

ÁLVARO MENIN

**EPIDEMIOLOGIA DAS DOENÇAS ENTÉRICAS BACTERIANAS EM
SUÍNOS NAS DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS E CARACTERIZAÇÃO
FENOTÍPICA DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli***

LAGES – SC

2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECÁRIA
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14ª Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

MENIN, ÁLVARO

Epidemiologia das doenças entéricas
bacterianas em suínos nas diferentes faixas etárias e
caracterização fenotípica dos isolados de *Escherichia
coli* / Álvaro Menin – Lages, 2007.

74p.

Dissertação (mestrado) – Centro de
Ciências
Agroveterinárias / UDESC.

1. Suíno - Doenças. 2. Diarréia. 3. Bactérias.
I.Título.

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

ÁLVARO MENIN

**EPIDEMIOLOGIA DAS DOENÇAS ENTÉRICAS BACTERIANAS EM
SUÍNOS NAS DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS E CARACTERIZAÇÃO
FENOTÍPICA DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli***

Dissertação apresentada ao Centro de
Ciências Agroveterinárias, da
Universidade do Estado de Santa
Catarina, para obtenção do título de
Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador(a): Dra. Eliana Knackfuss Vaz

LAGES – SC

2007

ÁLVARO MENIN

**EPIDEMIOLOGIA DAS DOENÇAS ENTÉRICAS BACTERIANAS EM
SUÍNOS NAS DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS E CARACTERIZAÇÃO
FENOTÍPICA DOS ISOLADOS DE *Escherichia coli***

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Banca Examinadora:

Orientador(a):

Doutora, Eliana Knackfuss Vaz
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Membro:

Doutora, Sandra Maria Ferraz
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Membro:

Doutor, Geraldo Alberton
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Lages, SC 28/02/2007

Aos meus pais **Sergio Menin e Nagibe M. Menin**, pelo amor incondicional a seus filhos. É um orgulho ter nascido de vocês...

Obrigado pela confiança e amparo nos tropeços, pelo que vocês fizeram, mas principalmente pelo que deixaram de fazer para que nós pudéssemos nos manter no caminho...

A vocês minha eterna gratidão!

AGRADECIMENTOS

A professora Eliana K. Vaz, pela dedicação, ensinamentos, ajuda e amizade, durante a graduação, mestrado

A pesquisadora da EMBRAPA – Suínos e aves, Catia S. Klein, pela ajuda, dedicação, apoio que viabilizaram grande parte deste trabalho e principalmente pela amizade.

Ao meu Irmão Sidnei Menin e Claudete Menin, por batalhar comigo cada passo a cada instante.

Ao meu sobrinho Antônio, que aos 3 anos faz a gente repensar a vida.

A Carolina Reck por ter feito meu mestrado comigo e ter sido um exemplo de superação, força de vontade e por me fazer acreditar e construir os sonhos.

A meus amigos Fernando Cannella, Camila Wolff, Ubirajara da Costa e Willian Dick por estarem sempre presentes participando das conquistas e pela grande amizade.

Meu grande amigo e parceiro, Vagner M. Portes, pela grande ajuda e amizade nestes 7 anos de republica MTT.

A todos os amigos, que dão sentido a realização dos sonhos e compartilham das nossas conquistas.

Ao Pacato e a Cã, pois se não fossem eles eu teria terminado esta dissertação uma semana antes... mas não teria sido tão divertido!

RESUMO

Conhecer as bactérias enteropatogênicas presentes no sistema de produção de suínos é uma importante ferramenta para compreender os desafios sanitários e estabelecer com sucesso programas sanitários voltados ao tratamento, controle e profilaxia. O objetivo deste estudo foi diagnosticar efetivamente o (s) enteropatógeno (s) bacteriano (s) associado (s) a patogênese da enterite nas fases de maternidade, creche, recria e terminação e fazer a caracterização fenotípica e de resistência a antimicrobianos dos isolados de *Escherichia coli*. Os principais gêneros / espécies de enteropatógenos bacterianos diagnosticados foram *Escherichia coli*, *Clostridium* sp., *Salmonella* sp, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* e *Lawsonia intracellularis*. A *E. coli* foi o enteropatógeno mais frequentemente isolado como agente primário ou de forma associada, dos quadros clínicos de diarreia entre segundo e 81º dias de vida dos leitões. A análise fenotípica dos isolados de *E. coli*, considerando a faixa etária, revelou que os sorotipos de *E. coli* potencialmente patogênicos, mais prevalentes até a terceira semana de idade, foram F5/K99 29%, F41 10%, F42 11% e F6/987P 23%, já em leitões com mais de 21 dias, predominaram cepas com fimbrias F4/K88 27%. Utilizando o teste da concentração inibitória mínima (CIM), os maiores índices de resistência foram observados para oxitetraciclina (84%), gentamicina (76,0 %), e menor índice de resistência para ceftiofur (37%) e enrofloxacina (39 %). No teste de resistência a antimicrobianos, por disco – difusão, as amostras de *Salmonella* sp., apresentaram alta sensibilidade à gentamicina (3,5%) amoxicilina (4,8%) e maior resistência a oxitetraciclina (77%), tetraciclina (42,1%).

PALAVRAS-CHAVE: Suínos. Diarreia. Enteropatógenos. *Escherichia coli*.

Antimicrobianos.

ABSTRACT

To know the enteropathogenic bacteria present in the production system of swine can be an important tool to understand the sanitary challenges and to establish with success sanitary programs. The objective of this study was to diagnose effectively enteropathogenic (s) bacterial (s) associate the pathogenesis of the enteritis in newborn piglets, postweaning, growing and finish and to do the phenotypic characterization and of resistance the antimicrobials of the isolated of *Escherichia coli*. The main species of diagnosed bacterial enteropatógenos were *Escherichia coli*, *Clostridium* sp., *Salmonella* sp, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* and *Lawsonia intracellularis*. The *E. coli* it was the bacteria more frequently isolated as primary agent or in an associated, of the diarrhea between second and 81st days of life of the pigs. Analyze the phenotypic of isolated of *E. coli*, considering the age group, its revealed that the serotypes of *E. coli* potentially pathogenic, prevalence more until the third week of age, were F5 (K99) 29%, F41 10%, F42 11% and F6 (987P) 23%, already in pigs with more than 21 days, stumps prevailed with fimbrials F4 (K88) 27%. Using the test of CIM, the largest resistance indexes were observed for oxytetracycline (84%), gentamicin (76%), and smaller resistance index for ceftiofur (37%) and enrofloxacin (39%). In the resistance test the antimicrobials, for disk - diffusion, the samples of *Salmonella* sp., they presented high sensibility to the gentamicin (3,5%) amoxicillin (4,8%) and larger resistance the oxytetracycline (77%), tetracycline (42,1%).

KEYWORDS: Swine. Diarrhea. Enteropatogenic. *Escherichia coli*. Antimicrobials.

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2

Tabela 1 - Enteropatógenos diagnosticados e freqüência (%) em diferentes faixas etárias, SC, 2006.

.....37

Tabela 2 - Sensibilidade *in vitro* a antimicrobianos de amostras de *Escherichia coli* e *Salmonella* sp.

isoladas de material entérico oriundo de suínos com diarreia, utilizando o método de disco

difusão, SC, 2006.41

CAPITULO 3

Tabela 1 – Distribuição e freqüência dos fenótipos fimbrias de *Escherichia coli*, isoladas de leitões com

diarreias em diferentes faixas etárias, diagnosticados pelo teste de microhemoaglutinação

manose-resistente e soroaglutinação rápida em placa, SC, 2006.60

Tabela 2 – Valores de CIM capazes de inibir 50 % e 90% das amostras analisadas e freqüência (%)

de resistência das amostras de *Escherichia coli* em relação aos antimicrobianos testados,

SC, 2006.60

SUMARIO

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO.....11

REVISÃO DE LITERATURA.....13

CAPITULO 2

Etiologias bacterianas de diarreias em suínos em diferentes faixas etárias e perfil de resistência de cepas de *Escherichia Coli* e *Salmonella* sp32

CAPÍTULO 3

Caracterização fenotípica e de sensibilidade de cepas patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarreia nas fases de maternidade, creche, recria e terminação.....50

CAPITULO 4

DISCUSSAO GERAL66

CAPITULO 5

CONCLUSÕES FINAIS734

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da suinocultura moderna está fundamentado na intensificação do nível de exploração. Proporcionalmente aos avanços, houve um estreitamento de relação entre animais e agentes potencialmente patogênicos, aumentando os desafios sanitários em ordem mundial. Estas mudanças causaram um impacto muito forte sobre a sanidade dos suínos, principalmente nas fases de maternidade, creche, recria e terminação.

Neste cenário, o conhecimento epidemiológico dos principais desafios sanitários aos quais os animais estão expostos se faz cada vez mais necessário e fundamental para o sucesso da implantação de programas sanitários representativos e eficientes.

As infecções bacterianas intestinais provocam algumas das doenças mais importantes para a indústria suína mundial. As diarreias ocorrem em leitões de diferentes faixas etárias e causam grandes prejuízos decorrentes da perda de animais por mortalidade ou gastos adicionais com o controle da enfermidade.

Vários podem ser os fatores envolvidos na causa de diarreia em leitões e somente a presença de patógenos entéricos nos exames laboratoriais nem sempre é suficiente para produzir a doença clínica. A gravidade da doença depende do estatus imunitário dos animais, desafio sanitário e da presença de fatores ecopatológicos que predispõem os animais aos diferentes enteropatógenos bacterianos.

Assim, é desejável que o diagnóstico além de revelar o agente ou grupo de agentes envolvidos no quadro de diarreia, deve fornecer evidências de que ele está efetivamente envolvido na patogênese da enfermidade.

Além disso, o tratamento das diarreias utilizando antimicrobianos deve ser seguro e eficiente, para tal, critérios de dosagens e suscetibilidade dos agentes é

essencial para evitar o uso indiscriminado, aumento de resistência bacteriana e poluição ambiental.

A partir disso, este trabalho tem como objetivos:

Objetivo geral:

Obter a epidemiologia das doenças entéricas bacterianas em suínos nas diferentes faixas etárias e caracterização fenotípica dos isolados de *Escherichia coli*;

Objetivos específicos:

Caracterização fenotípica dos isolados de *E. coli*;

Estabelecer o perfil de sensibilidade a antimicrobianos dos isolados bacterianos mais freqüentes.

Os resultados obtidos serão apresentados em dois artigos científicos:

1. Etiologias bacterianas de diarréias em suínos em diferentes faixas etárias e perfil de resistência de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* sp.
2. Caracterização fenotípica e de sensibilidade de cepas patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarréia nas fases de maternidade, creche, recria e terminação.

REVISÃO DE LITERATURA

As diarréias infecciosas em suínos estão entre as causas mais comuns e economicamente significativas de perdas para indústria de suínos em todo o mundo (BURCH, 2000; HOLLAND, 1990; TZIKA et al., 2002). Algumas etiologias são caracterizadas como patogênicas para o homem e representam um risco potencial para saúde pública (ALEXANDER, 1998), principalmente quando se relaciona o animal infectado na granja com a contaminação das carcaças no processamento industrial (VIDAL et al., 2002).

