translocação”, passagem, maior de bactérias, vírus e toxinas pela parede intestinal, alcançando outros órgãos. Ao alcançar a lâmina própria, desencadeiam mais reações inflamatórias; deve-se lembrar que a inflamação pode reduzir o consumo alimentar pelo impacto que tem sobre o hipotálamo. Assim se estabelece um ciclo vicioso em que o jejum permeabiliza o intestino e causa mais inflamação, que prolonga o jejum.

O estresse é um fator de manejo que pode agravar o quadro induzido pelo período de jejum. O estresse térmico, por exemplo, agrava diarreias bacterianas em suínos. É amplamente conhecido que o estresse pode influenciar a função imune por meio do hormônio cortisol. Ademais, os enterócitos são também diretamente afetados. Essas células perdem sua capacidade absorptiva em resposta ao Fator Liberador de Corticotrofina⁴. Assim, granjas com controle eficaz de temperatura têm menor incidência de diarreias, por exemplo⁵.

Assim, o desmame por si só e a anorexia gerada são condições que geram a inflamação e mesmo sem uma agressão específica já são causas desta diarreia pós desmame. É nesta condição que simplesmente estimular ou viabilizar o consumo melhora alguns quadros. Mas obviamente, nestas condições os desafios infecciosos podem se tornar de difícil controle, dependendo dos microrganismos envolvidos. Como citado acima, o intestino perde sua capacidade absorptiva em decorrência da mudança da dieta e do estresse do desmame.

2.2 Fatores microbianos – agentes provocadores

A bactéria *Escherichia coli* é o agente microbiano mais encontrado nas diarreias pós-desmame. Além da prevalência, sua importância vem aumentando pela ocorrência de multirresistência a antibióticos⁶. Alguns fatores de virulência são importantes para a ocorrência da diarreia, e por isso as *E. coli* Enterotoxigênicas (ETEC) e Enteropatogênicas (EPEC) são as mais encontradas nesses casos¹. As ETEC mais frequentes na diarreia pós-desmame apresentam fímbrias F4 (K88) ou F18, com LPS de vários sorogrupos, como O8, O157 e O149. A fímbria F4 media a ligação com um receptor intestinal específico (F4R) – esse receptor não está sempre presente no intestino suíno, e por isso há um componente genético para o aparecimento da diarreia.

A *E. coli* leva à diarreia por meio da produção de toxinas termoestáveis (ST) ou termolábeis (LT) que causam a perda de eletrólitos por parte dos enterócitos. A capacidade de produzir essas toxinas é a razão para sua classificação como Enterotoxigênicas. A produção das toxinas leva à saída de água em direção à luz intestinal e, portanto, à diarreia.

No Brasil, as toxinas estão presentes em ao menos 50% dos isolados de *E. coli* de diarreias neonatais. Tanto as toxinas LT quanto ST estão presentes,

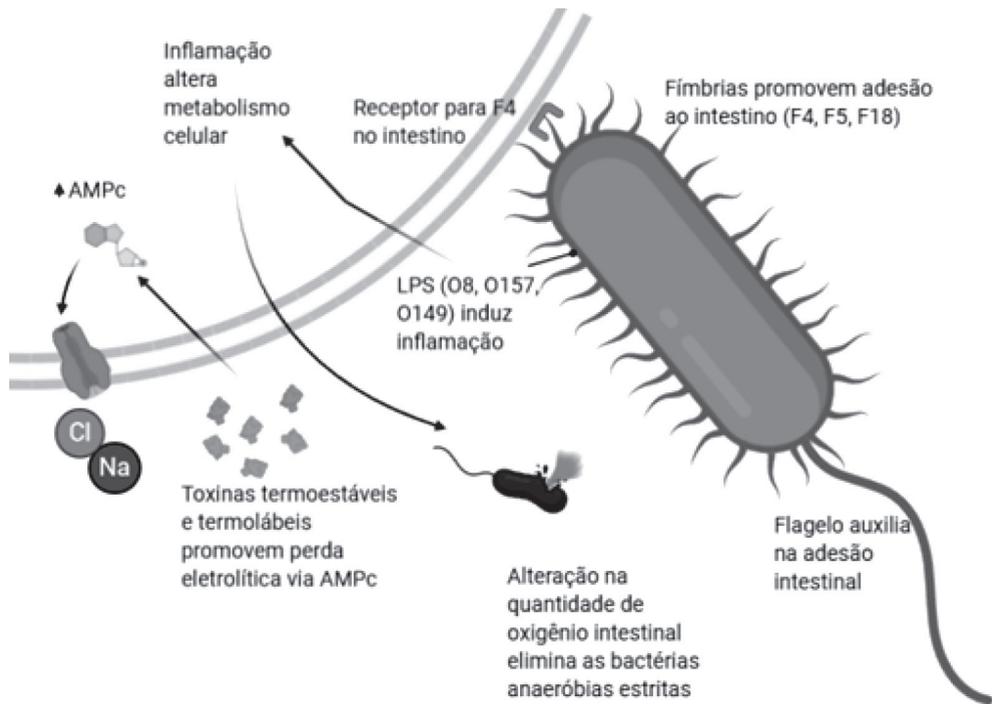


Figura 2. Mecanismos de patogenicidade da *E. coli* no intestino suíno na diarreia pós-desmame.

e em geral estão acompanhadas da presença de fímbrias nas bactérias. As fímbrias F18, F4 e F5 são as mais comuns, embora haja variação significativa na presença destes fatores de virulência entre as regiões do País⁷⁻⁹. Tanto as fímbrias quanto os flagelos auxiliam na adesão bacteriana à superfície intestinal (**Figura 2**). As cepas nacionais também apresentam alto grau de resistência a antibióticos. Em várias análises foram encontradas cepas resistentes a mais de 3 antimicrobianos simultaneamente, refletindo a necessidade de se utilizarem outras abordagens para o controle de patógenos¹⁰.

Contudo, deve-se reiterar que a diarreia pós-desmame é uma doença multifatorial. Outros agentes infecciosos, como os rotavírus, podem ser coadjuvantes nas diarreias, agravando o quadro clínico¹¹. Esses vírus são capazes de produzir proteínas similares às toxinas bacterianas, o que agrava o quadro em casos de coinfeções. Ademais, os rotavírus infectam diretamente o epitélio intestinal, causando achatamento dos vilos, novamente piorando a diarreia causada pela *E. coli*.

2.3 Fatores microbianos - Microbiota intestinal

A microbiota é definida como a população bacteriana presente em um órgão. A microbiota impacta no aparecimento de diarreias porque é neces-

sário que haja certa “permissividade” da microbiota para que a *E. coli* possa proliferar. O nome da família bacteriana *Enterobacteriaceae*, da qual pertence a *E. coli*, pode gerar a impressão que essas bactérias predominam no sistema entérico. Contudo, essas bactérias são apenas uma pequena fração da microbiota, muitas vezes compondo geralmente menos de 1% das bactérias do intestino. A maior parte das bactérias intestinais são anaeróbios estritos, e por isso são bactérias pouco estudadas no laboratório. A **Tabela 1** mostra os gêneros bacterianos sempre presentes na microbiota GI de suínos¹². A amamentação é um dos fatores mais importantes na composição da microbiota dos leitões. Cada matriz tem o potencial de induzir uma microbiota mais ou menos saudável em sua prole. Ademais, a amamentação induz uma microbiota voltada para a dieta láctea a que os leitões estão submetidos. Assim, na transição do desmame, a microbiota precisa rapidamente adaptar-se à troca da dieta¹³. Portanto, compreender a microbiota é importante para que se entenda o papel de uma das bactérias mais importantes nas diarreias pós-desmame, a *E. coli*.

Como já discutido, o processo que leva à diarreia pode passar por uma fase de anorexia após o desmame. A anorexia pode ser devida ao estresse do desmame, por causa da baixa frequência de alimentação ou por falta de espaço nos comedouros, por exemplo. Esse período leva a perturbações na constituição da microbiota, o que abre espaço para a *E. coli*. Inicialmente, as perturbações provocadas pela anorexia prejudicam a arquitetura intestinal, como discutido acima. Assim, grande parte dos nutrientes passam sem digestão para as porções finais do intestino, favorecendo bactérias sacarolíticas, como a *E. coli*. O jejum também é deletério para os enterócitos, o que pode causar inflamação local. A morte dos enterócitos durante o jejum é um possível ativador da inflamação. A inflamação, por sua vez, aumenta a oxigenação no intestino – um dos pontos centrais da inflamação é o aumento no diâmetro e na permeabilidade vascular, ou seja, maior perfusão local. Como a maior parte das bactérias intestinais são anaeróbias, o aumento da oxigenação é danoso à microbiota saudável. As *Enterobacteriaceae*, por outro lado, são bactérias anaeróbicas facultativas, e podem crescer em atmosfera com oxigênio. Assim, durante a inflamação, a *E. coli* passa a proliferar sem a competição das demais bactérias. Ademais, durante o desmame, os leitões produzem menor quantidade de fosfatase alcalina, uma enzima importante na quebra do LPS bacteriano, o que agrava a inflamação intestinal¹⁴.

A resposta inflamatória no intestino também produz espécies reativas como o NO (óxido nítrico), o qual tem propriedades antimicrobianas. Contudo, o NO liberado no lúmen intestinal é rapidamente transformado em nitrato. O ambiente rico em nitrato confere vantagens competitivas à *E. coli*, a qual possui genes para produção de nitrato redutase, ausente em clostrídeos e bacteroidetes. É clássica esta situação sete dias pós desmame, que ocorre concomitantemente com a abundância de oxigênio e fluxo sanguíneo favo-

Tabela 1. Composição da microbiota de animais em diferentes situações^{13,15-19}. “↑”, aumento relativo do grupo bacteriano em questão. Nas colunas “desmame”, a comparação é feita com leitões saudáveis pré-desmame. Nas colunas “tratamento”, a comparação é feita em relação a animais com diarreia pós-desmame que não receberam o tratamento. “↓”, redução do grupo de bactérias. “-”, sem alteração no grupo de bactérias.

Gêneros bacterianos ou condição da microbiota	Tipo de amostras	Animais saudáveis	Diarreia	Desmame (início)	Um mês pós desmame	Antibióticos	Tratamento com óleos essenciais	Tratamento com probióticos
<i>Prevotella</i>	Fezes ou conteúdo GI*	Sempre**	↑/↓	↑/-	↑	↓	↓	↓
<i>Clostridium</i>	Fezes ou conteúdo GI*	Sempre	↓	↑		↑		↑
<i>Alloprevotella</i>	Fezes	Sempre			↑	↓		↓
<i>Ruminococcus</i>	Fezes ou conteúdo GI*	Sempre	↓		↑	↓	↑	↓
<i>Blautia</i>	Conteúdo GI*	Sempre		↑				↑
<i>Lactobacillus</i>	Conteúdo GI*	Sempre	↓	↓	↑		↑	↑
<i>E. coli</i> e outras <i>Enterobacteriaceae</i>	Variável	Variável		↑/-	↓	↑	↓	↓
<i>Streptococcus</i>	Variável	Variável	↓	↓		↑/↓	↑	↓
<i>Faecalibacterium</i>	Variável	Variável				↓		↑
Diversidade bacteriana	Variável	-	↓	↓/-	↑	-		

* Essas bactérias estão presentes em amostras de todos os pontos do trato gastrointestinal.

** Essas bactérias estão sempre presentes em algum ponto do trato gastrointestinal de suínos saudáveis.

recendo os anaeróbicos facultativos como enterobactérias, com a diminuição de anaeróbicos obrigatórios e diminuição da diversidade.

3. Intervenções

Muitos bons artigos e livros foram já escritos sobre as diarreias pós-desmame, alguns dos quais estão citados aqui e podem ser consultados para quem de-

seja se aprofundar no uso de agentes para intervenção sobre a doença. Nesta seção, busca-se apresentar os efeitos das intervenções contra a diarreia sob um ponto de vista diverso: o da microbiota intestinal. Espera-se com isso demonstrar que algumas intervenções, sempre avaliadas por seus benefícios de curto prazo contra a diarreia, têm consequências duradouras sobre os animais na forma de alterações da microbiota.

Visto que o balanço entre a saúde e a doença intestinal irá depender da constituição de uma microbiota saudável, apresenta-se aqui, na **Tabela 1**, as consequências de alguns agentes sobre a população bacteriana intestinal. Essas informações são oriundas de estudos sobre o microbioma. O microbioma é um espelho da microbiota – ele é a composição genética dos microrganismos da microbiota de um órgão.

Conclusão

Os dados apresentados neste capítulo denotam para os profissionais a necessidade da conexão de tantas disciplinas aprendidas e prova porque a capacidade de unir conceitos determina a qualidade do técnico, e sucesso das medidas implementadas. Ao se procurar estratégias para minimizar o impacto das diarreias pós desmame fica evidente a importância do conhecimento da patogênese de bactérias em particular, ainda mais quando da associação com determinados vírus. Ao mesmo tempo a compreensão da fisiologia digestiva e do manejo inerente a esta fase precoce, mostra como e porque o manejo associado a nutrição e ambiência, é fator determinante na prevenção destes episódios, ou na mitigação dos mesmos. O assunto é complexo e por isto mesmo deve ser objeto de estudo e aplicação diária na rotina, pois só assim se pode customizar as medidas além daquelas que são comuns a todos os sistemas de produção, dentro de uma realidade atualmente com tantas alternativas de aditivos além do clássico uso de antibióticos.

Referências bibliográficas

1. Rhouma, M., Fairbrother, J. M., Beaudry, F. & Letellier, A. Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Vet. Scand.* **59**, 31 (2017).
2. Silva, C. A. da, Brito, B. G. de, Mores, N. & Amaral, A. L. do. Ecopatologia da diarréia pós-desmame em granjas de suínos da região norte do Paraná, Brasil. *Ciência Rural* **29**, 39–43 (1999).
3. Pluske, J. R., Turpin, D. L. & Kim, J.-C. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *Anim. Nutr. (Zhongguo xu mu shou yi xue hui)* **4**, 187–196 (2018).
4. Moeser, A. J. *et al.* Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal

- dysfunction in the pig. *Am. J. Physiol. Liver Physiol.* **292**, G173–G181 (2007).
5. Roselli, M. *et al.* Immunomodulating effects of probiotics for microbiota modulation, gut health and disease resistance in pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* **233**, 104–119 (2017).
 6. Brito, B. G. de & Tagliari, K. C. Sensibilidade antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarreia após o desmame. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **43**, 0 (2000).
 7. Costa, M. M. da *et al.* Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil. *Pesqui. Veterinária Bras.* **26**, 5–8 (2006).
 8. Vidotto, M. C. *et al.* Frequency of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from piglets with diarrhea in the North Parana State, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* **40**, 199–204 (2009).
 9. Sato, J. P. H. *et al.* Associação entre fatores de virulência e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* enterotoxigênicas isoladas de leitões com diarreia no Brasil. *Acta Sci. Vet.* **43**, 1–7 (2015).
 10. Moreno, M. Caracterização genotípica e fenotípica de cepas de *Escherichia coli* associadas à diarreia pós-desmame em suínos. (2015).
 11. Alfieri, A. A. *et al.* Ocorrência de *Escherichia coli*, Rotavirus, Picobirnavirus e *Cryptosporidium parvum* em um foco de diarreia do pós-desmame em suínos. *Semin. Ci. Agrárias* **15**, 5–7 (1994).
 12. Holman, D. B., Brunelle, B. W., Trachsel, J. & Allen, H. K. Meta-analysis To Define a Core Microbiota in the Swine Gut. *mSystems* **2**, e00004-17 (2017).
 13. Gresse, R. *et al.* Gut Microbiota Dysbiosis in Postweaning Piglets: Understanding the Keys to Health. *Trends Microbiol.* **25**, 851–873 (2017).
 14. Campbell, J. M., Crenshaw, J. D. & Polo, J. The biological stress of early weaned piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **4**, 19 (2013).
 15. Adhikari, B., Kim, S. W. & Kwon, Y. M. Characterization of Microbiota Associated with Digesta and Mucosa in Different Regions of Gastrointestinal Tract of Nursery Pigs. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 1630 (2019).
 16. Guevarra, R. B. *et al.* Piglet gut microbial shifts early in life: causes and effects. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **10**, 1 (2019).
 17. Kim, J. *et al.* Effects of the antibiotics growth promoter tylosin on swine gut microbiota. *J Microbiol Biotechnol* **26**, 876 (2016).
 18. Dou, S. *et al.* Characterisation of Early-Life Fecal Microbiota in Susceptible and Healthy Pigs to Post-Weaning Diarrhoea. *PLoS One* **12**, e0169851 (2017).
 19. Chen, X. *et al.* Effects of different probiotics on the gut microbiome and metabolites in the serum and caecum of weaning piglets. *S. Afr. J. Anim. Sci.* **49**, 494–504 (2019).
 20. Modina, S. C. *et al.* Nutritional Regulation of Gut Barrier Integrity in Weaning Piglets. *Animals*, **9**, 1045, (2019).

21. Bailey. K. et. al. The development of the mucosal immune system pre- and post-weaning: balancing regulatory and effector function. Proceedings of the Nutrition Society, **64**, 451–457. (2005).

Impacto econômico das doenças entéricas

Derald J. Holtkamp, DVM, MS,
Iowa State University, College of Veterinary Medicine, Ames, Iowa

Introdução

Compreender o custo de uma doença entérica ajuda os produtores a tomarem decisões racionais e fundamentadas sobre quanto tempo, dinheiro e outros recursos devem ser dedicados à redução do impacto da enfermidade. Em suma, uma análise de custo-benefício das intervenções para reduzir a doença não pode ser bem realizada, a menos que se tenha conhecimento dos custos e benefícios. Se é tão importante saber qual impacto econômico gerado pela doença, por que não há mais informações disponíveis? Existem várias razões. É difícil obter dados bons o suficiente para fazer estimativas razoáveis. Quando é possível obter dados de qualidade, atribuir as diferenças ou mudanças nos dados à uma enfermidade ou enfermidades específicas é sempre um desafio. Outro desafio é a falta de pesquisadores com o conhecimento necessário de produção, doença e economia para transformar os dados em estimativas coerentes.

Este artigo apresenta resultados de dois estudos separados sobre o custo das doenças entéricas em suínos. O primeiro é um estudo das perdas econômicas causadas pelas principais doenças, não apenas doenças entéricas, realizado nos Estados Unidos a partir de uma avaliação de veterinários e produtores¹. É um estudo antigo, mas os resultados ainda são aplicáveis ao contexto dos dias atuais. O segundo é um estudo das perdas econômicas em decorrência da ileíte com base em dados de estudos observacionais e experimentais publicados comparando grupos controles com grupos desafiados.

Perdas econômicas causadas por doenças entéricas a partir de uma avaliação dos veterinários

Material e métodos

As empresas que produzem mais de 150.000 suínos por ano foram identificadas como a população de interesse. Essa população foi posteriormente

segmentada por tamanho, integração vertical e localização geográfica para garantir a representação de toda a população de interesse. Empresas com 7.500 a 25.000 matrizes foram consideradas “médio” porte, enquanto empresas com mais de 25.000 matrizes foram consideradas de “grande” porte. Apenas as empresas com mais de 25.000 matrizes foram segmentadas como integradas ou não integradas, visto que poucos produtores com menos de 25.000 matrizes eram integrados de forma vertical. Os Estados Unidos foram divididos em três regiões geográficas com base nas regiões de produção agropecuária do USDA da seguinte forma: Leste (Apalaches, Delta, Nordeste, Sudeste), Meio-Oeste (Estados dos lagos e Cinturão do Milho) e Oeste (Planícies do Norte, Noroeste do Pacífico, Planícies do Sul, Montanha).

Duas empresas de produção de cada um dos nove segmentos resultantes foram selecionadas para serem incluídas no estudo. Uma terceira empresa de médio porte no Centro-Oeste foi avaliada resultando na inclusão de um total de 19 empresas no estudo. A seleção das empresas baseou-se na prévia declaração de interesse por parte da empresa em participar do estudo e, portanto, não foi aleatória. Apenas uma empresa teve o pedido recusado. Uma avaliação foi desenvolvida e conduzida a um único veterinário em cada uma das empresas por meio de entrevistas realizadas pessoalmente, face-a-face com o entrevistado. O mesmo entrevistador, que também era um veterinário de suínos, conduziu todas as avaliações de maneira consistente. Todas as pesquisas foram realizadas entre novembro de 2005 e fevereiro de 2006.

Os veterinários foram solicitados a identificar os principais desafios à saúde dos suínos, que consistiam em patógenos individuais ou doenças ou a combinação delas. A eles foi solicitado que, em face dos principais desafios identificados, estimassem os custos de saúde animal e as perdas de produtividade nos rebanhos afetados, bem como a porcentagem de indivíduos acometidos nos rebanhos afetados. Um modelo produtivo e econômico foi usado para avaliar a perda de produtividade estimada e os custos de saúde animal para cada um dos principais desafios à saúde.

Resultados

As doenças entéricas identificadas como principais desafios à saúde, por fase de produção estão apresentadas na **Tabela 1**. As perdas econômicas estimadas em rebanhos afetados por cada desafio à saúde entérica e a porcentagem de animais em rebanhos afetados também estão contidas na **Tabela 1**.

Tabela 1. Perda econômica estimada em rebanhos acometidos e a porcentagem de animais em rebanhos acometidos para os principais desafios de saúde entérica.