Diarréia é um sinal clínico clássico que indica uma infecção entérica. Pode ser caracterizado por má absorção de água e eletrólitos, eliminação freqüente de fezes aquosas ou quando a proporção de água nas fezes excede a 80 % (HOLLAND, 1990; STRAW et al., 1999).

A causa de diarréia em leitões é multifatorial e a simples presença de patógenos entéricos nem sempre é suficiente para a manifestação da doença clínica. A morbidade, mortalidade e principalmente as seqüelas dependem da capacidade de resistência do hospedeiro, expressão de fatores de virulência do agente e da presença de fatores predisponente, tais como ambiência, higiene inadequada das instalações, baixo aporte de imunidade passiva e nutricional.

Dependendo do agente (s) etiológico (s) envolvido (s), da gravidade da infecção e da suscetibilidade dos animais, as enterites infecciosas bacterianas podem se apresentar a partir de um único sinal clínico ou em forma de síndrome. A apresentação clínica pode variar de diarréia com aspecto mucoso ou hemorrágico, com apresentação crônica, aguda ou super-aguda, desidratação, perda da condição corporal, depressão com alta morbidade, mortalidade ou morte de animais sem sintomas prévios (BURCH, 2000; LIEBLER-TENORIO et al., 1999).

As maiores perdas causadas pelos enteropatógenos estão relacionadas às seqüelas decorrentes das lesões intestinais diretas, alterações na atividade

enzimática e no mecanismo de transporte de nutrientes (JACOBSON et al., 2003). Os prejuízos de ordem econômica causados pelas enterites são severa redução no desempenho e performance dos animais, diminuição da eficiência alimentar, redução da conversão, aumento no custo de produção pela alimentação adicional, gastos com antimicrobianos para o tratamento e recuperação dos animais. Estudos na França e Reino Unido revelaram que dependendo da severidade e tipo de agente as infecções entéricas podem ser responsáveis por aproximadamente 30% das perdas na suinocultura moderna (BURCH, 2000).

A maioria dos casos de enterite infecciosa bacteriana ocorrem do nascimento até os animais atingirem 60 Kg de peso vivo, a partir daí o nível imunitário é suficiente para proteger os animais das infecções entéricas endêmicas da granja e os focos de diarreia só ocorrem quando se introduzem novos agentes infecciosos na granja ou animais novos em locais infectados (THOMSON, 2001).

Apesar de algumas infecções entéricas terem a tendência a afetar uma fase de produção ou faixa etária restrita a maioria das doenças ocorrem durante estágios consecutivos de produção (HANSEN, 2006; LANZA, 1998).

Cada vez mais as diarreias em suínos tendem a ser resultado de uma dinâmica multifatorial de interação entre agentes enteropatogênicos e a presença de fatores estressores. Os diagnósticos devem considerar de forma cada vez mais freqüente tanto a ação de agentes isolados como a associação de agentes ou os “complexos bacterianos enteropatogênicos” na patogênese das enterites em suínos (MENIN et al., 2006).

As principais bactérias associadas à patogênese das enterites nas diferentes fases de produção são cepas enterotoxigênicas de *Escherichia coli* (BERTSCHINGER, 1999), *Clostridium perfringens* Tipo A e Tipo C e *Clostridium difficile* (LANZA, 1998; SONGER, 1996; YAEGER et al., 2002), *Salmonella* sp. (SCHWARTZ, 1999), *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* (HAMPSON, 1999), *Lawsonia intracellularis* (McORIST, 1999), *Yersinia* sp. (TAYLOR, 1999) e *Campylobacter* sp. (LAWSON; McORIST, 1995).

O gênero *Clostridium* sp. é caracterizado por bastonetes, Gram-positivos, anaeróbios, formadores de esporos, encontrado no solo, água e microbiota entérica de vários mamíferos, aves e répteis (QUINN et al., 1994). São reconhecidamente importantes agentes infecciosos enteropatogênicos para os humanos e animais. Em suínos apesar de fazerem parte da microbiota entérica, duas espécies podem estar

associadas com a patogênese de diarréias neonatais, *C. perfringens* Tipo A e Tipo C e *C. difficile* (YAEGER et al., 2002).

O *C. difficile* causa um quadro de colite neonatal em leitões com 1-5 dias de idade. A infecção tem sido associada à supressão da microbiota entérica normalmente causada pelo uso de antimicrobianos (GLOCK et al., 2004). A patogênese é determinada principalmente por duas toxinas: toxina A (enterotoxina) e a toxina B (Citotoxina). No interior das células, as toxinas promovem a ruptura do citoesqueleto, levando à esfoliação dos enterócitos (PERFUMO et al., 2004; SONGER; UZAL, 2005). As lesões estão limitadas ao ceco e cólon (GLOCK et al., 2004; YAEGER et al., 2002). Clinicamente os animais apresentam dispnéia moderada, distensão abdominal, edema escrotal, depressão, inapetência, diarréia pastosa amarela e morte súbita. Na necropsia se observa ascite e um característico edema no mesocólon ascendente (MENIN et al., 2005; SONGER; UZAL, 2005). O diagnóstico é feito pela detecção da toxina no conteúdo intestinal ou cultivo e isolamento (PERFUMO et al., 2004).

O *Clostridium perfringens*, é classificados em cinco biótipos (A-E) que diferem pelo tipo de toxina que produzem (QUINN et al., 1994). Os tipos A e C causam infecção entérica em suínos (TAYLOR, 1999). O tipo C atinge o leitão do 1 ao 5 dia de idade causando enterite necrótica hemorrágica, que cursa com alta morbidade e mortalidade. Sua patogênese se deve a produção da toxina- α (lecitinase), toxina- β (necrótica letal) e toxina- β_2 (SONGER; UZAL, 2005; SONGER, 1996; YAEGER et al., 2002). O tipo A, mesmo pertencente à microbiota entérica, clinicamente causa um quadro de diarréia esbranquiçada ou creme, sem febre, com apatia e baixa taxa de crescimento. Atinge os leitões até 3 semanas de idade. A patogenia é devida principalmente à ação das toxinas α e β_2 . (HANSEN, 2006; YAEGER et al., 200). O diagnóstico do *C. perfringens* se dá a partir do isolamento e identificação das respectivas toxinas no conteúdo intestinal (HANSEN, 2006; TAYLOR, 1999; SONGER; UZAL, 2005; YAEGER et al., 2002).

Alguns representantes do gênero *Salmonella* sp. estão associados com a etiologia de uma enfermidade em suínos chamada de Salmonelose. A doença pode se manifestar sob as formas de septicemia aguda (Salmonelose septicêmica), entérica (Enterocolite) ou clínica inaparente (CHIU et al., 2004; SCHWARTZ, 1999; SOBESTYANSKY et al., 1999). Os representantes etiológicos envolvidos nos diferentes quadros são *S. enterica* sorovar Choleraesuis e *S. enterica* sorovar

Thyphimurium (SCHWARTZ, 1999). Além disso, a *Salmonella* sp. é um dos organismos mais frequentemente envolvidos em toxinfecções alimentares em humanos, representando um sério risco para saúde pública. Neste contexto, cada vez mais se relaciona a salmonelose nos suínos com a contaminação de seus subprodutos que servem de alimento para o homem (CHIU et al., 2004; MARCUS et al., 2000).

A patogenicidade da bactéria está associada às condições de adesão, invasão, citotoxicidade e a capacidade de sobrevivência intracelular. A *S. Choleraesuis* é o sorovar mais invasivo e mais adaptado a espécie suína. Para tanto dispõe de fatores de virulência como pili, flagelos, lipopolissacarídeo (LPS) e ilhas de patogenicidade (SPIs), regiões no cromossomo que agrupam genes de virulência (CHIU et al., 2004; GYLES et al., 1994; MARCUS et al., 2000).

A forma de enterocolite atinge animais entre 5 semanas e 4 meses de idade (SOBESTYANSKY et al., 1999). Clinicamente os animais apresentam hipertermia, apatia, diarreia de coloração amarela, esverdeada ou sanguinolenta com presença de tecido necrótico e odor desagradável (SCHWARTZ, 1999). Os animais tornam-se refugos e a mortalidade pode chegar a 40% (KU et al., 2005; SOBESTYANSKY et al., 1999). Na necropsia se observa áreas focais ou difusas de enterite necrótica no ceco e colon, mucosa com espessura aumentada, coloração esbranquiçada, amarelada ou avermelhada, conteúdo intestinal líquido com tecido necrosado com cheiro ruim e gânglios mesentéricos aumentados. No pulmão podem ocorrer focos de pneumonia purulenta ou caseosa e hemorragia disseminada (KU et al., 2005; SCHWARTZ, 1999). Microscopicamente apresenta necrose focal ou difusa das criptas que pode envolver desde a submucosa, muscularis até folículos linfóides (CHIU et al., 2004; SCHWARTZ, 1999; SOBESTYANSKY et al., 1999). O diagnóstico da enterocolite se baseia na avaliação clínica, exame anatomo-histopatológico e isolamento abundante de *Salmonella* sp. a partir do cultivo bacteriológico de amostras entéricas de animais com diarreia. (QUINN et al., 1994).

A *Lawsonia intracellularis* é um bacilo intracelular obrigatório implicado na Enteropatia Proliferativa dos suínos (EP) ou Ileíte (McORIST et al., 1995). A EP é uma doença infecciosa que afeta leitões desmamados de todas as idades e animais de reposição até 8 meses de idade. Clinicamente pode se apresentar sob a forma aguda ou crônica (McORIST, 1999; ROMERO et al., 2001; WILSON; HOHMANN, 1986). A forma aguda é evidenciada por uma síndrome hemorrágica (Enteropatia

proliferativa hemorrágica), caracterizada por hemorragia intestinal profusa e morte súbita. Acomete suínos entre 4 e 12 meses de idade e animais de reprodução. A forma crônica ou não hemorrágica (Adenomatose intestinal porcina ou lleíte) é caracterizada por diarreia intermitente, redução do ganho de peso e desuniformidade entre os animais. Afeta leitões em crescimento entre 2 e 4 meses de idade (GUEDES; GEBHART, 2001; McORIST, 1999; WILSON; HOHMANN, 1986).

Nas diferentes apresentações clínicas da doença a bactéria infecta células das criptas do epitélio intestinal em atividade mitótica, impedindo que haja a diferenciação em enterócitos, induzindo uma hiperplasia das células epiteliais das criptas do íleo e colon, sem desencadear uma resposta inflamatória significativa. Durante o período de infecção podem ser observadas numerosas bactérias intracitoplasmáticas (BOUTRUP et al., 2006; GYLES et al., 2004; McORIST, 1999).

O diagnóstico presuntivo pode ser feito a partir dos sinais clínicos e achados macroscópicos por ocasião da necropsia. A confirmação é feita por imunoperoxidase, ELISA, imunofluorescência, PCR e pelo exame microscópico com uso da coloração histológica de rotina hematoxilina e eosina. Para a detecção da bactéria em cortes histológicos deve-se usar a coloração pela prata (GUEDES; GEBHART, 2001; ŻMUDZKI et al., 2004).