Desafio a saúde	Perdas econômicas em rebanhos afetados (US\$/suíno comercializado)			% Estimada de animais em rebanhos afetados		
	Reprodução	Creche	Terminação	Reprodução	Creche	Terminação
Clostridium tipo A	\$1,78			21,6%		
Ileíte (<i>Lawsonia intracellularis</i>)	\$0,44		\$4,65	8,7%		10,6%
Rotavírus + <i>E.coli</i> (Maternidade)	\$2,16			14,8%		
Rotavírus	\$1,59			19,0%	5,4%	
Úlcera gástrica			\$3,20	1,3%		8,6%
Clostridium tipo C	\$3,50			3,2%		
Coccidiose	\$0,62	\$0,54		16,7%	2,7%	
<i>Clostridium Difficile</i>	\$0,61			16,4%		
<i>E.coli</i> (pós-desmame)		\$1,62			3,9%	0,6%
<i>E. coli</i> (Maternidade)	\$0,61			3,6%		
Síndrome do intestino hemorrágico			\$3,72			0,4%

Perdas econômicas causadas por ileíte usando dados da literatura

Material e métodos

Os estudos publicados fornecem uma base para estimar o impacto da ileíte em animais de terminação em relação ganho de peso diário (GPD), taxa de conversão alimentar (CA) e mortalidade. Vários estudos experimentais de desafio, comparando suínos não desafiados (controle negativo) com suínos desafiados (controle positivo), foram encontrados com uma revisão da literatura (Shurson et al., 2002; Beckler et al., 2012; Collins et al., 2014). Todos os estudos incluíram um controle negativo, e pelo menos um grupo de suínos desafiados com *Lawsonia intracellularis*. Nenhum dos estudos incluiu grupos de suínos tratados com uma vacina ou antimicrobiano. A idade dos suínos desafiados e a dose de desafio variaram em cada estudo. A idade dos suínos em todos os estudos citados acima era superior a 42 dias de idade. Além disso, um estudo de caso-controle comparando rebanhos afetados por ileíte com aqueles não afetados pela doença, determinado por seu estado sorológico, também foi identificado (Fourchon et. Al., 2000).

Com o propósito de estimar as perdas econômicas causadas pela ileíte, três cenários foram desenvolvidos: 1) Não afetado pela ileíte; 2) Afetado pela ileíte usando o limite inferior dos impactos produtivos estimados dos estudos de caso-controle e desafio experimental; 3) Afetado por ileíte usando o limite superior dos impactos produtivos estimados dos estudos de caso-controle e desafio experimental. Um modelo produtivo e econômico foi usado para calcular o valor das perdas de produção para o segundo e terceiro cenários relativos ao cenário 1.

Resultados

As perdas produtivas para cada cenário estão resumidas na **Figura 1**. As diferenças entre os dois cenários afetados e o cenário não afetado representam perdas de produtividade estimadas devido à ileíte. Os resultados da análise econômica são apresentados na **Tabela 2**. O valor da perda de produtividade causada pela ileíte variou de US\$ 5,98, no limiar inferior, a US \$ 16,94 no limiar superior.

Figura 1. Ganho de peso diário na terminação, conversão alimentar e mortalidade para cada cenário



Tabela 2. Estimativas dos menores valores estimados de GPD, CA e mortalidade causados por ileíte.

	Não afetado por ileíte	Afetados, Limite inferior ¹	Diferença em relação aos não afetados	Afetados, Limite superior ²	Diferença em relação aos não afetados
Lucro líquido (\$/suíno comercializado)	US\$18,84	US\$12,86	-US\$5,98	US\$1,90	-US\$16,94

¹Limite inferior:

- GPD diminui de 0,90 para 0,87 kg/dia (-3,0%)
- CA aumenta de 2,950 para 3,157 kg ração/kg ganho (+7,0%)

Taxa de mortalidade permaneceu inalterada

²Limite superior

- GPD diminui de 0,90 para 0,73 kg/dia (-19,0%)
- CA aumenta de 2,950 para 3,157 kg ração/kg ganho (+7,0%)
- Mortalidade aumentou de 4,0% para 5,0% (+24%)

Conclusões

Ambos os estudos demonstram que as perdas econômicas com doenças entéricas em suínos são muito significativas. Os resultados da pesquisa com veterinários fornecem estimativas do impacto econômico das doenças entéricas em suínos relacionadas as perdas mais significativas em 2005 e 2006, quando a pesquisa foi realizada. As perdas relatadas incluem o valor da perda de produtividade, dinheiro gasto com os custos associados à saúde animal, incluindo vacinas, produtos farmacêuticos, diagnósticos e serviços veterinários. As perdas econômicas em decorrência de ileíte estimadas, usando dados obtidos na literatura representam apenas o valor das perdas de produtividade. Como não foram incluídos estudos com vacinas ou antimicrobianos, os valores representam ileíte não controlada. Os resultados também representam um desafio por *Lawsonia intracellularis* muito controlado e, portanto, não refletem a dinâmica de infecção observada a campo. Portanto, os impactos estimados com base nos estudos de desafio podem superestimar as perdas de produtividade observadas em ambientes de produção comercial.

Agradecimentos

À Merck Animal Health que forneceu financiamento para o estudo para estimar as perdas econômicas causadas pela ileíte usando dados da literatura.

Referências bibliográficas

1. Beckler D, Armbruster G, Rutten-Ramos S. Evaluation of fecal shedding by a high-throughput qPCR assay in a *Lawsonia intracellularis* challenge. 2012. Proc 43rd AASV. Denver, Colorado. pp. 149-153.
2. Collins AM, Barchia IM. 2014. The critical threshold of *Lawsonia intracellularis* in pig faeces that causes reduced average daily weight gains in experimentally challenged pigs. *Vet Microbiol* 168, pp. 455-458.
3. Fourchon A, Chouet S. 2000. Technical results of swine herds and serological results on pigs for *Lawsonia intracellularis*. *Proc IPVS* 16, p 62.
4. Holtkamp D.J., Rotto, H., Garcia R. 2007. The economic cost of major health challenges in large U.S. swine production systems. In: Proc. 38th American Association of Swine Veterinarians Annual Meeting. Orlando, Florida. March. pp. 85-89.
5. Shurson, GC. 2002. The value and use of distiller's dried grains with solubles (DDGS) in swine diets. Proceedings from Caroline Nutrition Conference.

03

Peste Suína Africana



Peste suína africana (PSA): o impacto e como prevenir a introdução dessa enfermidade no rebanho

Alex Peralta, DVM

Introdução: PSA no Sudeste Asiático e nas Filipinas

A PSA é a maior crise que afetou a criação de suínos no século XX. De 2016 até 18 de junho de 2020, as submissões por meio do Sistema de Alerta Precoce à OIE por parte de vários países em todo o mundo estimam perdas de 8,2 milhões de cabeças. A Ásia é responsável por 82% (6,7 milhões de cabeças) do total global de perdas relatadas [1] – uma grave deturpação dos dados, levando em conta o número de subnotificações em diversos países.

No mundo todo, a enfermidade promove um grande impacto na economia global, principalmente em termos de comércio de componentes para alimentação dos animais, de carne suína e demais produtos derivados. Também ameaça à segurança alimentar de toda uma nação, especialmente para países que já apresentem limitações à produção de carne.

Com a disseminação da PSA no Sudeste Asiático, é quase certo que a enfermidade chegará a todos os países produtores de suínos em algumas décadas. Seria prudente para os países livres de PSA aprender com as experiências dos países que foram atingidos e atualmente lutam contra a PSA. As Filipinas são totalmente cercadas de água, uma grande vantagem epidemiológica. Infelizmente, não foi o suficiente para impedir a entrada da PSA. O país é composto por três grupos de ilhas, variando em número de reprodutoras suínas de forma decrescente conforme avança-se para o sul, onde a população é predominantemente muçulmana. A área mais densamente povoada é a região metropolitana de Manila, o que explica por que quase 50% da produção total de carne suína do país se concentra nas províncias vizinhas, na região do Luzon Central. Neste momento, a PSA está presente em 26 províncias, sendo um terço delas localizadas nas ilhas de Luzon e Mindanau. As Filipinas lutam contra a PSA há um ano e a doença ainda está se espalhando, tendo afetado recentemente uma nova província no sul de Luzon.

Como a PSA começou e como tem se espalhado?

Após o relato inicial por parte da República Popular da China em agosto de 2018, na sequência, 7 dos 11 países da região do Sudeste Asiático relataram a ocorrência em 2019: Vietnã em fevereiro, Camboja em março, Laos em junho, Filipinas em julho, Mianmar em agosto, Timor-Leste em setembro e Indonésia em novembro. Os outros países asiáticos que relataram foram: Mongólia em janeiro de 2019, Hong Kong em maio de 2019, Coreia do Norte em maio de 2019, Coreia do Sul em setembro de 2019, Papua Nova Guiné em março de 2020 e Índia em maio de 2020 [1].

O vírus isolado nas Filipinas é 97-100% similar às estirpes isoladas na Geórgia, Rússia, Estônia, Polônia, Bélgica, China e Vietnã. Com base na sequência parcial do gene p72, trata-se de um vírus da PSA do genótipo 2 [2]. A PSA adentrou as Filipinas provavelmente por meio de carne suína contrabandeada e de seus derivados provenientes da China [3]. O contrabando tem sido um problema recorrente nas Filipinas, com algumas remessas confiscadas atingindo valores de US\$ 70.000 e que apresentaram resultados positivos para PSA [4]. Os carregamentos chegam pelo porto de Manila, e são comercializados na região metropolitana e nas províncias vizinhas.

Os primeiros quatro surtos foram relatados em quatro províncias localizadas até 83 km do porto de Manila, em um período de dois meses. É interessante notar que uma dessas províncias foi a região metropolitana de Manila, a província mais urbanizada do país, que relatou um total de 16 surtos. É bastante comum em províncias urbanizadas como a região metropolitana de Manila ter ambulantes com carrinhos coletando restos de alimentos que são então destinados às criações de suínos de fundo de quintal, o que nos faz imaginar o aumento na circulação viral neste segmento da cadeia produtiva de suínos (criações de fundo de quintal e seus consumidores).

Após o primeiro relatório na província de Rizal em julho de 2019, o relato subsequente foi na província de Bulacan em agosto de 2019. Um comprador, ao levar suínos infectados por PSA para um curral, promoveu a disseminação da doença para propriedades próximas. O vírus rapidamente se espalhou para a província vizinha, Pampanga, que reportou a doença em setembro de 2019, e para outras províncias próximas em Luzon nos meses seguintes. Uma ocorrência peculiar é o relato de PSA na cidade de Davao e Davao del Sur, que estão situadas no grupo de ilhas mais ao sul de Mindanau, estando a cidade de Davao a quase mil quilômetros de Manila.

Uma vez que as propriedades comerciais foram envolvidas, um aumento de grande escala foi observado em relação as cargas virais, envolvendo não apenas pequenos comerciantes, mas também grandes mercados de alimentos, mercearias e entrepostos de processamento de carne. Um indicativo para compreender a possível gravidade do aumento da circulação viral neste segmento da cadeia produtiva de suínos, seria o fato de que o vírus da PSA foi detectado em alimentos processados [5].

Ao nível da propriedade comercial, um estudo [6] foi conduzido por M.C. San Esteban, et al. para avaliar as possíveis vias de transmissão. Um total de 11 fatores de risco foram identificados e registrados em 35 propriedades positivas para PSA em Bulacan. Os quatro resultados principais são os seguintes: 83% das propriedades permitiam a entrada de caminhões de carregamento de suínos de um comprador externo e que por sua vez possuía rebanhos positivos para PSA; 46% eram localizados a até 500 m de outras propriedades; 28% apresentavam práticas de biossegurança questionáveis por parte dos trabalhadores; e 17% tinham outros animais como gatos, cães e galinhas que vivem na propriedade. Das propriedades avaliadas, 11% eram propensas a inundações, 11% estavam situadas em áreas por onde circulavam caminhões que realizavam coletas de suínos mortos e 3% apresentavam mortalidade em decorrência da PSA. Essas informações vão de encontro aos resultados obtidos em um estudo semelhante de A. Kittawornrat [7] sobre biossegurança em grandes propriedades comerciais de suínos na Tailândia, mostrando que o maior risco de introdução da PSA vem do processo de venda de suínos, seguido por falhas de biossegurança e pela mistura de lotes de animais desmamados de diferentes origens, enquanto a presença de outros animais e os alimentos apresentaram um menor risco. Da mesma forma, outro estudo na China [8] mostra um maior risco vindo de veículos contaminados, seguido pela alimentação com resíduos contaminados e o transporte de suínos vivos e seus subprodutos.

Um fator de risco que aparentemente não contribui de forma significativa para a disseminação da PSA, de acordo com os estudos de análise de risco anteriores, foi a água potável contaminada. Dr. Alcrudo et al mencionaram em um manual de detecção e diagnóstico de PSA [9] que “A infecção por meio de grandes corpos d’água, como lagos e rios, é improvável porque o vírus se dilui rapidamente e não estará presente em níveis consideráveis para ocasionar a infecção”. Mas e quanto às águas subterrâneas? É possível que PSA se espalhe dessa forma? Digamos que você tenha uma fossa para o descarte de carcaças e que ela não seja recoberta por um material impermeável. É possível que o conteúdo contaminado atinja o aquífero subterrâneo e chegue em doses infectantes a propriedades próximas? Quais seriam as condições que permitirão com que isso ocorra? Eu imagino que dependeria da distância entre a fossa e o aquífero, o volume extravasado, a textura e permeabilidade do solo e a proximidade com outros poços profundos. O estudo de Niederwerder [10] sobre a dose infectante de PSA quando consumido naturalmente em líquido ou na ração conclui que a probabilidade de infecção aumenta exponencialmente com a dose e o número de exposições. Ele demonstra que 10 exposições repetidas a uma dose de apenas 1 partícula de vírus fornecida pela água potável aumentam a probabilidade de infecção para quase 100%. Outro fator de risco, mas que aparentemente não contribuiria de forma significativa para a disseminação da PSA, de acordo com os estudos de análise de risco anteriores, é a transmissão mecânica por moscas. Em um estudo [11] de Fila e Woźniakowski concluiu-se que moscas como *Stomoxys* e *Tabanus* desempenham um

papel importante na transmissão dentro das propriedades e que a pesquisa na identificação de novos vetores é crucial. Um estudo em andamento por R. Parayao sobre a possibilidade da mosca doméstica comum transmitir PSA por veiculação mecânica demonstrou que o RT-PCR e testes de biossensores detectaram PSA em uma amostra em “pool” (agrupada) de patas de 20 moscas. É interessante que os corpos das moscas deram resultados negativos. Também é interessante notar que comparando os resultados de RT-PCR e de biossensor, há uma indicação de que o teste de biossensor para PSA, que foi desenvolvido nas Filipinas, é mais sensível para detecção do vírus. Quais outros fatores de risco estão sendo negligenciados? Muito estudo e pesquisa devem ser feitos, especialmente durante este período que algumas propriedades têm tentando repovoamento. Na minha opinião, o repovoamento de uma propriedade deve ser considerado apenas quando for esclarecido como a PSA foi introduzida.

Para conter os surtos, todos os animais em um raio de 1 km são abatidos, o movimento de animais em um raio de 7 km não é permitido e, em um raio de 10 km, a vigilância ativa é realizada. Esse procedimento está de acordo com o plano de contingência para a PSA emitido pelo Departamento de Agricultura. O DA também implementou um esquema de zoneamento para PSA, visando facilitar o comércio entre as províncias. O que é uma resposta a eventos passados, quando o governo local da maioria das províncias fechou suas fronteiras, causando uma interrupção geral no fornecimento de carne suína.

O impacto da PSA na demanda do consumidor, preços de suínos e população de suínos

Para encorajar o reporte, uma indenização de US\$ 100 por cabeça é oferecida aos proprietários de granjas, mas apenas àqueles com 20 suínos ou menos - essencialmente criadores de fundo de quintal. Comparando o preço mais baixo registrado de um suíno de mercado de 100kg avaliado em US\$ 100, a indenização é suficiente para cobrir o prejuízo. Mas comparando-o com o custo de produção (US\$ 190) e considerando o fato de que o fundo de indenização não cobrirá propriedades comerciais, você pode imaginar a maioria das granjas comerciais fazendo o possível para vender seus animais rapidamente - tenham eles PSA ou não. Esse comportamento de venda massiva pode dar início a uma cadeia de eventos que tornam as coisas ainda piores.

Neste momento há interrupção da oferta de carne suína, mas depois é possível ter um novo desafio, desta vez com um possível excesso de oferta de ovos e carne de frango. O alto preço dos ovos de 2019 até o presente momento fez com que muitos produtores de suínos migrassem para a produção de poedeiras. Os produtores de frango existentes estão expandindo suas operações em resposta ao déficit de carne suína. Os números exatos ainda não são conhecidos, mas você pode imaginar o que acontecerá se a demanda do cliente no futuro não corresponder a esse aumento de produção.

Notícias particularmente ruins sobre a PSA podem reduzir drasticamente a demanda por carne suína, especialmente nos *wet market* (mercados de venda de carnes *in natura*), apesar de um grande esforço para convencer os consumidores de que a PSA não é uma ameaça à saúde pública. Para neutralizar esse efeito, a indústria de produção de suínos, com a ajuda do departamento de agricultura, lançou uma campanha para tornar o público menos receoso quanto a PSC. É lamentável que o efeito da mídia tenha sido muito forte e a demanda tenha permanecido anormalmente baixa até 2020. Em uma nota positiva, algumas empresas relataram rápida recuperação das vendas em outubro e novembro de 2019. Isso pode ser devido à percepção dos consumidores de que a carne suína vendida em frigoríficos é mais segura em comparação com a carne suína vendida em *wet markets*.

A combinação de um aumento drástico na oferta de carne suína em algumas províncias, causado por restrições ao movimento, e uma queda prolongada na demanda, tem um forte impacto sobre os preços dos suínos. O preço tem caído desde julho de 2018 de forma lenta e gradual até setembro de 2019, quando os preços caíram drasticamente. Foi nessa época que as províncias estavam fechando suas divisas enquanto os agricultores tentavam “lucrar” antes de serem atingidos. Era de se esperar que os preços dos suínos caíssem ainda mais durante a pandemia do COVID-19, mas este não é o caso – um indicativo da situação excessivamente baixa da oferta de carne suína [12].

Observando o despovoamento de matrizes em 5 províncias de Luzon Central e do Norte, cuja população inicial combinada era de cerca de meio milhão de fêmeas, de setembro de 2019 a julho de 2020 houve um despovoamento de matrizes estimado em 69% nesta área, o que corresponde a 16% da população total de reprodutoras do país. De acordo com as estimativas da indústria, as Filipinas perderam um total de 3,6 milhões de cabeças (ou 381 mil matrizes produtivas) [13] por meio do abate preventivo (ganhos por parte de propriedades negativas para PSA), eliminação e mortalidade por PSA combinadas.

Prevenindo a entrada no rebanho

Em uma escala nacional, as seguintes medidas de controle são imprescindíveis: descobrir riscos desconhecidos ou identificar riscos subestimados; acabar com o contrabando e a alimentação com resíduos orgânicos de descarte; aumentar a conscientização do público sem causar pânico; manter vigilância intensificada; melhorar as capacidades de quarentena e fortalecer a biossegurança ao longo de toda a cadeia produtiva da carne suína. Haverá momentos em que a cooperação harmoniosa entre diferentes agências governamentais não será suficiente para implementar a mudança em um tempo hábil, é nesta ocasião que a coragem e a determinação dos líderes de uma nação serão duramente testadas.

Resumo

A entrada e a disseminação inicial da PSA estão ligadas a fatores de risco extremamente difíceis de mitigar, como importação, contrabando e alimentação dos animais com restos de alimentos. A situação da PSA nas Filipinas teve um impacto negativo imediato na demanda do consumidor e nos preços dos suínos e um impacto duradouro na oferta de carne suína. Uma forte determinação política é crucial na prevenção e gestão de um surto de PSA.

Referências bibliográficas

- 1 PSA Report No.47 2016-2020 World Animal Health Information Department... https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/PSA/Report_47_Global_situation_PSA.pdf
- 2 Molecular Characterization of African Swine Fever Virus in a backyard swine farm in Bulacan Philippines. Gianne May R. Gagan DVM, Erika Arellano, RMT and Dennis V. Umali, DVM, PhD. <https://pcsp.org.ph/wp-content/uploads/2020/02/5-Gagan-PSA-PVMA-2020.pdf>
- 3 Pork from China caused African swine fever outbreak in Philippines. Ralf Rivas. Rappler November 4, 2019 <https://rappler.com/business/pork-from-china-caused-african-swine-fever-outbreak-philippines>
- 4 P3.5-M misdeclared pork, other meat products seized. Betheena Kae Unite. Manila Bulletin 2019 Oct 28. <https://mb.com.ph/2019/10/28/p3-5-m-misdeclared-pork-other-meat-products-seized/>
- 5 Two Mekeni products test positive for PSA, removal of license possible - Agriculture dept. Janine Peralta. CNN Philippines Published Nov 4, 2019.

Inovação 04 e Pesquisa:

**resumos dos trabalhos
apresentados em
saúde respiratória**

Fatores de risco para pleurite em suínos no abate

Nelson Morés¹

¹Medico Veterinário – MSc em Patologia Animal, consultor em doenças dos suínos

Introdução

As aderências de pleura/pericárdio, denominadas simplesmente de aderências, observadas no abate, são consequências evolutivas de pleurite/pericardite que ocorreram na fase de terminação ainda na granja. Segundo dados analisados do SIGSIF sobre o total de suínos abatidos em frigoríficos de Inspeção Federal no período de 2012 a 2014, a prevalência registrada dessa patologia foi de 4,57%. Porém, tal prevalência é subestimada porque o SIF registra apenas a patologia predominante e muitos casos dessas aderências aparecem no abate associadas a outras patologias mais importantes, para as quais a carcaça é condenada.