O gênero *Brachyspira* sp. compreende um grupo de espiroquetas Gram-negativas, anaeróbicas que causam duas importantes formas de diarreia em suínos, a Disenteria suína (DS) causada pela *B. hyodysenteriae* e Colite espiroquetal (CE), cujo agente etiológico é a *B. pilosicoli* (FELLSTROM et al., 1995; HAMPSON; TROTT, 1999; HARRIS et al., 1999).

A Disenteria Suína (DS) é uma doença infecciosa caracterizada por uma severa diarreia muco - hemorrágica persistente, com lesões limitadas ao intestino grosso, afeta animais das fases de crescimento e terminação, causando graves perdas por mortalidade e redução da taxa de crescimento (AGNES et al., 1995; HAMPSON; TROTT, 1999).

A *B. hyodysenteriae* é uma espiroqueta fortemente β -hemolítica que tem seu potencial patogênico atribuído a fatores como quimiotaxia pela mucina, flagelos periplasmáticos, NADH-oxidase, lipooligosacarídeo (LOS) e uma β -hemolisina (citotoxina) codificadas pelos genes *tlyA*, *tlyB*, *tlyC* e *tly*, recentemente descrito, tem

função de regulação da taxa de produção de hemolisinas (AGNES et al., 1995; FELLSTROM et al., 1999; GYLES et al., 2004; NIBBELINK et al., 1997).

Clinicamente pode se manifestar na forma aguda, caracterizada por diarreia aquosa com coágulos de sangue e grande quantidade de muco e ração não digerida. Os animais apresentam apatia, hipertermia, perda de peso e alta mortalidade. Na forma crônica ocorre diarreia escura intermitente, perda de peso e desidratação (HAMPSON; TROTT, 1999; SOBESTIANSKY et al., 1999). Na avaliação macroscópica, a mucosa do cólon se apresenta hiperêmica, edematosa, hemorrágica, com depósitos de fibrina, muco, sangue e tecido necrosado (enterite muco - hemorrágica ou fibrino - hemorrágica) (HAMPSON; TROTT, 1999; HYATT et al., 1994). A análise histopatológica mostra congestão da mucosa e submucosa, hiperplasia das células da base das criptas, aumento dos leucócitos, hemorragia, necrose fibrinóide (HAMPSON; TROTT, 1999; NEEF et al., 1994).

A Colite espiroquetal (CE) é uma patologia do intestino grosso que cursa com colite e diarreia que acomete mais frequentemente animais entre 60 a 85 dias de idade (BARCELLOS, 2001).

A *B. pilosicoli* é uma espiroqueta fracamente hemolítica, que tem sua atividade patogênica atribuída à quimiotaxia pela mucina, NADH oxidase, flagelos periplasmáticos e uma protease que possibilita a invasão do espaço intercelular, diminuindo a coesividade das células e favorecendo a descamação dos enterócitos e a exposição da lâmina própria (DUHAMEL et al., 1998, FELLSTROM, 1995; GYLES et al., 2004; TROTT et al., 1996).

O quadro clínico tende a ser transitório e autolimitante em 7 a 10 dias, caracterizado por baixa mortalidade, animais com fezes pastosas a mucóide de coloração variando de acinzentada a esverdeada podendo ou não apresentar sangue. (HAMPSON; TROTT, 1999). As lesões são limitadas ao ceco e cólon. Macroscopicamente é caracterizado por erosões focais superficiais coalescentes com exsudato fibrinonecrótico e partículas de ração aderidas (BARCELLOS, 2001; HAMPSON; TROTT, 1999). No estudo histopatológico observa-se uma formação paralela de espiroquetas intimamente aderidas à membrana apical dos enterócitos do cólon (*false brush border*), o epitélio pode estar adelgado ou apresentando erosões multifocais na zona de extrusão celular entre as criptas (erosão catarral multifocal ou colite ulcerativa) (DUHAMEL et al., 1998).

O diagnóstico presuntivo tanto pode ser obtido a partir do exame microscópico de esfregaços de fezes corados, como pelo exame histopatológico de tecido fixado e coradas pela prata. Entretanto, o diagnóstico definitivo pode ser feito através do isolamento bacteriano, PCR, ELISA, imunofluorescência (BARCELLOS et al., 2003; CALDERARO et al., 2005; ŽMUDZKI et al., 2004).

A *Escherichia coli* é o agente etiológico da colibacilose, uma das causas mais freqüentes e importantes de diarreia em suínos nas diferentes faixas etárias em todo o mundo (HANSEN, 2006; ROMERO et al., 2001). Normalmente é causada por cepas enterotoxigênicas de *E. coli* (ETEC), embora cepas não enterotoxigênicas possam ocasionalmente estar envolvidas com a doença (FRANCIS, 2002a).

Como membro da família *Enterobacteriaceae* a *E. coli*, compreende cocobacilos Gram negativos, fermentadores de açúcares e não produtores de esporos. Geralmente é móvel, com flagelos peritríquios e freqüentemente fimbriada, faz parte da microbiota entérica de todos os mamíferos em 10^7 a 10^9 bactérias por grama de fezes (QUINN et al., 1994). É oxidase negativa, catalase positiva, anaeróbios facultativos, crescem bem em meios bacteriológicos simples, incluído agar MacConkey, onde forma colônias grandes e rosas (GYLES et al., 2004). Produz ácido e gás sulfídrico (H_2S) a partir da fermentação de carboidratos como glicose, sacarose e lactose. São indol positivas, não tem atividade urease e são incapazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono (QUINN et al., 1994).

A caracterização e tipificação antigênica segue baseada na expressão dos antígenos de superfície como antígeno: capsular (K) determinado por polissacarídeos capsulares, somático (O) porção polissacarídica do lipopolissacarídeo (LPS) da membrana, flagelar (H) constituído por proteínas flagelares (flagelinas) e fimbrial (F) proteínas fimbriais. O antígeno F é caracterizado em cepas de *E.coli* enterotoxigênicas (ETEC) exclusivamente de origem animal (GYLES et al., 2004; HOLAND, 1990).

O potencial patogênico e a participação de cepas de ETEC na patogênese das infecções entéricas em suínos está intimamente associada a sua capacidade de expressar fímbrias que possibilitam a colonização intestinal e uma ou mais enterotoxinas que induzem o quadro de diarreia secretória e/ou lesões vasculares sistêmicas (FRANCIS, 2002b; GYLES et al., 2004; MARTINS et al., 2000).

As fímbrias são apêndices filamentosos com 0,5 a 1,5 μm de comprimento distribuídas de forma peritríquia na superfície bacteriana, compostas por centenas

de subunidades polipeptídicas repetidas, responsáveis pela estrutura, especificidade antigênica e pela propriedade de adesão/fixação da bactéria na mucosa intestinal, através da ligação específica a receptores (glicoconjugados) presentes na superfície das células do epitélio intestinal (enterócitos) dos suínos (GYLES et al., 2004; NAGY; FEKETE, 2005). Podem ainda ligar-se de forma específica ou inespecificamente à camada de muco adjacente (BERTSCHINGER, 1999; GRANGE et al., 1998).

A *E. coli* é capaz de sintetizar vários tipos fimbriais que possibilitam a colonização do trato intestinal de diversas espécies animais (HOLLAND, 1990; NATARO; KAPER, 1998). Em suínos os principais tipos fímbricas associadas à ETEC mais frequentemente isoladas de suínos com diarreia incluem K88 (F4), K99 (F5), 987P (F6), F41, F42 e F18. Com base em reações sorológicas, as fímbricas K88 e F18 têm sido classificadas nas variantes K88ab, K88ac e K88ad, e F18ab e F18ac, respectivamente (FAIRBROTHER et al., 1986; FRANCIS, 2002a; RIPPINGER et al., 1995). A sua produção é controlada por genes localizados no cromossomo bacteriano (F41) ou em plasmídeos (K88, K99, 987P, F42 e F18) (BERTSCHINGER, 1999; FEKETE et al., 2002; NAGY; FEKETE, 2005). Entretanto, a expressão “*in vitro*” de determinados tipos fimbriais sofre a influência do meio de cultivo e das condições de cultivo como o pH, osmolaridade, tensão de oxigênio e temperatura de cultivo (HOLLAND, 1990).

A susceptibilidade dos suínos aos diferentes patótipos de ETEC é variada nas diferentes faixas etárias e linhagens. Essa configuração de suscetibilidade é um reflexo da presença e disponibilidade de receptores aos vários tipos de fímbricas na superfície do epitélio intestinal dos leitões (FRANCIS, 2002b). As cepas de *E. coli* F6/987P, F5/K99, F42 e F41 são isoladas, na maioria das vezes, de leitões até a segunda semana de vida. Isso ocorre porque a concentração de receptores para K99 parece diminuir rapidamente com a idade, enquanto os receptores para F6 (987P), F41 e F42, são provavelmente bloqueados por ligantes análogos presentes no conteúdo intestinal ou pelo glicocálice, que recobre a mucosa entérica (FRANCIS, 2002a; FRANCIS, 2002b; NAGY; FEKETE, 2005). Leitões são resistentes à infecção por *E. coli* F18 ao nascer, mas se tornam gradualmente suscetíveis após algumas semanas de vida (FRANCIS, 2002a). A suscetibilidade ou resistência genética à colibacilose causada pelos tipos fimbriais F4 (K88) e F18, é determinada por genes distintos, em cada um dos casos, um único locus é o

responsável pela presença ou ausência da expressão e disponibilidade dos respectivos receptores no intestino dos leitões (FRANCIS, 2002b). A característica autossômica que determina a expressão é dominante sobre a ausência (BERTSCHINGER, 1999). Por volta de 8 semanas de idade, os leitões também desenvolvem resistência a cepas F4/K88 e F18 devido aos receptores serem bloqueados por compostos presentes no conteúdo intestinal, pelo glicocálice, mudança de alimentação ou estabelecimento de defesas imunitárias direcionadas e naturais (FRANCIS, 2002a; HOLLAND, 1990; NATARO; KAPER, 1998; OSEK, 1999).

Considerando a característica hemaglutinante, as fímbrias de *E. coli* podem ser classificadas em três grupos: fímbrias não hemaglutinantes, como exemplo a fímbria F6 (987P); fímbrias tipo 1 (F1) ou manose-sensíveis (HAMS) que têm a sua aglutinação com eritrócitos inibida pela manose e fímbrias manose-resistente (HAMR) que não tem a hemaglutinação inibida pela manose (EVANS et al., 1979; GAASTRA; GRAAF, 1982; MORRIS, 1983; SNYDER; KOCH, 1966). As fímbrias HAMR compreendem um grupo heterogêneo de estruturas da superfície bacteriana que se liga a carboidratos, exceto a manose, presentes nos receptores dos eritrócitos de diferentes espécies animais (EVANS et al., 1979; QUADRI et al., 1994; WILSON; HOHMANN, 1974).

A produção de hemolisinas é considerada por alguns autores, como um marcador de clones virulentos e indicador de patogenicidade para amostras de *E. coli* (LUDWIG; GOEBEL, 1997; VAN DEN BOSCH et al., 1982). Isso ocorre porque que os genes que determinam a expressão das hemolisinas estão normalmente localizados junto a plasmídeos de virulência que contêm os genes para expressão de fímbrias (CAVALIERI, 1984; FEKETE et al., 2002; FRANCIS, 2002a). As ETEC isoladas de leitões recém-nascidos podem ser hemolíticas ou não hemolíticas, mas praticamente todas as cepas que colonizam leitões desmamados são hemolíticas (FRANCIS, 2002b; BERTSCHINGER, 1999; SOBESTIANSKY et al., 1999).

Para o diagnóstico da colibacilose em suínos deve-se considerar a avaliação dos sinais clínicos, lesões anatomopatológicas, isolamento do agente e caracterização do potencial patogênico. (HOLLAND, 1990). As ETEC produtoras de K99, 987P, F41 e F42 normalmente colonizam o íleo e a parte posterior do jejuno, enquanto as cepas K88 tendem a colonizar, além do íleo, toda a extensão do jejuno (BERTSCHINGER, 1999; FRANCIS, 2002a). Clinicamente os casos mais graves de

colibacilose têm uma evolução aguda e os animais apresentam diarreia tipicamente fluida e profusa, alta morbidade e freqüentemente resulta em morte por desidratação severa e acidose metabólica (SOBESTIANSKY et al., 1999). Os sintomas costumam ser menos severos em leitões desmamados (BERTSCHINGER, 1999).

Leitões infectados com ETEC normalmente não apresentam lesões além dos sinais de desidratação, embora possa apresentar eventualmente hiperemia e dilatação intestinal moderadas. Exames histológicos revelam bastonetes aderidos multifocal ou difusamente à superfície das vilosidades do epitélio intestinal. Em impressões da mucosa do íleo coradas pelo Gram podem ser vistos numerosos bastonetes Gram-negativos, com poucos outros organismos presentes, e culturas puras ou praticamente puras são obtidas quando feita a cultura bacteriológica deste segmento intestinal (BERTSCHINGER, 1999).

As principais perdas causadas pela colibacilose estão relacionadas a seqüelas da enfermidade que resulta em atraso no crescimento, gastos com tratamentos e alimentação adicionais, programas de controle e profilaxia e aumento de mortalidade (BERTSCHINGER, 1999; JACOBSON et al., 2003; PEARCE et al., 1999).

No diagnóstico das colibaciloses é desejável que o isolado seja caracterizado quanto ao seu potencial virulento. O valor dessa abordagem está no fato de que a maioria das cepas de ETEC importantes na colibacilose suína pertence a um conjunto restrito de cepas patogênicas e a maioria das cepas de *E. coli* presentes no trato gastrointestinal dos animais são comensais não patogênicos, e assim, podem mascarar o diagnóstico do agente etiológico efetivo (FRANCIS, 2002a; HOLLAND, 1990). A confirmação do potencial patogênico e biotipificar os fatores de virulência das cepas de *E. coli* isoladas pode ser feita pela análise fenotípica ou genotípica (FRANCIS, 2002a; GYLES et al., 2004). A análise fenotípica avalia a expressão do antígeno fimbrial e pode ser feita através dos testes de hidrofobicidade, adesão celular, microhemaglutinação, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) e sorologia, entretanto, estas técnicas requerem a cultura bacteriológica das bactérias a partir do conteúdo entérico. O inconveniente desta metodologia é a possibilidade da bactéria não expressar o fenótipo em condições *in vitro* ou vir a perder os determinantes genéticos (plasmídeos) de alguns fatores de virulência durante os procedimentos de cultivo (FRANCIS, 2002a; FRANCIS, 2002b; HOLLAND, 1990). Com o advento das ferramentas de análise molecular (genotipificação), tornaram-se

disponíveis métodos de amplificação de genes que codificam fímbrias e exotoxinas de ETEC (GYLES et al., 2004). A PCR múltipla (multiplex PCR) pode detectar, num único ensaio, vários determinantes de virulência (FRANCIS, 2002a; GUEDES, 2006a; GYLES et al., 2004; HOLLAND, 1990). Embora tenha uma maior demanda técnica, a amplificação gênica elimina o problema da baixa expressão *in vitro* de alguns fatores de virulência. Entretanto, o método não indica se o gene é funcional e se de fato o fator de virulência está sendo expresso, indica apenas que ele está presente (FRANCIS, 2002a; FRANCIS, 2002b).

As medidas utilizadas para controlar as diarreias nas diferentes faixas etárias são baseadas em boas práticas de manejo como cuidados com o leitão recém nascido, higiene dos animais (porca que vai para maternidade) e das instalações (limpezas periódicas, desinfecção e vazios sanitários), vacinação dos animais, qualidade do ambiente, manejo nutricional, utilização de promotores de crescimento, programas de monitoramento. Apesar disso, a estratégia mais adotada para prevenir, controlar e tratar as diversas enterites tem sido a terapia antimicrobiana (BURCH, 2000).

A utilização de antimicrobianos tem se tornado cada vez menos desejável, devido à falta de critérios para o uso e conseqüências como a emergência de resistência bacteriana, resíduos na cadeia alimentar e possibilidade de contaminação ambiental (ROMERO et al., 2001). Para utilização uma terapia antimicrobiana é essencial identificar a etiologia, conhecer o perfil de sensibilidade do agente bacteriano envolvido, avaliar as condições do ambiente, manejo e características do princípio ativo como espectro, absorção, eliminação, toxicidade e tempo de duração do tratamento (ANDRADE, 2002).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNES, A.; HUURNE, H. M.; GAASTRA, W. Swine dysentery: more unknown than known. **Veterinary Microbiology**, Suíça, v. 46, p. 347-360, oct. 1995.

ALEXANDER, T., Zoonoses. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 15, 1998, Birmingham, England. **Proceedings...** Birmingham, 1998. p. 167-174.

ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. 696 p.

BARCELLOS, D. E.; RAZIA, L. E.; BOROWSKI, S. M. Ocorrência e identificação de espiroquetas intestinais em suínos em granjas de porte industrial de duas regiões criatórias do estado do Rio Grande do Sul, em relação à medicação da ração. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 4, p. 725-729, jul./ago. 2003.

BARCELLOS, D. E. S. N. Colite espiroquetar em suínos: uma doença emergente In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10, 2001, Porto Alegre, Brasil. **Anais...** Porto Alegre, 2001. (Não paginado).

BERTSCHINGER, H. U. *Escherichia coli* Infections. In: STRAW, B.E., D'ALLAIRE S., MENGELING, W.L., TAYLOR, D.J., (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 431-457.

BOUTRUP, T.S. et al. Revision of the early pathogenesis in proliferative enteropathy In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 19, 2006. Copenhagen, Denmark. **Proceedings...** Copenhagen, 2006. p. 73

BURCH, D. G S. Controlling diarrhoea in growing pigs - the grey scour syndrome. **The Pig Journal**, Inglaterra. v. 45, p. 131-149, abr. 2000.

CALDERARO, A. et al. Rapid isolation of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Brachyspira pilosicoli* from pigs. **Veterinary Microbiology**, Suíça, v. 105, p. 229 – 234, feb. 2005.

CAVALIERI, S. J.; BOHACH, G.A.; SNYDER, I. S. *Escherichia coli* α -Hemolysin: Characteristics and Probable Role in Pathogenicity. **Microbiological Reviews**, EUA, v. 48, n. 4, p. 326-343, dec. 1984.

CHIU, C. H.; SU, L. H.; CHU, C. *Salmonella enterica* Serotype Choleraesuis: epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 2, p. 311–322, apr. 2004.

DUHAMEL, G. E. et al. Canine Intestinal Spirochetes Consist of *Serpulina pilosicoli* and a Newly Identified Group Provisionally Designated "*Serpulina canis*" sp. nov. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 8, p. 2264–2270, aug. 1998.

EVANS, J. R. D. J.; EVANS, D. G.; DuPONT, H. L. Hemagglutination patterns of enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* determined with human, bovine, chicken, and guinea pig erythrocytes in the presence and absence of mannose. **Infection and Immunity**, USA, v. 23, n. 2, p. 336-346. feb. 1979.

FAIRBROTHER, J. M.; LARIVIERE, S.; LALLIER, R. New fimbrial antigen f165 from *Escherichia coli* serogroup O115 strains isolated from piglets with diarrhea. **Infection and Immunity**, EUA, 51, n.1, p. 10-15, jan. 1986.

FELLSTROM, C. et al. Emended descriptions of indole negative and indole positive isolates of *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae*. **Veterinary Microbiology**, Suíça, v. 70, p. 225-238, dec. 1999.

FELLSTROM, C. Phenotypical characterisation of intestinal spirochaetes isolated from pigs. **Research in Veterinary Science**, Canada, v. 59, p. 1-4, jul.1995.

FEKETE, P.Z. et al. Replicon typing of enterotoxigenic and verotoxigenic *Escherichia coli* strains from porcine postweaning diarrhea and oedema disease. **Veterinary Microbiology**, Suíça, v. 85, n. 3, p. 275-284, mar. 2002.

FRANCIS, D. H. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in pigs and its diagnosis. **Journal Swine Health Production**. Dakota, v. 10, n. 4, p.171-175. 2002a

FRANCIS, D. H. Post-weaning *Escherichia coli* syndrome – laboratory perspectives. In: ANNUAL SWINE DISEASE CONFERENCE FOR SWINE PRACTITIONERS, 10, 2002, Iowa, EUA. **Proceedings**... Iowa, 2002b.

GAASTRA, W. & GRAAF, F. K. Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. **Infection and Immunity**, EUA, v.46, n.2, p. 129-161, jun. 1982.

GUEDES, R. Avanços na detecção de patógenos entéricos de leitões jovens. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3, 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006a. p. 157-161.

GUEDES, R. M. C.; GEBHART, C. J. Aspectos atuais sobre a detecção da infecção pela *Lawsonia intracellularis* em suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10, 2001, Porto Alegre, Brasil. **Anais...** Porto Alegre, 2001. (Não paginado).

GLOCK, R. D. et al. *Clostridium difficile*-associated disease in neonatal swine: new findings. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 18, 2004, Hamburg, Germany. **Proceedings...** Hamburg, 2004. p. 467.

GRANGE, P.A. et al. Characterization of the Carbohydrate Moiety of Intestinal Mucin-Type Sialoglycoprotein Receptors for the K88ac Fimbrial Adhesin of *Escherichia col*. **Infection and Immunity**, EUA, v. 66, n. 4, p. 1613-1621, apr. 1998.

GYLES, C. L. et al. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 3th ed. Iowa: Blackwel, 2004. 456 p.

HAMPSON, D. J.; TROTT, D. J. Spirochetal Diarrhea/Porcine Intestinal Spirochetosis. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 553-562.

HANSEN, D. Abordagem pratica da Síndrome Diarréica na Maternidade. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3, 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006. p.167-178.