A importância econômica destas aderências recai para o produtor e indústria. Para o produtor em função da redução de ganho de peso, gastos com medicamentos e desvalorização das carcaças dos animais abatidos. Cada 1% de aumento na prevalência no abate aumenta em 0,26 dias a idade de abate do lote. Também, suínos com aderências de pleura apresentam peso de carcaça, aproximadamente, 4,4 kg inferior aos normais do mesmo lote. Para a indústria, o prejuízo avaliado em trabalho realizado em 2016, referente aos animais abatidos de 2010 a 2014 em um abatedouro localizado na região sul do Brasil que exportava grande parte da produção, o prejuízo total para foi de **R\$9,82/**suíno abatido, muito em função da não exportação das carcaças afetadas.

Os principais agentes etiológicos envolvidos nas lesões de serosas em suínos que são vistas no abate na forma de aderências de pleura/pericárdio são a *Pasteurella multocida*, o *Actinobacillus hyopneumoniae* e a *Glaesserella parasuis*, porém outros agentes podem estar envolvidos em menor frequência como o *Streptococcus suis*, o *Mycoplasma hyorhinis* e o vírus da influenza.

Para dar suporte a revisão da legislação de inspeção com relação às aderências de pleura, a Embrapa Suínos e Aves realizou estudo em 100 carcaças afetadas (50 que tinham apenas aderência, sem lesão pulmonar e 50 que além da aderência tinham também lesão no parênquima pulmonar). No exame bacteriológico de suabes colhidos nas aderências das 100 carcaças não foi possível

isolar qualquer bactéria. Esse resultado deu suporte ao **Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017 no § 2º que diz o seguinte**: “Nos casos de aderências pleurais sem qualquer tipo de exsudato, resultantes de processos patológicos resolvidos e **sem repercussão na cadeia linfática regional**, a carcaça pode ser liberada para o consumo, após a remoção das áreas atingidas”.

Fatores de risco associados

Nos últimos anos vários, trabalhos científicos realizados em outros países demonstraram muitos fatores de risco, com respectiva razão de chance (OR), associados à ocorrência de aderências de pleura no abate. Os mais relevantes são:

- Manejo do rebanho sem vazio sanitário: OR = 9,3;
 - Manutenção de suínos com mais de 30 dias de diferença na idade no mesmo espaço aéreo: OR = 6,5;
 - Movimento de suínos entre baias no crescimento/terminação: OR = 2,2 por movimento;
 - Piso parcialmente vazado na creche X totalmente vazado: OR = 21,4 vezes mais no parcialmente vazado;
 - Tempo de vazio no crescimento/terminação/dia adicional: OR = 0,86 (efeito preventivo);
 - Presença de *A. pleuropneumoniae* na granja: OR = 8,8;
 - Tipo de produção: *weaning to finish* (OR = 0,10); crescimento - abate (OR = 0,45) - (efeitos preventivos);
 - Uso de desinfetante entre lotes na terminação: OR = 0,20 (efeito preventivo);
 - Nº de origens na terminação: menor ou igual a 3: OR = 0,17 (efeito preventivo);
 - Lavagem completa entre lotes: OR = 0,24 (efeito preventivo);
 - Associação positiva entre elevados níveis de poeira e amônia com pleurisia no **período total de crescimento/terminação**:
 - Poeira: OR = 20,91
 - Amônia: OR = 21,54;
 - Associação positiva entre elevados níveis poeira e amônia com pleurisia na **2ª metade**:
 - Poeira: OR = 40,85; P<0,001
- Além desses fatores, são ainda citados:
- Elevada densidade regional de granjas de suínos;
 - Falta ou inadequado vazio sanitário na maternidade e práticas tardias de manejo com os leitões como corte de rabo, castração...;
 - Idade de desmame abaixo de 23 dias;
 - Temperatura ambiental nos galpões de crescimento/terminação abaixo da zona de conforto dos animais.

Conclusão

A prevalência de pleurite e pericardite crônicas em suínos abatidos é elevada, não apenas no Brasil, mas em todos os países com produção industrializada de suínos. Em função do prejuízo econômico causado aos produtores e à indústria por estas lesões, se justifica investir mais na prevenção em nível de granja, principalmente corrigindo os fatores de risco existentes. Quando em determinado abatedouro ocorre elevada prevalência de aderência de pleuras, o primeiro passo é identificar a origem dos animais e estabelecer um diagnóstico etiológico do problema. O segundo passo é tomar medidas de controle específicas (vacinas/tratamentos em função da etiologia identificada) e inespecíficas (identificar e mitigar os fatores de risco).

Referências bibliográficas

- AMARAL, A.L. & MORÉS, N. Planejamento da produção de suínos em lotes com vazio sanitário. *Acta Scientiae Veterinariae*, 36, 143-154, 2008.
- FABLET, C.; DORENLOR, V.; EONO, F.; et al. Noninfectious factors associated with pneumonia and pleuritis in slaughtered pigs from 143 farrow-to-finish pig farms. *Preventive Veterinary Medicine*, v.104, n.3-4, p. 271-280, 2012.
- FRAILE, L.; ALEGRE, A.; LÓPEZ-JIMÉNEZ, R.; et al. Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs. *Veterinary Journal*, v.184, p.326-333, 2010. www.elsevier.com/locate/tvj l.
- FRAILE, L.; ALEGRE, A.; LÓPEZ-JIMENEZ, R.; M.; NOFRARÍAS, M. & J. SEGALÉS. Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs. *Veterinary Journal*, v. 184, n. 3, p. 326-333, 2010. Doi: 10.1016/j.tvj.2009.03.029.
- KICH, J.D.; COLDEBELLA, A.; ALBUQUERQUE, E.R.; et al. *Modernização da inspeção sanitária em abatedouros de suínos - Inspeção baseada em risco - Opinião científica*. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2019, 182p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 204).
- MICHIELS, A.; PIEPERS, S.; ULENS, T.; et al. Impact of particulate matter and ammonia on average daily weight gain, mortality and lung lesions in pigs. *Preventive Veterinary Medicine*, v.121, p.99-107, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.06.011>
- MORÉS, M.A.Z.; OLIVEIRA FILHO, J.X.; REBELATTO, R.; et al. Aspectos patológicos e microbiológicos das doenças respiratórias em suínos de terminação no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 35, n. 8, p. 725-733, 2015.
- MORÉS, N & GAVA, D. Vazio sanitário e desinfecção na suinocultura: o que se faz no Brasil e quais os ganhos reais com o cumprimento de boas práticas nessa área. In.: BARCELLOS, DE; BORTOLOZZO, FP; WENTZ, I. et al., Eds. In: *Anais do X Simpósio Internacional de Suinocultura - SINSUI*, Porto Alegre, 2017. p.199-206, 2017.

- MORÉS, N.; ARI JARBAS SANDI, A.J. & JOSÉ LUIS HICKMANN, J.L. **Impacto Económico das Pleurites/Pericardites em um Abatedouro de Suínos**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2017, 7p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 545).
- OLIVEIRA FILHO, JX; MORÉS, MAZ; REBELLATO, R; et al. Pathogenic variability among *Pasteurella multocida* type A isolates from Brazilian pig farms. *BMC Veterinary Research*, v.14, n.244, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1565-2>.
- ROCHA FILHO, N.; MORÉS, M.A.Z.; REBELATTO, R.; et al. Pleurites crônicas responsáveis pelo desvio de carcaças suínas para o dif: bacteriologia e histopatologia. In: *Anais do XVIII Congresso da Abraves, Goiânia, 2017*.p.65-66.
- TUCKER, A. W.; MCKINLEY, T. J.; JAEGER H. J. Pleurisy in pigs: associated risk factors and impact on health, welfare and performance. Cambridge: Department of Veterinary Medicine/University of Cambridge: Kenilworth: British Pig Executive/AHDB, 2009. 94 p.
- ZOTTI, E. *Avaliação do peso ao nascer de leitões e seus reflexos na sanidade e no desempenho zootécnico*. 2012. 120f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2012.

Desenvolvimento de vacina oral para imunização de leitões contra *Mycoplasma hyopneumoniae*

Marina L. Mechler-Dreibi¹; Henrique M. S. Almeida¹; Karina Sonálio¹; Mariela A. C. Martines¹; Fernando A. M. Petri¹; Beatriz B. Zambotti¹; Marcela M. Ferreira¹; Tereza S. Martins²; Hélio J. Montassier¹; Osvaldo A. Sant'Anna³; Márcia C. A. Fantini⁴; Luís Guilherme de Oliveira¹

¹São Paulo State University (Unesp), School of Agricultural and Veterinarian Sciences, Jaboticabal, Brazil.

²Federal University of São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brazil.

³Butantan Institute, São Paulo, Brazil.

⁴University of São Paulo (USP), São Paulo, Brazil.

Resumo

Este estudo teve como objetivo desenvolver uma vacina oral contra *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* usando uma sílica mesoporosa nanoestruturada (SBA-15) como adjuvante, e comparar seu efeito com uma vacina intramuscular (IM) amplamente utilizada (M + PAC, Merck Animal Health, EUA). Para tanto, cinquenta leitões livres de *M. hyopneumoniae*, com 24 dias de idade, foram divididos em cinco grupos iguais para diferentes protocolos de imunização, consistindo de uma vacina comercial (VC) e / ou imunização oral (IO). Os leitões VC receberam uma vacina de dose única IM aos 24 dias de idade (D0); os leitões IO receberam uma dose única de vacina oral no D0; os leitões VC + IO receberam uma dose de vacina IM no D0 e um reforço com a vacina oral 4 semanas depois (D28). Os leitões IO + IO receberam uma dose da vacina oral no D0 e um reforço com a mesma vacina no D28; os leitões CONT constituíram o grupo controle, que não recebeu nenhuma forma de imunização. Todos os leitões foram desafiados com 5 mL de meio Friis contendo 10⁶ CCU / mL de *M. hyopneumoniae* cepa 232 em D49 por via traqueal. Semanalmente, suabes nasais foram colhidos para dosagem de IgA (ELISA) e excreção de *M. hyopneumoniae*. Quinzenalmente, as amostras de soro foram avaliadas para medição de IgG (ELISA). Metade dos animais em cada grupo foram eutanasiados 28 dias pós-infecção (D77), e a outra metade foi eutanasiada 56 dias pós-infecção (D105). No abate, os pulmões de todos os animais foram avaliados macroscopicamente de acordo com a metodologia da Farmacopeia Europeia,

amostras biológicas, como fragmentos de pulmão foram coletados para qPCR e histopatologia, e fluido broncoalveolar (BALF) para qPCR. Todos os protocolos de imunização mostraram redução nas lesões pulmonares macroscópicas indicativas de infecção por *Mycoplasma*. As respostas primárias e de memória de anticorpos IgA anti-MHYO foram efetivamente induzidas pelas vacinas VC e IO. O uso da sílica (SBA-15) como adjuvante para imunização oral de suínos tem resultados promissores, podendo ser um aliado no controle da infecção por *M. hyopneumoniae*.