HARRIS, D. L.; HAMPSON, D. J.; GLOCK, R. D. Swine Dysentery . In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 579-600.

HOLLAND, R. E. Some Infectious Causes of Diarrhea in Young Farm Animals. **Clinical Microbiology Reviews**, EUA, v. 3, n. 4, p. 345-375, Oct. 1990.

HYATT, D. R. et al. Reduced virulence of *Serpulina hyodysenteriae* hemolysin-negative mutants in pigs and their potential to protect pigs against challenge with a virulent strain. **Infection and Immunity**, USA, v. 62, n. 6, p. 2244-2248, jun. 1994.

JACOBSON, M. et al. Diarrhoea in the growing pig – a comparison of clinical, morphological and microbial findings between animals from good and poor performance herds. **Research in Veterinary Science**, Londres, v. 74, p.163–169, fev. 2003.

KU, Y. W. et al. Novel attenuated *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis strains as live vaccine candidates generated by signature-tagged mutagenesis. **Infection And Immunity**, EUA, v. 73, n. 12, p. 8194–8203, dec. 2005.

LANZA, I. Control of infectious diseases of swine. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 15, 1998, Birmingham, England. **Proceedings...** Birmingham, 1998. p. 79-85.

LAWSON, G. H. K.; McORIST, S. The enigma of the proliferative enteropathies: A review. **Journal of Comparative Pathology**. Londres, v.108, n.1, p. 41– 46, fev. 1993.

LIEBLER-TENORIO, E. M.; POHLENZ, J. F.; WHIPP, S. C. Diseases of the digestive system In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 821- 831.

LUDWIG, A.; GOEBEL, W. Haemolysins of *Escherichia coli*. In: SUSSMAN, M. **Escherichia coli Mechanisms of Virulence**. Cambridge: Cambridge University, 1997. p.281-329.

MARCUS, S. L. et al. **Salmonella** pathogenicity islands: big virulence in small packages. **Microbes and Infection**. v. 2, n. 2, p. 145-156, fev. 2000.

MARTINS, M. F. et al. Pathogenic characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from newborn piglets with diarrhea in Brazil. **Veterinary Microbiology**, Suíça, v.76, n.1, p. 51-59, set. 2000.

McORIST, S.; GEBHART, C. J. Porcine proliferative enteropathies. In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999. 1181 p. p. 521–534.

McORIST, S. et al. Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov., sp. nov., the obligately intracellular bacterium of Porcine Proliferative Enteropathy. **International Journal Of Systematic Bacteriology**, Berkshire, v. 45, n. 4, p. 820–825, Oct. 1995.

MENIN, A.; VAZ, E. K.; KLEIN, C. S. Etiologias bacterianas de diarreia em suínos nas fases de maternidade, creche e terminação no Estado de Santa Catarina. In: Congresso Latino - Americano de Suinocultura, 3, 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2006. p. 417- 419.

MENIN, A. et al. Infecção de suínos pelo *Clostridium difficile*. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 24, n. 143, jan./fev. 2005.

MORRIS, J. A. *Escherichia coli* fimbrial adhesins. **Pig News and Information**, Farnham Royal, v.4, n.1, p.19-21, 1983.

NAGY, B.; FEKETE, P. Z. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. **International Journal of Medical Microbiology**, Wurzburg, v.295, p.443–454, oct. 2005.

NATARO, J.P.; KAPER, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, EUA, v.11, n. 1, p. 142–201, jan. 1998.

NEEF, N. A. et al. Pathogenicity of Porcine Intestinal Spirochetes in Gnotobiotic Pigs. **Infection and Immunity**, EUA, v. 62, n. 6, p. 2395-2403, jun. 1994.

NIBBELINK, S. K.; SACCO, R. E.; WANNEMUEHLER, M. J. Pathogenicity of *Serpulina hyodysenteriae*: in vivo induction of tumor necrosis factor and interleukin-6 by a serpulinal butanol/water extract (endotoxin). **Microbial Pathogenesis**, USA, v. 23, n. 3, p. 181–187, set. 1997.

OSEK, J. Prevalence of virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic and healthy piglets after weaning. **Veterinary Microbiology**, Switzerland, v. 68, n. 3-4, p. 209-217, ago,1999.

PEARCE, G. P. Epidemiology of enteric diseases in grower-finisher pigs: a postal survey of pig producers in England. **The Veterinary Record**. Inglaterra. v.27, n.144, p. 338-342, mar. 1999.

PERFUMO, C. J. et al. Neonatal piglet mesocolon oedema and colitis: pathology and etiology. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 18, 2004, Hamburg, Germany. **Proceedings**... Hamburg, 2004. p. 467.

QUADRI, F. et al. Hemagglutination properties of enteroaggregative *Escherichia coli*. **Journal Clinical Microbiology**, EUA, v. 32, n. 2, p. 510-514, fev. 1994.

QUINN P.J.; CARTER M.E.; MARKEY B. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Wolfe, 1994. 684 p.

RIPPINGER, P. et al. Designations F18ab and F18ac for the related fimbrial types F107, 2134P and 8813 of *Escherichia coli* isolated from porcine postweaning diarrhea and from oedema disease. **Veterinary Microbiology, Suíça**, v. 45, p. 281-295, aug. 1995.

ROMERO, A.M. et al. Bacteriano y parasitário de las diarreas en transición en Francia. Anaporc. Revista de Porcinocultura. n. 180, p. 5-30, nov. 2001.

SNYDER, I. S.; KOCH, N. A.; Production and Characteristics of Hemolysins of *Escherichia coli*. **Journal Of Bacteriology**, USA, v. 91, n. 2, p. 763-767, feb. 1966.

SOBESTIANSKY, J. et al. **Clínica e Patologia suína**. 2. ed. Goiânia: Art 3, 1999. 464 p.

SONGER, J.G.; UZAL, F. A. Clostridial enteric infections in pigs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Iowa, v.17, n.6, p. 528–536. nov. 2005.

SONGER, J.G. Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals. **Clinical Microbiology Reviews**, EUA, v. 9, n. 2, p. 216–234, apr. 1996.

STRAW, B. E.; DEWEY, C. E.; WILSON, M. R. Differential Diagnosis of Swine Diseases In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 41-86.

SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999. 1181 p. p. 535–551.

TAYLOR, D. J. Clostridial Infections In: STRAW, B. E., D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 395-413.

THOMSON, J. Etiología y control de las principales infecciones entéricas porcinas. **Información Veterinária**. Espanha, v. 1, n. 224, p. 34 – 39, abr. 2001.

TROTT, D. J. et al. Phenotypic characteristics of *Serpulina pilosicoli* the agent of intestinal spirochaetosis. **FEMS Microbiology Letters**, Birmingham, v. 142, n. 2-3, p. 209-214, sep. 1996.

TZIKA, E. D. et al. Causes of the post weaning mortality in industrial Greek swine units. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 17, 2002, Ames, Iowa. **Proceedings...** Ames, 2002. p. 459.

VAN DEN BOSCH, J. F.; EMÖDY, L.; KÉTYI, I. Virulence of haemolytic strains of *Escherichia coli* in various animal models. **FEMS Microbiology Letters**, Birmingham, v.13, n.4, p. 427-430, apr. 1982.

VIDAL, A. B. et al. Detection of *salmonella* in spanish swine herds with diarrhoea In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 17, 2002, Ames, Iowa. **Proceedings...** Ames, 2002. p. 378.

ŽMUDZKI, J. et al. Rapid detection of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Lawsonia intracellularis* in swine faecal and mucosal specimens by multiplex PCR . **Bulletin of the Veterinary Institute Pulawy**, Polônia, v. 48, p. 207-214, oct. 2004.

YAEGER, M.; FUNK, N.; HOFFMAN, L. A survey of agents associated with neonatal diarrhea in Iowa swine, including *Clostridium difficile* and porcine reproductive and respiratory virus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Iowa, v.14, p. 281-287, jul. 2002.

WILSON, M. R.; HOHMANN, A. W. Immunity to *Escherichia coli* in pigs: Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to isolated intestinal epithelial cells. **Infection and Immunity**, USA. v. 10, n. 4. p. 776-782, Oct. 1974.

CAPITULO 2: ETIOLOGIAS BACTERIANAS DE DIARRÉIAS EM SUÍNOS EM DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE CEPAS DE *Escherichia coli* E *Salmonella* sp.

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, 2007.

Etiologias bacterianas de diarreias em suínos em diferentes faixas etárias e perfil de resistência de cepas de *Escherichia Coli* e *Salmonella* sp.

Álvaro Menin ^{1*}, Daiane C. de Souza², Catia S. Klein³, Eliana K. Vaz ⁴

ABSTRACT – Menin A., Souza D.S., Klein C.S., VAZ E.K. 2007. [**Bacterial etiologies of diarrheas in swine in different age groups and profile of resistance of strains of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp.**] The bacterial infectious enteritis provoke severe losses for swine industry all over the world. The objective of this work was to accomplish epidemic rising of the bacterial agents that you/they are associated with the diarrhea occurrence in swine in the phases newborn piglets, postweaning, growing and finish in the State of Santa Catarina - Brazil and to verify the profile of resistance of the strains of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. front to the main antimicrobials used at farms of swine. The isolated bacterial species were *Escherichia coli*, *Clostridium* sp, *Salmonella* sp, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* and *Lawsonia intracellularis*. The *E. coli* it was the pathogenic bacteria more frequently diagnosed as primary agent or in an associated way, of the diarrhea between second and 81st days of life of the pigs. The serotypes of *E. coli* potentially pathogenic, more prevalents in the phase of newborn piglets, were F5 (K99) 29%, F41 10%, F42 11% and F6 (987P) 23%, already in the postweaning phases and it growing, stumps prevailed with fimbrias F4 (K88) 27%. The *E. coli* the largest resistance indexes were found for oxytetracycline (94%), tetracycline (89,5%) and norfloxacin (83,3%) and smaller resistance taxes for neomycin (55%), ceftiofur (57,4%) and gentamicin (62,7%). The samples of *Salmonella* sp, isolated of clinical cases of diarrhea, they presented high sensibility to the gentamicin (3,5%) amoxicillin (4,8%) and neomycin (6,2%) and larger resistance the oxytetracycline (77%), tetracyclin (42,1%) and norfloxacin (39,3%).

INDEX TERMS : Swine, digestive system, resistance the antimicrobials, diarrhea.

¹ Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV/UEDESC. Av Luis de Camões, 2090, CEP: 88520-000, Lages, SC, , Brasil. * Autor para correspondência: alvaromenin@yahoo.com.br.

² Bolsista CNPq – CAV/UEDESC, Lages, SC, Brasil.

³ EMBRAPA – Suínos e Aves, Concórdia, SC, Brasil.

⁴ Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV/UEDESC, Lages, SC, Brasil.