Por que a aclimação de leitões deve ser feita para controlar *Mycoplasma hyopneumoniae*?

Karine Ludwig Takeuti¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Para compreender as razões pelas quais a aclimação de leitões deve ser utilizada para controlar a infecção por *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae*, dois aspectos importantes devem ser considerados: a importância das leitões de reposição na dinâmica de infecção do agente e a variabilidade genética de *M. hyopneumoniae*.

Sabe-se que os leitões nascem livres de *M. hyopneumoniae*, ou seja, não há transmissão transplacentária da porca aos leitões. No entanto, estudos mostram que a partir de uma semana de vida já é possível detectar leitões positivos para *M. hyopneumoniae* por PCR, e que a proporção de positivos ao longo do período lactacional aumenta devido ao contato direto entre matrizes positivas com suas leitegadas. Comparando-se as diferentes categorias de matrizes, observou-se que as fêmeas jovens, especialmente as leitões, apresentam maior probabilidade de serem detectadas positivas para *M. hyopneumoniae* por PCR. Em um estudo realizado pelo Setor de Suínos da UFRGS observou-se que até 15,7% das leitões podem chegar ao primeiro parto excretando a bactéria, representando um risco na transmissão de *M. hyopneumoniae* para suas leitegadas. Em outro estudo também realizado pelo mesmo grupo, subpopulações negativas de leitões em granjas positivas para *M. hyopneumoniae* foram encontradas, demonstrando que se não expostas ao agente, as leitões podem chegar ao primeiro parto sem ter tido contato com a bactéria, tornando-as suscetíveis a infecções futuras, aumentando o risco de transmissão de *M. hyopneumoniae* para seus leitões não apenas no primeiro parto, como também em partos subsequentes. A única forma de reduzir esses riscos seria a aclimação de leitões para *M. hyopneumoniae* imediatamente após a chegada desses animais nas granjas.

Um aspecto importante a ser considerado na aclimação de leitões para *M. hyopneumoniae* é a variabilidade genética deste agente. Em nossos estudos detectamos uma ampla quantidade de variantes de *M. hyopneumoniae* em multiplicadoras brasileiras, demonstrando que nem todas as granjas têm o mesmo perfil. Estes resultados, associados à limitada proteção cruzada entre variantes de diferentes graus de patogenicidade, evidenciam a importância de

realizar o manejo de aclimação somente nas granjas que recebem estes animais e nos alertam sobre os riscos na introdução de leitoas de origens externas positivas para *M. hyopneumoniae*.

A aclimação de leitoas para *M. hyopneumoniae* é o único manejo que garante a exposição desses animais frente à bactéria. Quando expostas de forma proposital ainda jovens, as leitoas têm uma maior chance de se curarem da infecção até o momento do primeiro parto, reduzindo também a formação de subpopulações de leitoas negativas que podem causar desequilíbrio sanitário no plantel no futuro. Dessa forma, a presença de leitoas aclimatadas diminui as chances de transmissão do agente das matrizes para suas leitegadas, e consequentemente a transmissão futura de *M. hyopneumoniae* entre leitões infectados e suscetíveis nas fases de creche e terminação, quando são normalmente observados os sinais clínicos e lesões.

Etiologia de Pneumonias em Suínos Abatidos no Estado do Rio Grande do Sul

Elisa Rigo De Conti¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Na suinocultura tecnificada, as perdas de produção causadas pelas pneumonias na fase de terminação são significativas e são escassos os trabalhos que façam a caracterização etiológica dos agentes envolvidos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar as causas de pneumonia em suínos abatidos comercialmente. Trinta pulmões com lesões sugestivas de pneumonia foram coletados de cinco frigoríficos pertencentes a diferentes agroindústrias. Dos 150 pulmões avaliados, a média do escore de lesão pulmonar foi de 2,2, variando de 1,53 a 2,83 entre os frigoríficos. Os achados histopatológicos mais frequentemente encontrados foram lesões sugestivas da infecção concomitante do vírus da Influenza A (IAV) e de *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhyo), correspondendo a 54,7% (82/150), sendo que em 54,9% (45/82) destes casos houve isolamento de *Pasteurella multocida* tipo A (PmA). Outros resultados frequentes foram a presença de lesões histopatológicas sugestivas apenas de infecção por Mhyo (25,3%; 38/150), e a de lesões sugestivas de infecção simples por IAV (9,3%; 14/150). Em 103 amostras (68,7%) houve sugestão de envolvimento de mais de um agente infeccioso. Esses achados poderiam explicar a severidade das lesões macroscópicas, já que infecções mistas tendem a provocar pneumonias mais graves. Embora a infecção por IAV esteja frequentemente associada a animais mais jovens, no presente estudo 64,7% (97/150) dos pulmões de suínos de abate apresentaram lesões histopatológicas sugestivas de IAV, variando de 20% (6/30) a 86,7% (26/30) entre os frigoríficos avaliados. Em relação à cronicidade das lesões histopatológicas sugestivas de IAV, das 97 amostras, 17,5% (17/97) apresentava lesão aguda, 29,9% (29/97) subaguda e 52,6% (51/97) crônica. As 46 amostras sugestivas de infecção subaguda e aguda de IAV foram selecionadas para avaliação por IHQ e RT-rPCR para IAV. Um total de 16 amostras (34,9%; 16/46) tiveram marcação positiva na IHQ. Já no RT-rPCR, 6 amostras (13%; 6/46) foram positivas para IAV. A divergência entre o número de positivos na IHQ e no RT-qPCR pode estar relacionada com a fácil desnaturação do RNA durante o processamento das amostras e também ao pouco tempo que o vírus pode ser detectado no animal. No exame bacteriológico, 43,3% (65/150) das amostras tiveram isolamento puro de PmA, o qual variou de 0% (0/30) a 66,7% (20/30) entre os frigoríficos. No presente trabalho foi isolado PmA em casos de pneumonia com lesões histopatológicas sugestivas de infecções por IAV e/ou Mhyo, o que correspondeu a 42,7% (64/150) dos pulmões avaliados.

Um total de 79,3% (119/150) das amostras foram positivas para Mhyo no rPCR. Desse, 84,9% (101/119) apresentavam lesões sugestivas de Mhyo na histopatologia. Os resultados deste trabalho indicaram a alta frequência de infecções mistas, principalmente causadas por Mhyo, IAV e PmA, e a alta detecção de lesões de IAV em pulmões com lesões de pneumonia em suínos de terminação. Considerando-se que três semanas após a infecção por IAV o tecido lesado se recupera, não sendo possível a visualização de lesões no exame histopatológico, sugere-se que tanto as lesões histológicas classificadas como agudas, quanto as subagudas e crônicas tenham ocorrido no final da fase de terminação.

Inovação 05 e Pesquisa: **resumos dos trabalhos apresentados em saúde entérica**

Caracterização dos surtos de salmonelose em suínos no Brasil

Jalusa Deon Kich¹ e Mariana Meneguzzi²

¹Embrapa Suínos e Aves, ²IFC, Instituto Federal de Santa Catarina

As doenças da produção são responsáveis por grandes prejuízos econômicos na suinocultura intensiva. Entre elas, a salmonelose se destaca na perspectiva clínica e também de segurança dos alimentos. Dos mais de 2.600 sorovares de *Salmonella* conhecidos, os casos de salmonelose clínica em suínos normalmente estão associados a dois principais sorovares. *Salmonella* sorovar Choleraesuis que causa doença grave, invasiva e septicêmica e *Salmonella* sorovar Typhimurium associado a casos de enterite. No Brasil, desde 2013 o número de casos clínicos de salmonelose nos principais estados produtores vem aumentando gradualmente. Com o objetivo de conhecer a epidemiologia da doença, 130 surtos de salmonelose, que ocorreram entre 2011 a 2017 em dez estados brasileiros, foram caracterizados a partir de informações de campo e investigação de um isolado de *Salmonella* de cada surto.

Os resultados da sorotipagem mostraram que 42,31% (55/130) dos isolados pertenciam à variante monofásica do sorovar Typhimurium (4,[5],12:i:-), seguidas de 35,40% (46/130) do sorovar Choleraesuis e 10,77% (14/130) dos isolados eram *S. Typhimurium*. Outros sorovares como *S. Rissen* (3/130), *S. London* (2/130) e *S. Panama* (2/130) foram identificados em menor número. Além disso, foram identificadas uma única cepa pertencente ao sorovar: *S. Anatum*, *S. Bovismorbificans*, *S. Derby*, *S. Grupo D*, *S. Grupo E4* (O: 19 :-), *S. Infantis*, *S. Newport* e *S. Oslo*. A ocorrência da variante monofásica da *S. Typhimurium* previamente classificada pela sorotipagem foi confirmada por PCR Multiplex.

Os surtos foram classificados em quatro categorias clínico patológicas de acordo com o local de isolamento da *Salmonella*. Dos 130 casos, 128 continham informação do local de isolamento, e destes 50 foram classificados como entéricos, 48 septicêmicos, 17 hepatobiliares invasivos e 13 nodais ou nodais entéricos. Quando relacionado a apresentação clínica com os sorovares encontrados foi observado que 88% (44/50) dos casos entéricos estavam associados ao sorovar Typhimurium e sua variante monofásica. Em relação aos quadros de septicemia, 75% (36/48) dos casos estavam associados com o sorovar Choleraesuis. A fase de produção em que a doença ocorreu foi reportada em 114 casos. Destes, 8 ocorreram na maternidade e 53 casos ocorreram na creche e 53 na fase de crescimento e terminação.

Quanto a resistência antimicrobiana, 113 isolados (86,92%) foram classificados como multirresistentes, apresentando resistência a três ou mais classes

de antimicrobianos. Alta frequência de isolados resistentes foi observado para tetraciclina (90%), seguida por florfenicol (77,69%), doxiciclina (76,92%), gentamicina (73,84%), colistina (63,07%) e estreptomicina (62,30%). Em contraste, 93,84% dos isolados foram sensíveis à lincomicina/espectinomicina, seguida por ceftiofur (86,92%), norfloxacin (86,92%) e por Fosfomicina (88,46%).

A relação genotípica entre os isolados foi investigada através da técnica de eletroforese em gel de campo pulsado. Um grande grupo clonal de *S. sorovar Choleraesuis* com 41 isolados estava amplamente distribuído em seis estados produtores de suínos: Goiás, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo. Além disso, 14 isolados pertencentes ao mesmo grupo apresentaram o mesmo perfil de resistência antimicrobiana (Dox, Ffc, Gen, Str, Tet) e mais 8 isolados continham este mesmo perfil conservado somado a outros antibióticos. Por outro lado, a variante monofásica do sorovar *S. Typhimurium* apresentou 8 grupos com grande diversidade no perfil fenotípico de resistência aos antimicrobianos.

Este estudo revelou que os surtos de salmonelose estão ocorrendo de forma endêmica nos estados de maior produção de suínos do Brasil. São afetadas principalmente as fases creche, crescimento e terminação, mas pode ocorrer na maternidade. O sorovar mais prevalente foi a variante monofásica da *S. Typhimurium* (4,[5],12:i:-), que emerge como importante sorotipo causador de doença clínica em suínos. Além disso, sorovares *Typhimurium* e *Choleraesuis* foram identificados e apresentaram alta taxa de multirresistência aos principais antimicrobianos utilizados a campo. Em relação a avaliação genotípica, um grupo clonal de *S. Choleraesuis* majoritário associado a um perfil de resistência antimicrobiana específico sugere que cepas semelhantes estão circulando em diferentes regiões do Brasil.

Prevenção da diarreia neonatal por *Clostridium difficile* por exclusão competitiva

¹Carlos Augusto de Oliveira Junior, ¹Roberto Maurício Carvalho Guedes,

¹Rodrigo Otávio Silveira Silva, ¹Francisco Carlos Faria Lobato

¹Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias.

Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais.

A infecção por *Clostridium difficile* (ICD) é hoje uma das principais causas de diarreia em leitões neonatos em todo o mundo, incluindo Brasil. Em adição, estudos tem demonstrado a potencial transmissão de *C. difficile* entre animais e seres humanos. Apesar do reconhecido impacto na suinocultura e até da suspeita de ser uma doença zoonótica, inexistem produtos específicos, incluindo vacinas, para a prevenção e controle da ICD no mercado mundial. Até o momento, o controle se dá exclusivamente por medidas de manejos que são sabidamente de baixa eficiência. Uma das abordagens mais promissoras para prevenção, até o momento, e testada amplamente em seres humanos é a chamada “exclusão competitiva”. Trata-se do fornecimento de estirpes não toxigênicas de *C. difficile* por via oral. Essas, colonizam o trato intestinal e impedem, por competição, a colonização de estirpes de *C. difficile* capazes de causar doença. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial de proteção de uma estirpe não toxigênica de *C. difficile*, nomeada de Z31, contra a ICD em suínos. Iniciado em 2008, o projeto foi dividido em três fases. Na fase 1, realizou-se a caracterização genotípica e fenotípica da estirpe Z31, incluindo a viabilidade do produto em diferentes temperaturas de armazenamento. O sequenciamento genômico da Z31 revelou a presença de genes responsáveis pela produção e estabilidade dos esporos, aderência intestinal e formação de biofilme, porém confirmaram a incapacidade da estirpe em produzir doença graças a ausência dos genes codificadores das toxinas A e B. Para produção em larga escala, diferentes meios de cultura clássicos foram avaliados, permitindo concentrações de quase 10^7 UFC/mL com proporção de esporos superiores a 98%. Em adição, a estirpe Z31 manteve uma viabilidade de até dois anos quando armazenada em temperatura ambiente, indicando grande facilidade de produção, armazenamento e distribuição do produto. Em uma segunda fase, avaliou-se a capacidade preventiva da estirpe Z31 contra a ICD em modelo experimental hamsters, largamente utilizado para avaliação de vacinas e probióticos que objetivam a prevenção da diarreia por *C. difficile*. A estirpe Z31 foi

capaz de proteger 100% dos animais nesse teste, credenciando-a para os testes em leitões neonatos. Na fase final, a capacidade preventiva da estirpe Z31 em suínos em um modelo controlado e, em seguida, em uma granja comercial naturalmente infectada. A Z31 preveniu a ICD no modelo suíno, reduzindo os sinais clínicos, as lesões macro e microscópicas e a eliminação fecal do agente no modelo suíno controlado. Na granja comercial naturalmente infectada, mesmo na presença de outros enteropatógenos, a Z31 reduziu a ocorrência de ICD, a eliminação fecal de *C. difficile* toxigênico e a ocorrência de diarreia neonatal suína substancialmente. Como conclusão, a estirpe Z31 foi capaz de prevenir a ICD em suínos e demonstrou características desejáveis para o seu potencial uso comercial.

Referências bibliográfica

- Oliveira Júnior CA, Silva ROS, Lage AP, et al. Non-toxigenic strain of *Clostridioides difficile* Z31 reduces the occurrence of *C. difficile* infection (CDI) in one-day-old piglets on a commercial pig farm. *Vet Microbiol.* 2019;231:1-6. doi:10.1016/j.vetmic.2019.02.026
- Pereira, F.L., Oliveira Júnior, C.A., Silva, R.O.S. et al. Complete genome sequence of *Peptoclostridium difficile* strain Z31. *Gut Pathog* 8, 11 (2016). <https://doi.org/10.1186/s13099-016-0095-3>
- Oliveira Júnior CA, Silva ROS, Cruz DSG, et al. The non-toxigenic strain of *Clostridioides difficile* Z31 can prevent infection by *C. difficile* in experimental model piglets. *Anaerobe.* 2019;55:24-8. doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.10.002

***Lawsonia intracellularis*: mecanismos de invasão celular e permissibilidade de macrófagos**

Carlos Eduardo Real Pereira¹, Roberto Mauricio Carvalho Guedes²

¹Microbiologia Veterinária Especial – Microvet. ²Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias. Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais.

A *Lawsonia intracellularis* é uma bactéria intracelular obrigatória, microaerofílica, Gram-negativa, causadora da enteropatia proliferativa (EP) (1). Doença endêmica no rebanho suínico mundial (2).

A patogênese da *L. intracellularis* é ainda pouco estudada e compreendida. A infecção ocorre por via fecal-oral, no trato gastrointestinal a bactéria sobrevive ao ambiente hostil do estômago por mecanismos enzimáticos (2) e infecta enterócitos no intestino, na maioria das vezes, inicialmente no íleo, porém todas as porções do intestino são susceptíveis. Ao entrar em contato com os enterócitos, a *L. intracellularis* é internalizada. Os mecanismos de endocitose das bactérias são dois principais: a) mecanismo de zíper – dependente da atividade da célula eucariota, que irá reconhecer a bactéria por receptores presentes na membrana citoplasmática da célula e, em seguida, irá internalizá-la através da sinalização de uma proteína chave, denominada clatrina (3); b) mecanismo de gatilho – dependente da atividade da bactéria que irá secretar no citoplasma da célula do hospedeiro, proteínas efetoras que induzirá a célula eucariota realizar o processo de endocitose (4). Os mecanismos de endocitose da *L. intracellularis* ainda necessitam de comprovação.

Outra questão relacionada a patogênese da *L. intracellularis* que ainda carece maiores estudos é quanto a capacidade de sobrevivência da bactéria no interior de macrófagos. Dados controversos existem na literatura (5, 6) mas não existem estudos com objetivo principal a avaliação da interação de macrófagos e *L. intracellularis*.

Com isso, essa descrição detalha dois estudos, ambos *in vitro*, que objetivaram avaliar os mecanismos de endocitose da *L. intracellularis* e a interação da *L. intracellularis* com macrófagos de suínos.

As células utilizadas foram IPEC-J2 (célula isolada de intestino de suíno) e macrófagos obtidos de sangue periférico de suínos em que foram separadas as células mononucleares (monócitos e linfócitos) e os monócitos diferenciados em macrófagos para utilização no estudo. A cepa de *L. intracellularis* utilizada nos estudos foi a cepa referência (PHE-MN01).

Técnicas de modulação genética (RNA de interferência) foi realizada para diminuir a expressão de clatrina com o intuito de avaliar a dependência de clatrina para endocitose da *L. intracellularis*. *Western blot* foi realizada para comprovar a eficácia da modulação genética. Microscopia confocal foi realizada para avaliar a co-localização da *L. intracellularis* e da clatrina. Para quantificação da *L. intracellularis* endocitada, foi utilizada a PCR em tempo real.

Para avaliação da interação entre *L. intracellularis* e macrófagos foi realizada a microscopia eletrônica de transmissão em um estudo observacional de prova de conceito.

A *L. intracellularis* foi observada co-localizada com clatrina ao microscópio confocal, entretanto, a diminuição da expressão da clatrina (comprovada por *Western blot*) não reduziu estatisticamente a internalização da *L. intracellularis*. Assim, um novo ensaio foi realizado. Foram colocadas *L. intracellularis* mortas em contato com IPEC-J2 e foi demonstrado que nesse segundo ensaio a diminuição da expressão da clatrina foi determinante para diminuir significativamente a internalização da *L. intracellularis*.

Foi demonstrado através da microscopia eletrônica de transmissão a presença da *L. intracellularis* viável no interior de fagolisossomos e, também, bactéria em divisão binária livre no citoplasma.

Conclusões

A *L. intracellularis* é endocitada por mecanismos dependentes de clatrina e/ou por mecanismos ativos da própria bactéria.

A *L. intracellularis* é capaz de sobreviver no ambiente fagolisossomal. Além disso, foi demonstrado a *L. intracellularis* proliferando livremente no citoplasma dos macrófagos.

Referências bibliográficas

1. Lawson, G.H., McOrist, S., Jasni, S., et al. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: cultivation and maintenance in vitro. *J Clin Microbiol* 1993,31(5):1136-1142.
2. Vannucci, F.A., Gebhart, C.J. Recent advances in understanding the pathogenesis of *Lawsonia intracellularis* infections. *Vet Pathol* 2014,51(2):465-477.
3. Pizarro-Cerdá, J., Cossart, P. Subversion of phosphoinositide metabolism by intracellular bacterial pathogens. *Nat Cell Biol* 2004,6(11):1026-1033.
4. Misselwitz, B., Kreibich, S.K., Rout, S., et al. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium binds to HeLa cells via Fim-mediated reversible adhesion and irreversible type three secretion system 1-mediated docking. *Infect Immun* 2011,79(1):330-341.
5. Boutrup T.S., Boesen H.T., Boye M, et al. Early pathogenesis in porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. *J Comp. Pathol.* 2010;143(2):101-109.
6. Johnson EA, Jacoby RO. Transmissible ileal hyperplasia of hamsters. II. Ultrastructure. *Am. J. Pathol.* 1978;91(3):451.

Efeito da co-infecção de *Lawsonia intracellularis* e *Brachyspira hyodysenteriae*

¹Amanda Gabrielle de Souza Daniel

¹Patologista – Microvet. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Dentre as principais enfermidades que cursam em diarreia nas fases finais do desenvolvimento dos suínos, podemos destacar a disenteria suína e a enterite proliferativa. A disenteria suína (DS) é caracterizada por uma colite fibrino mucohemorrágica grave e tem como agente primário *Brachyspira hyodysenteriae*. As lesões são restritas ao intestino grosso, resultando em desidratação e morte em animais não tratados,

A enteropatia proliferativa suína (EPS) tem a *Lawsonia intracellularis* como agente causador. Possui apresentação clínica na forma aguda, crônica e subclínica. A forma crônica acomete animais jovens entre seis e 20 semanas sendo observada anorexia, diarreia. A forma aguda é caracterizada por enterite hemorrágica com morte súbita observada em animais mais velhos e fêmeas de reposição. Na forma subclínica não é possível observar claramente quadro de diarreia com eliminação intermitente de *L. intracellularis* associado a um desenvolvimento retardado dos suínos.