RESUMO

As enterites infecciosas bacterianas provocam severas perdas para a indústria suína em todo o mundo. O objetivo deste trabalho foi realizar levantamento epidemiológico dos agentes bacterianos que estão associados com a ocorrência de diarreia em suínos nas fases de maternidade, creche, recria e terminação no Estado de Santa Catarina - Brasil e verificar o perfil de resistência das cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* sp, frente aos principais antimicrobianos utilizados em granjas de suínos. Os principais gêneros / espécies bacterianos diagnosticados foram *Escherichia coli*, *Clostridium* sp., *Salmonella* sp, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* e *Lawsonia intracellularis*. A *E. coli* foi o enteropatógeno mais frequentemente isolado como agente primário ou de forma associada, dos quadros clínicos de diarreia entre o segundo e 81º dias de vida dos leitões. Os sorotipos de *E. coli* potencialmente patogênicos, mais prevalentes na fase de maternidade, foram F5 (K99) 29%, F41 10%, F42 11% e F6 (987P) 23%, já nas fases de creche e recria, predominaram cepas com fimbrias F4 (K88) 27%. Para a *E. coli* os maiores índices de resistência foram encontrados para oxitetraciclina (94%), tetraciclina (89,5%) e norfloxacina (83,3 %) e menores taxas de resistência para neomicina (55%), ceftiofur (57,4%) e gentamicina (62,7%). Quanto às amostras de *Salmonella* sp., isoladas de casos clínicos de diarreia, apresentaram alta sensibilidade à gentamicina (3,5%) amoxicilina (4,8%) e neomicina (6,2%) e maior resistência a oxitetraciclina (77%), tetraciclina (42,1%) e norfloxacina (39,3%).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Suínos, sistema digestório, resistência a antimicrobianos, diarreia.

INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas entéricas em suínos têm importância crescente e são frequentemente observadas em diferentes faixas etárias provocando um grande impacto para indústria de suínos em todo o mundo (Schultz 2006, Jacobson et al. 2005). Estas infecções são responsáveis por aproximadamente 30% das perdas econômicas na suinocultura moderna (Tzika et al. 2002, Burch 2000), além disso, algumas etiologias podem ser potencialmente patogênicas para os humanos representando um risco para saúde pública (Alexander 1998).

As infecções entéricas podem levar a altas taxas de mortalidade e morbidade, entretanto, as maiores perdas estão relacionadas à seqüelas no trato gastrintestinal (Hansen 2006, Mcorist & Gebhart 1999). Estas lesões podem ser permanentes ou transitórias, resultando em expressivo atraso no crescimento, redução da performance de conversão, tratamentos e alimentação adicionais, respondendo por 60% dos gastos com antimicrobianos na suinocultura moderna (Pearce 1999, Jacobson et al. 2005).

Geralmente, os estudos epidemiológicos das doenças entéricas estão focados em um patógeno específico e restrito a uma faixa etária, pois facilita o estudo individualizado da etiologia. No entanto, este procedimento dificulta as estratégias de controle direcionadas ao sistema produtivo como um todo, já que, algumas etiologias ocorrem em estágios consecutivos de produção (Hansen 2006, Lanza 1998).

As principais bactérias associadas à patogênese das enterites são cepas patogênicas de *Escherichia coli* (Bertschinger 1999), *Clostridium perfringens* Tipo A e Tipo C e *Clostridium difficile* (Songer & Uzal 2005, Yager et al. 2002, Lanza 1998), *Salmonella* sp. (Schwartz 1999), *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* (Hampson & Trott 1999), *Lawsonia intracellularis* (Mcorist & Gebhart 1999), *Yersinia* spp (Taylor 1999) e *Campylobacter* spp. (Lawson & Mcorist 1993).

A variação na prevalência dos enteropatógenos nos rebanhos suínos se deve a aspectos gerais de manejo, manuseio de lotes, dinâmica de infecciosidade dos agentes, pressão de infecção, capacitação gastrintestinal, estatus imunitário do rebanho, condições de manejo, nutrição, programas de vacinação, uso de antimicrobianos e fatores estressores do ambiente.

A patogenicidade da *E. coli* está relacionada à sua capacidade de colonizar o epitélio intestinal. A colonização é mediada por fatores denominados fímbrias, estruturas protéicas, consideradas antígenos de superfície e de grande atividade antigênica, sendo um importante fator para diagnóstico e identificação de cepas patogênicas (Nataro & Kaper 1998). As fímbrias mais frequentemente produzidas por cepas enterotoxigênicas de *E. coli* (ETEC) que infecta suínos até o desmame são K99 (F5), 987P (F6), F41 e após o desmame as adesinas K88 (F4) e F18 (Gyles et al. 2004).

Uma das estratégias mais adotadas para ajudar a prevenir e controlar as diversas infecções, dentre elas as enterites, tem sido a terapia antimicrobiana (Costa

et al. 2006, Barcellos 2002). Entretanto, os antimicrobianos devem ser utilizados com cautela, pois a falta de critérios para a escolha de um tratamento adequado e seguro, associa-se a presença de resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal, seleção de bactérias resistentes e sérios riscos à saúde pública (Baccaro et al. 2002).

No Brasil são escassos os dados de levantamento epidemiológico do(s) agente (s) bacteriano (s) envolvido (s) nos diferentes quadros clínicos de diarreia em animais de produção. As avaliações epidemiológicas e ecopatológicas são essenciais para identificar e solucionar problemas sanitários devido à dinâmica de inter-relação multifatorial dos enteropatógenos, devendo ser considerados uma ferramenta indispensável para a implantação e implementação dos programas de biossegurança nas modernas unidades de produção de suínos (Hansen, 2006).

O objetivo deste trabalho foi realizar o levantamento epidemiológico dos enteropatógenos bacterianos causadores de diarreia em suínos nas fases de maternidade, creche, recria e terminação no Estado de Santa Catarina e verificar o perfil de resistência das cepas de *E. coli* e *Salmonella* sp. frente aos principais antimicrobianos utilizados em suinocultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção e amostragem do rebanho

Neste estudo foram utilizados 1.107 animais, das fases de maternidade, creche crescimento/terminação com sinais clínicos de diarreia. Foram amostradas 183 granjas localizadas em 12 microrregiões geográficas do estado de Santa Catarina. A obtenção do material para análise laboratorial foi feita a partir da necropsia dos animais a campo, e no caso de animais de terminação, a coleta foi feita na linha de abate durante a etapa de evisceração.

Coleta de amostras e processamento laboratorial

As amostras foram obtidas de segmentos intestinais, contemplando intestino delgado, grosso, linfonodos inguinais e mesentérios. O material coletado foi separado em duas alíquotas, sendo uma para processamento histopatológico, fixada em solução de formol a 10% e a outra acondicionada sob refrigeração para exame bacteriológico. Por ocasião da necropsia foi feito registro do material, descrevendo

histórico, identificando o animal, sua procedência, sinais clínicos, suspeita clínica e lesões macroscópicas.

Procedimentos laboratoriais para diagnóstico de bactérias enteropatogênicas

Os diagnósticos de *Lawsonia intracellularis* foram realizados por análise molecular, através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase - (PCR), de amostras de conteúdo intestinal de leitões com sinais clínicos de diarreia (JONES, 1993).

Para as demais bactérias de interesse, foi realizado o processamento bacteriológico, baseado na semeadura do material em meios de cultura enriquecidos e seletivos, incubados em estufa bacteriológica sob condições de aerobiose e microaerofilia, por período e temperatura variável, de acordo com a suspeita clínica. Após a incubação, foi feita a avaliação das características morfológicas das colônias e posterior caracterização fenotípica da bactéria através de testes bioquímicos (Quinn et al. 1994).

Teste de microhemaglutinação

A presença de fímbrias foi pesquisada através da técnica de microhemaglutinação, com suspensões a 1% de hemácias de cobaio, galinha, ovino e eqüino em presença de D-manose 1% (Jones & Rutter 1974).

Teste de Soroaglutinação rápida em placa para diagnóstico de cepas de *E. coli* com fenótipo fimbrial F6 (987P)

Para realização do teste as cepas de *E. coli* foram cultivadas em meio minca a 37°C durante 24h. Na placa foram homogeneizados adicionados 30µL de anti-soro monoespecífico hiperimune para Fimbria F6 (987P) e igual quantidade de uma suspensão bacteriana padronizada para 7,0 na escala MacFarland. A leitura foi procedida após 1 minuto (Jones & Rutter 1974).

Teste de resistência a antimicrobianos

As cepas potencialmente patogênicas de *E. coli* e os isolados de *Salmonella* sp. foram submetidas ao teste de sensibilidade *in vitro* a antimicrobianos (antibiograma) usando o método de disco - difusão (NCCLS 2003), que tem como princípio o uso de disco para difusão do princípio antimicrobiano no ágar, que irá

atuar ou não no crescimento bacteriano local, interpretado a partir da presença e/ou tamanho do halo de inibição do crescimento bacteriano induzido (Quinn et al. 1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 1.107 amostras intestinais examinadas 391, 330, 386 das fases de maternidade, creche e recria/terminação, respectivamente, foram diagnosticados diferentes agentes bacterianos (**Tabela 1**). Dentre os animais examinados 91,1% (1008/1.107) foram positivos para um ou mais agentes e 8,9 % (99/1.107) foram negativos, não sendo detectado qualquer agente bacteriano relacionado a infecções entéricas.

Tabela 1 - Agentes enteropatogênicos bacterianos diagnosticados / frequência (%) em suínos de diferentes faixas etárias, SC, 2006.

AGENTE DIAGNOSTICADO	NÚMERO DE DIAGNÓSTICOS E FREQUÊNCIA (%)		
	0 – 25 DIAS	26 – 70 DIAS	71 – 160 DIAS
<i>Escherichia coli</i>	297 (76)	177 (53,6)	104 (26,9)
<i>Salmonella</i> sp.	---	24 (7,3)	42 (10,9)
<i>Clostridium</i> sp.	17 (4,3)	5 (1,5)	11 (2,8)
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	---	11 (3,3)	23 (6)
<i>Brachyspira pilosicoli</i>	---	29 (8,8)	34 (8,8)
<i>Lawsonia intracelularis</i>	---	2 (0,6)	29 (7,5)
<i>Enterobacter</i> sp.	26 (6,6)	20 (6,1)	16 (4,1)
<i>Pseudomonas</i> sp.	10 (2,6)	13 (3,9)	---
<i>B. pilosicoli</i> + <i>L. intracelularis</i> + <i>E. coli</i>	---	---	26 (6,7)
<i>B. pilosicoli</i> + <i>E. coli</i>	---	23 (7)	43 (11,1)
<i>Clostridium</i> sp. + <i>E. coli</i>	6 (1,5)	3 (0,9)	---
DI ^a	35 (9)	23 (7)	41 (10,6)
TOTAL	391 (100)	330 (100)	386 (100)

^a DI - Diagnóstico Inconclusivo.

De acordo com os dados do estudo, o enteropatógeno *Escherichia coli* destacou-se como o agente bacteriano mais frequentemente diagnosticado dos quadros clínicos de diarreia nas fases de maternidade, creche e início da fase de crescimento. Dados semelhantes foram obtidos em estudos desenvolvidos na França e Estados Unidos (Romero et al. 2001, Yaeger et al. 2002). No entanto, mesmo em cultura pura, o isolamento bacteriológico não indica a participação da mesma na patogênese do quadro clínico de diarreia, visto que, sua patogenicidade está relacionada à sua capacidade de expressar fatores de colonização intestinal como fímbrias.

A partir da análise fenotípica das cepas isoladas de *E. coli* associadas a quadros de enterites, foram diagnosticados os tipos fimbriais F5 (K99), F6 (987P), F4 (K88), F41 e F42. Estes dados corroboram com os descritos por outros autores que associam a expressão destes fatores de colonização com a ocorrência de infecções entéricas (Post et al. 2000, Costa et al., 2006, Mcorist & Gebhart 1999).

Os sorotipos fimbriais mais prevalentes, na fase de maternidade, foram F5 (K99) 29%, F41 10%, F42 11% e F6 (987P) 23% e a partir do desmame houve uma maior ocorrência de cepas F4 (K88) 27%. Dados semelhantes foram observados em outros estudos da prevalência de fatores de patogênese desta bactéria (Post et al. 2000, Guedes 2006, Francis 2002).

Levando em consideração a faixa etária e o tipo de enteropatógeno bacteriano relacionado, houve a prevalência absoluta do agente *E.coli*, atuando como agente primário nos quadros de diarreia entre o segundo e 81º dias de vida, podendo estar associada a enterites até os 93 dias de idade. Os dados descrevem um intervalo além do relatado por outros autores que julgam a faixa etária de maior suscetibilidade, até os 60 dias de idade (Schultz 2006, Mcorist & Gebhart 1999).

Possivelmente, este aumento no período de suscetibilidade a *E. coli* se deve a interação com outros fatores imunodepressores, sejam estes não-infecciosos (superlotação, manejos inadequados) ou infecciosos. Neste cenário, vem ganhando projeção no atual modelo de criação de suínos, o circovírus suíno Tipo 2 (PCV2). A SMDS (Síndrome multissistêmica do definhamento suíno) que pode ser observada em suínos entre 8 a 12 semanas de idade, desenvolve em sua patogênese um quadro de imunodeficiência que predispõe às infecções entéricas secundárias por *E. coli*, *Salmonella* e *L. intracellularis* (Cochran 2006, Zanella 2005, Mores & Amaral 2001).

Os resultados obtidos indicam que os agentes *Brachyspira pilosicoli*, *Brachyspira hyodysenteriae* e *Lawsonia intracelullaris* podem ocorrer de forma isolada ou associada e são as principais causas de infecção entérica em suínos nas fases de crescimento/terminação. Estes dados estão de acordo com os demonstrados por outros estudos de levantamento realizados no Brasil e Europa, que referenciam estes enteropatógenos como causa mais comum de enterites entre 65 e 150 dias de idade (Baccaro et al. 2003, Romero 2001, Harris et al. 1999, Mcorist & Gebhart,1999, Hampson & Trott 1999, Sobestiansky et al. 1999).

Neste estudo, em 17,8% (69/386) dos casos de diarreia diagnosticados na fase crescimento/terminação, observou-se a infecção concomitante com duas ou mais bactérias. Dados semelhantes são descritos por outros autores que estudaram 85 granjas de suínos e observaram a associação de dois ou mais agentes em 39% dos casos de diarreia na fase de crescimento/terminação (Thomson et al. 1998). Levando em conta a patogênese das diarreias, a infecção mista, deve ser considerado um complexo enteropatogênico, exigindo cada vez mais ações de controle, tratamento e profilaxia inter-relacionadas.

Neste panorama, se destacaram diferentes associações entre os agentes *B. pilosicoli*, *L. intracellularis* e cepas de *E. coli* potencialmente patogênicas. Dados semelhantes foram demonstrados por estudos conduzidos na Suécia, estudando infecções entéricas em animais na fase de crescimento e terminação (Jacobson et al. 2003, Jacobson et al. 2005). Infecções entéricas mistas envolvendo associação de *B. pilosicoli*, *L. intracellularis* ou *B. hyodysenteriae* também foram demonstradas em 18,9% das 38 granjas amostradas no Rio Grande do Sul (Barcellos et al. 2003).

Dos 386 animais amostrados da fase de recria/terminação, foi possível isolar *Salmonella* sp. e diagnosticar enterocolite/salmonelose em 10,9%. Dados semelhantes foram descritos em trabalhos de levantamento realizados na Europa e EUA, que constataram a associação do agente *Salmonella* sp. com 9,2% e 5,3% respectivamente, dos casos de diarreia na fase de recria e terminação (Romero et al. 2001, Hurd et al. 2002). Entretanto, estudos realizados em outras regiões do Brasil e na França demonstram resultados de prevalência da bactéria, bem superiores, chegando a 55,7% e 43,5%, respectivamente em se tratando de animais portadores, amostrados por ocasião do abate (Bessa et al. 2004, García et al. 2004). Esta grande variação, possivelmente, ocorre devido aos direcionamentos metodológicos de amostragem empregados nos diferentes estudos, pois no atual trabalho considerou-se apenas animais com manifestação clínica de diarreia e não somente o estado de portador no momento do abate. Já, na fase de creche observou-se uma prevalência do agente de 7,3%, concordando com outros autores que também descrevem o isolamento de *Salmonella* sp. a partir de fezes (Kich 2006).

Apesar do diagnóstico deste estudo ter levado em consideração os resultados de exames bacteriológicos, clínico-patológicos e histórico de granja, não foi realizado sorotipificação das cepas isoladas, no entanto, em suínos o sorovar

Choleraesuis é o mais frequentemente associado à doença clínica nos animais (Firkins 2006, Schwartz 1999). Levantamentos feitos em abatedouros no Rio Grande do Sul, envolvendo animais portadores, os sorovares mais prevalentes foram Thiphymurium (24,3%), Agona (19,9%) (Bessa et al. 2004) e Panama (29,9%), Bredeney (24,1%) e Typhimurium (20,7%) (Castagna et al. 2004), em nenhum dos dois estudos foi encontrado o sorovar Choleraesuis, associado a doença nos suínos.

Quanto ao isolamento do *Clostridium* sp nas diferentes fases de produção, foi observado maior incidência do agente nos primeiros dias de vida dos leitões (4,3%). Neste estudo, não foram consideradas as espécies de clostrídios, entretanto, as espécies mais patogênicas para os suínos são *Clostridium perfringens* tipo A e C e o *Clostridium difficile* (Songer & Uzal 2005, Schultz 2006). Estudos de levantamento realizados em granjas de suínos dos EUA e Suécia descrevem uma prevalência do *C. perfringens* tipo A, tipo C e *C. difficile* de 7,4%, 7,6% e 20%, respectivamente como causa de diarreias nos primeiros dias de vida dos leitões, contudo, esta etiologia vem adquirindo importância crescente nas fases de maior idade dos animais (Jacobson et al. 2003, Songer & Uzal 2005).

Os resultados de diagnóstico microbiológico dos gêneros bacterianos *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus* sp. e *Aeromonas* sp., deve ser interpretados com cautela, pois possivelmente, estas bactérias são constituintes da microbiota entérica normal dos suínos e nos casos em que são isolados de animais com diarreia a etiologia deve ser revista e melhor elucidada, levando em conta a possibilidade de multifatorialidade etiológica das diarreias. Além disso, não foram encontrados dados, na literatura consultada, relacionados à associação destes agentes com a patogênese de diarreias em suínos. Portanto, qualquer afirmação de envolvimento de algumas destas bactérias na causa de infecções entéricas, precisa ser melhor esclarecida (Jacobson et al. 2003).

O sucesso do tratamento das infecções entéricas depende de uma minuciosa avaliação das condições do ambiente, manejo, identificação do(s) agente(s) etiológico(s), fatores estressores, características do princípio ativo antimicrobiano, como via de administração, espectro, absorção, eliminação, isento de toxicidade, e tempo de duração do tratamento. Neste cenário, como em qualquer outro que se justifique a utilização de substâncias antimicrobianas, é essencial o conhecimento do perfil de sensibilidade do agente etiológico que se quer trabalhar, para utilização

mais efetiva e criteriosa dos antimicrobianos e aumentar as chances de sucesso do programa de tratamento e/ou controle.

As cepas potencialmente patogênicas de *E. coli* e isolados de *Salmonella* sp., submetidas ao teste de antibiograma, apresentaram alta taxa de resistência a todos os princípios ativos antimicrobianos testados (**Tabela 2**).

Tabela 2 - Sensibilidade *in vitro* a antimicrobianos de amostras de *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. isoladas de material entérico oriundo de suínos com diarreia, utilizando o método de disco difusão, SC, 2006.

PRINCIPIO ATIVO TESTADO	ETIOLOGIA BACTERIANA	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.
	Freqüência de sensibilidade (%)	Freqüência de sensibilidade (%)
Lincomicina	76,1	27,7
Amoxicilina	81	4,8
Doxicilina	77,6	23
Norfloxacina	83,3	39,3
Oxitetraciclina	94	77
Ceftiofur	57,4	22,1
Enrofloxacina	68,2	6,9
Gentamicina	62,7	3,5
Tetraciclina	89,5	42,1
Neomicina	55	6,2
Colistina	69,3	11,6

Para as amostras de *E. coli* isoladas de leitões com diarreia, a menor freqüência de resistência, apesar do uso intenso na suinocultura, foi encontrado para neomicina (45%), ceftiofur (42,6%) e gentamicina (37,3%) e maiores taxas de resistência para oxitetraciclina (94%), tetraciclina (89,5%) e norfloxacina (83,3 %), quando comparados com os demais princípios antimicrobianos testados. Resultados semelhantes de sensibilidade foram descritos por outros autores estudando amostras de *E. coli* isoladas de leitões com diarreia na região sul do Brasil (COSTA et al., 2006).

Quanto às amostras de *Salmonella* sp., isoladas de casos clínicos de diarreia, as mesmas apresentaram alta sensibilidade à gentamicina (96,5%) amoxicilina (95,2%) e neomicina (93,8%) e maior resistência a oxitetraciclina (77%), tetraciclina

(42,1%) e norfloxacina (39,3%). Resultados de sensibilidade semelhantes foram descritos para os antimicrobianos amoxicilina (97%), gentamicina (98%), neomicina (96%) e tetraciclina (37%), em estudo avaliando a resistência a antimicrobianos de diferentes sorovares de *Salmonella* sp. isoladas de suínos portadores, por ocasião do abate (CASTAGNA et al., 2001).

CONCLUSÃO

Nas diferentes fases de produção de suínos estudadas os principais gêneros e/ou espécies de bactérias associados à patogênese das infecções entéricas foram *Escherichia coli*, *Clostridium* sp, *Salmonella* sp, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* e *Lawsonia intracellularis*.

Dentre as etiologias descritas, a *Escherichia coli* adquire projeção nas diferentes faixas etárias, seja de forma isolada ou associada a outras bactérias.

As amostras de *E. coli* testadas apresentaram maiores índices de sensibilidade ao ceftiofur e a gentamicina, já, as amostras de *Salmonella* sp. apresentaram alta sensibilidade à gentamicina e amoxicilina.