A patogênese das duas enfermidades é complexa e pobremente elucidada. Sabe-se que a dieta e a microbiota possuem uma forte influência na ocorrência dos sinais clínicos. Alguns trabalhos demonstram os efeitos de diferentes dietas na colonização e a presença de microrganismos importantes para o estabelecimento de sinais clínicos. Dessa forma, ao manipular as condições ambientais do meio, há possibilidade de controlar determinados microrganismos.

Em trabalhos inoculando animais gnotobióticos com *B. hyodysenteriae* ou *L. intracellularis* os animais não desenvolvem quadro clínico típico de disenteria suína e enteropatia proliferativa, respectivamente, demonstrando menor suscetibilidade à infecção desses dois agentes dependente da microbiota presente.

Quanto a *L. intracellularis* e a *B. hyodysenteriae*, são poucos os relatos a respeito da infecção mista desses dois agentes, no entanto tem sido observado um aumento de quadros de co-infecção na rotina diagnóstica.

O objetivo desse trabalho foi avaliar quadro clínico, alterações anatomopatológicas, eliminação nas fezes e o microbioma intestinal comparando com a infecção individual.

Foram utilizados 45 leitões de cinco semanas de idade separados randomicamente em quatro grupos: co-infecção *B. hyodysenteriae* e *L. intracellularis* (CO), *B. hyodysenteriae* (BRA), *L. intracellularis* (LAW) e controle negativo (NEG) avaliados durante 21 dias. No zero (0) d.p.i animais dos grupos CO e LAW foram inoculados com $2,76 \times 10^6$ *L. intracellularis* / ml. Sete dias após a inoculação leitões dos grupos CO e BRA receberam $5,31 \times 10^6$ *B. hyodysenteriae* / ml durante três dias. O escore de diarreia foi avaliado diariamente e foi realizada qPCR para *B. hyodysenteriae* e *L. intracellularis*. Aos 21 d.p.i os animais foram necropsiados e realizada a avaliação das lesões macroscópicas, isolamento bacteriano para *Brachyspira* sp, imuno-histoquímica para *L. intracellularis* e histopatologia. Utilizando o método "Fusion" pelo kit Ion Torrent 16S Metagenomics, foi realizado para os dias -5 e 21 o sequenciamento da região hipervariável V4 do gene 16S rRNA. O QIIME foi usado para a geração de resultados de diversidade β e α .

Como resultados, os sinais clínicos e diarreia começaram em 12 d.p.i afetando 11/12 animais e 14 d.p.i 5/11 animais dos grupos CO e BRA, respectivamente. Em apenas quatro suínos do grupo LAW foi possível observar diarreia intermitente. As lesões foram mais graves, com diferença significativa para o grupo CO em todos os parâmetros avaliados no intestino grosso. Inflamação, necrose, hemorragia, hiperplasia de células caliciformes e total de lesões foram observadas significantes entre o grupo CO quando comparado com o LAW. O grupo BRA diferiu apenas do CO quando comparados abscessos de criptas e hiperplasia de enterócitos. Marcação discreta a moderada foi observada em CO e LAW na imuno-histoquímica. Houve isolamento de *B. hyodysenteriae* em 11 de 12 animais do grupo CO e em cinco (5) de 11 do grupo BRA. Os animais dos grupos CO e LAW começaram a eliminar *L. intracellularis* nas fezes após três (3) d.p.i chegando ao final do estudo com todos os animais positivos. Para *B. hyodysenteriae* qPCR detectou positividade em 10 de 12 animais do grupo CO e sete de 11 do grupo BRA, começando três dias após a inoculação com *B. hyodysenteriae*.

Em relação ao microbioma fecal foi possível observar maior abundância relativa com diferença estatística em comparação com os demais grupos para os gêneros *Prevotella*, *Anaerovibrio*, *Bacteroides*, *Butyricimonas*, *Desulfovibrio*, *Fusobacterium* e *p75-a5* no grupo CO, maior abundância de *Clostridium* no grupo BRA. No grupo LAW, *Megasphaera* e *Dialister* foram estatisticamente significantes mais prevalentes *Odoribacter* para o grupo NEG.

Mais trabalhos são essenciais para entender melhor os perfis de microbiota associados à suscetibilidade à doença. Este é o primeiro relato que caracteriza esse quadro de co-infecção experimental. Sinais clínicos, macroscópicos e microscópicos foram significativamente mais graves no grupo CO. No grupo LAW, observamos o quadro subclínico. Possivelmente, a infecção por *L. intracellularis* causou danos iniciais que auxiliam na colonização por *B. hyodysenteriae*. É importante mencionar o mecanismo imunossupressor já demonstrado em suínos com enteropatia proliferativa, com infiltração limitada de células inflamatórias durante o desenvolvimento de lesões com regulação negativa da resposta imune.

Referências bibliográficas

- BRANDENBURG AC, MINIATS OP, GEISSINGER HD, et al. (1977) Swine dysentery: inoculation of gnotobiotic pigs with *Treponema hyodysenteriae* and *Vibrio coli* and *Peptostreptococcus*. *Can J Comp Med.*;41(3):294-301.
- BURROUGH, E. R., ARRUDA, B. L., PLUMMER, P. J. (2017). Comparison of the Luminal and Mucosa-Associated Microbiota in the Colon of Pigs with and without Swine Dysentery. *Front. Vet. Sci.*, 4, 139.
- 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.
- DURMIC, Z., PETHICK, D. W., PLUSKE, J. R. et al., (1998). Changes in bacterial populations in the colon of pigs fed different sources of dietary fiber and the development of swine dysentery after experimental infection. *J Appl Microbiol* , 85(3), 574-582.
- HAMPSON, D.J. *Brachyspira* l colitis. In: ZIMMERMAN, J.J.; KARRIKER, L.A.; RAMIREZ, A.; et al., eds. *Diseases of Swine*. 10th ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell; p.680-696, 2012.
- HUGHES R, OLANDER HJ., WILLIAMS CB (1975). Swine dysentery: Pathogenicity of *Treponema hyodysenteriae*. *Am J Vet Res*. **36**: 971-977.
- JACOBSON, M., AF SEGERSTAD, C. H., GUNNARSSON, A., et al., (2003). Diarrhoea in the growing pig—a comparison of clinical, morphological and microbial findings between animals from good and poor performance herds. *Res Vet Sci.*,74(2), 163-169.
- KINYON, J.M., & HARRIS. D. L. (1979) *Treponema innocens*, a new species of intestinal bacteria, and emended description of the type strain of *Treponema hyodysenteriae*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 29:102-109.
- KINYON, J.M., HARRIS, D.L., GLOCK, R.D. (1977) Enteropathogenicity of various isolates of *Treponema hyodysenteriae*. *Infect Immun.*, 15, p.638-646.
- KROLL, J. J., ROOF, M. B., HOFFMAN, L. J., et al., (2005). Proliferative enteropathy: a global enteric disease of pigs caused by *Lawsonia intracellularis*. *Anim Health Res Rev.*, 6(2), 173-197.
- LAWSON G.H. & GEBHART C.J. (2000), Proliferative enteropathy. *J. Comp. Pathol.* 122:77-100.
- MCORIST, S. & LAWSON, G.H.K., (1989) Proliferative enteropathies—*Campylobacter* species in the feces of normal and contact pigs. *Vet. Rec.* 124, 41-141.
- MCORIST S, JASNI S, MACKIE RA, et al. (1993) Reproduction of porcine proliferative enteropathy with pure cultures of ileal symbiont *intracellularis*. *Infect. Immun.* 61 (10):4286-4292.
- MEYER R.C., SIMON J., BYERLY C.S. (1975) The etiology of swine dysentery. III. The role of selected gram-negative obligate anaerobes. *Vet. Pathol.* 12: 46-54.
- MACINTYRE, N., SMITH, D. G. E., SHAW, D. J., et al., (2003). Immunopathogenesis of

- experimentally induced proliferative enteropathy in pigs. *Vet. Pathol.*, 40(4), 421-432.
- MEYER, R.C., SIMON, J., BYERLY, C.S. The etiology of swine dysentery. II. Effect of a known microbial flora, weaning and diet on disease production in gnotobiotic and conventional swine. *Vet. Pathol.* 11: 527-534, 1974.
- MOLBAK, L., JOHNSEN, K., BOYE, M., et al., (2008). The microbiota of pigs influenced by diet texture and severity of *Lawsonia intracellularis* infection. *Vet. Microbiol.* 128(1-2), 96-107.
- PHILLIPS, N.D.; LA, T.; ADAMS, P.J.; et al. (2009) Detection of *Brachyspira hyodysenteriae*, *Lawsonia intracellularis* and *Brachyspira pilosicoli* in feral pigs. *Vet Microbiol.*, 134, 294-299.
- REINER, G., WINKELMANN, M., WILLEMS, H. (2011) Prevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae*, and *Brachyspira pilosicoli* infection in hunted wild boars (*Sus scrofa*) in Germany. *Eur. J. Wildl. Res.* 57:443-448.
- ROWLAND A.C. & LAWSON G.H.K. (1975) Porcine intestinal adenomatosis: a possible relationship with necrotic enteritis, regional ileitis and proliferative haemorrhagic enteropathy. *Vet. Rec.* 97(10):178-180.
- SMITH, S. H. & MCORIST, S. (1997). Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Research in veterinary science*, 62(1), 6-10.
- SUH D.K. & SONG J.C. (2005) Prevalence of *L. intracellularis*, *B. hyodysenteriae*, and *Salmonella* in swine Herds. *J. Vet. Sci.* 6:289-293.
- VANNUCCI, F. & GEBHART, C., 2014. Recent advances in understanding the pathogenesis of *Lawsonia intracellularis* infections. *Vet. Pathol.* 51, 465-477.
- TAYLOR, D.J. & ALEXANDER, T.J.L., 1971. The Production of Dysentery in Swine by Feeding Cultures Containing a Spirochaete. *Br. Vet. J.* 127, lviii-lxi.
- WHIPP, S.C., ROBINSON, I.M., HARRIS, D.L., et al. (1979) Pathogenic synergism between *Treponema hyodysenteriae* and other selected anaerobes in gnotobiotic pigs. *Infect. Immun.* 26: 1042-1047.
- ZLOTOWSKI, P., DRIEMEIER, D., BARCELLOS, D.E.S.N. de. (2008) Patogenia das diarreias dos suínos: modelos e exemplos. *Act. Sci. Vet.*, v.36, p.s81-s86, 2008.

REALIZAÇÃO:



Farmabase

APOIO:



APOIO SOLIDÁRIO:



ISBN 978-65-5671-014-3



9 786556 710143