As infecções entéricas, cada vez mais estão voltadas a uma dinâmica de interação multifatorial onde os “complexos bacterianos enteropatogênicos” exercem um papel fundamental.

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, T. Zoonoses. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 15., 1998, Birmingham, England. **Proceedings...** Birmingham, 1998. p. 167-174.

BACCARO, M. R.; MORENO, A. M.; SHINYA, L. T.; DOTTO, D. S. Identification of bacterial agents of enteric diseases by Multiplex PCR in growing-finish pigs. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, n. 34, p.225-229, Jul./Sep. 2003.

- BACCARO, M. R.; MORENO, A. M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A. J. P.; CALDERARO, F. F. Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia. Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, v.69, n.2, p.15-18, abr./jun. 2002.
- BARCELLOS, D. E.; RAZIA, L. E.; BOROWSKI, S. M. Ocorrência e identificação de espiroquetas intestinais em suínos em granjas de porte industrial de duas regiões criatórias do estado do Rio Grande do Sul, em relação à medicação da ração. Ciência Rural, Santa Maria, v.33, n.4, p.725-729, jul./ago. 2003.
- BARCELLOS, D. E. Avaliação de medidas de controle para as principais formas de diarreia dos suínos. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 2., 2002, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2002. p. 130-142.
- BERTSCHINGER, H. U. *Escherichia coli* Infections. In: STRAW, B.E., D'ALLAIRE S., MENGELING, W.L., TAYLOR, D.J., (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 431-457.
- BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de Salmonella sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v.24, n.2, p.80-84, abr./jun. 2004.
- BURCH, D. G. S. Controlling diarrhoea in growing pigs - the grey scour syndrome. The Pig Journal, Inglaterra, v. 45, p. 131-149, abr. 2000.
- CASTAGNA S. M. F.; SCHWARZ P.; CANAL C. W.; CARDOSO M. R. I. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. Acta Scientiae Veterinariae, Porto Alegre, v. 32, p. 141-147, jun. 2004.

CASTAGNA, S. M. F.; BESSA, M. C.; CARVALHO, D. A.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Resistência a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* sp. isoladas de suínos abatidos no estado do Rio Grande do Sul. Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, v.29. p. 44-49, mar. 2001.

COCHRAN, R. S. Estudio y manejo de co-infecciones virales y bacterianas em granjas porcinas. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3., 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006. p. 151-156.

COSTA, M. M.; SILVA, M. S.; SPRICIGO, D. A.; WITT, N. M.; MARCHIORO, S. B.; KOLLING, L. Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v.26, n.1, p. 5-8, jan./mar. 2006.

FIRKINS, L. D. The impact of enteric and respiratory diseases on the production profitability. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3., 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006. p. 163-166.

FRANCIS, D. H. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in pigs and its diagnosis. Journal Swine Health Production, Dakota, v.10, n.4, p.171-175. jul./aug. 2002

GARCÍA, K.; COLLAZOS, J. A.; VIDAL, A. B.; CARVAJAL, A.; RUBIO, P. Prevalence of *salmonella* infection in spanish swine farms. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 18., 2004, Hamburg, Germany. **Proceedings...** Hamburg. 2004. p. 672.

GUEDES, R. Avanços na detecção de patógenos entéricos de leitões jovens. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3., 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006. p. 157-161.

GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J. G.; THOEN, C. O. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 3th ed. Iowa: Blackwel, 2004. 456 p.

HAMPSON, D. J. & TROTT, D. J. Spirochetal Diarrhea/Porcine Intestinal Spirochetosis In: STRAW, B.E., D'ALLAIRE S., MENGELING, W.L., TAYLOR, D.J. (Eds) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999. 1181 p. p. 553-562.

HANSEN, D. Abordagem pratica da Síndrome Diarréica na Maternidade. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3., 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006. p.167-178.

HARRIS, D. L.; HAMPSON, D. J.; GLOCK, R. D. Swine Dysentery. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Eds) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press; 1999, p.579-600

HURD, S.; MCKEAN, J.; GRIFFITH, R.; ROSTAGNO, M. Measuring salmonella prevalence in finish swine; evaluation of three methods. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 17., 2002, Ames, Iowa. **Proceedings...** Ames. 2002. p. 143.

JACOBSON, M.; GERTH LÖFSTEDT, M.; HOLMGREN, N.; LUNDEHEIM, N.; FELLSTRÖM, C. The Prevalences of *Brachyspira* spp. and *Lawsonia intracellularis* in Swedish Piglet Producing Herds and Wild Boar Population. *Journal of Veterinary Medicine*, Blackwell Verlag, Berlin, v. 52, p. 386-391. nov. 2005.

JACOBSON, M.; ARD, A. F.; SEGERSTAD, C. H.; GUNNARSSON, A.; FELLSTROM, C.; VERDIER-KLINGENBERG, K.; WALLGREN, P.; JENSEN-WAERN, M. Diarrhoea in the growing pig – a comparison of clinical, morphological and microbial findings between animals from good and poor performance herds. *Research in Veterinary Science*, Londres, v. 74, p.163–169, fev. 2003.

JONES, G.F., DAVIES, P.R., ROSE, R., WARD, G.E., MURTAUGH, M.P. Comparison of techniques for diagnosis of proliferative enteritis of swine. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 54, p. 1980–1985, 1993.

LAWSON, G. H. K.; McORIST, S. The enigma of the proliferative enteropathies: A review. **Journal of Comparative Pathology**, Londres, v.108, n.1, p. 41– 46, 1993.

JONES, G. W. & RUTTER, J. M. The association of K88 antigen with haemagglutinating activity in porcine strains of *Escherichia coli*. *Journal of General Microbiology*, Edinburgh, n. 84, p.135-144. 1974.

KICH, J. D. A contaminação por *Salmonella* sp na produção de suínos da granja ao abate. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3., 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006. p. 183-188.

LANZA, I. Control of infectious diseases of swine. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 15., 1998, Birmingham, England. **Proceedings...** Birmingham, 1998. p. 79-85.

LAWSON, G. H. K. & McORIST, S. The enigma of the proliferative enteropathies: A review. *Journal of Comparative Pathology*, Londres, v.108, n.1, p. 41– 46, fev. 1993.

McORIST, S. & GEBHART, C. J. Porcine proliferative enteropathies. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999. 1181 p. p. 521–534.

MORES, N. & AMARAL, A. L. Patologias associadas ao desmame. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10., 2001, Porto Alegre, Brasil. **Anais...** Porto Alegre, 2001. (Não paginado).

NATARO, J. P. & KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, EUA, v.11, n. 1, p. 142–201, jan. 1998.

NCCLS - THE NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 8th ed. v. 23, n. 1, EUA, 2003. 62 p.

PEARCE, G. P. Epidemiology of enteric diseases in grower-finisher pigs: a postal survey of pig producers in England. *The Veterinary Record*, Inglaterra. v.27, n.144, p. 338-342, mar. 1999.

POST, K.W.; BOSWORTH, B.T.; KNOTH, J.L. Frequency of virulence factors in *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhea and edema disease in North Carolina. *Swine Health Production*, EUA, v.8, n.3, p. 119-120, mar. 2000.

QUINN P.J.; CARTER M.E.; MARKEY B. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Wolfe, 1994. 684 p.

ROMERO. A.M.; BERNARD, F.; PRONOST, S. ; FORTIER, G. ; LOISNARD, D. ; BISSON, C. ; MONTIER, S. Bacteriano y parasitario de las diarreas en transición en Francia. *Anaporc. Revista de Porcinocultura*. n. 180, p. 5-30, nov. 2001.

SCHULTZ, R. A. Diarrheas of the pig. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3., 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006. p. 179-182.

SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Eds.) *Diseases of Swine*. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999. 1181 p. p. 535–551.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. ; MORES, N. ; CARVALHO, L. F.; OLIVEIRA, S. **Clínica e Patologia suína**. 2. ed. Goiânia: Art 3, 1999. 464 p.

SONGER, J.G. & UZAL, F. A. Clostridial enteric infections in pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Iowa, v.17, n.6, p. 528–536. nov. 2005

TAYLOR, D. J. Clostridial Infections In: STRAW, B. E., D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 395-413.

THOMSON, J. R; SMITH, W. J.; MURRAY, B. P. Investigations into field cases of porcine colitis with particular reference to infection with *Serpulina pilosicoli*. *Veterinary Record*, Inglaterra, v. 142, n. 10, p. 235-239, mar.1998.

TZIKA, E. D.; KYRIAKIS, S. C.; SARRIS, K.; SAOULIDIS, K.; ALEXOPOULOS, C. ; BATZIOS, C. Causes of the post weaning mortality in industrial Greek swine units. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 17., 2002, Ames, Iowa. **Proceedings...** Ames. 2002, p. 459.

YAEGER, M.; FUNK, N.; HOFFMAN, L. A survey of agents associated with neonatal diarrhea in Iowa swine, including *Clostridium difficile* and porcine reproductive and respiratory virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Iowa, v.14, p. 281-287, jul. 2002.

ZANELLA, J. R. C. Circovirose suína – reflexos e ações. In: SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA E II SIMPÓSIO GOIANO DE SUINOCULTURA, 7., 2005. Goiânia. **Palestras...** Goiânia, 2005.

**CAPÍTULO 3: CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E DE SENSIBIL
CEPAS PATOGENICAS DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE
LEITÕES COM DIARRÉIA NAS FASES DE MATERNIDADE,
CRECHE, RECRIA E TERMINAÇÃO**

ARQUIVOS DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 2007.

Caracterização fenotípica e de sensibilidade de cepas patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarreia nas fases de maternidade, creche, recria e terminação

Álvaro Menin¹, Daiane C. de Souza², Thomas Bierhals², Catia S. Klein³ Eliana K. Vaz⁴

¹ Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV/UDESC. Av Luis de Camões, 2090, CEP: 88520-000, Lages, SC, Brasil, alvaromenin@yahoo.com.br.

RESUMO

A *Escherichia coli* é uma das causas mais freqüentes e importantes de diarreia em suínos em todo o mundo. O objetivo deste estudo foi caracterizar fenotipicamente os tipos fimbriais de cepas de *E. coli* isoladas de suínos com diarreia, em diferentes faixas etárias, através do teste microhemaglutinação e soroglutinação e determinar o perfil de sensibilidade frente aos principais antimicrobianos utilizados em granjas de suínos. Das 159 amostras que não aglutinaram eritrócitos no teste de hemaglutinação manose-resistente (HAMR), 57 (35%) foram positivas para a expressão do antígeno fimbrial F6, no teste de soroglutinação rápida em placa, correspondendo a 23% do total dos fenótipos potencialmente patogênicos caracterizados. Considerando a faixa etária e o fenótipo fimbrial, os sorotipos de *E. coli* potencialmente patogênicos, mais prevalentes até a terceira semana de idade, foram F5 (K99) 29%, F41 10%, F42 11% e F6 (987P) 23%, já em leitões com mais de 21 dias, predominaram cepas com fimbrias F4 (K88) 27%. Os animais foram suscetíveis às cepas F4, durante todas as faixas etárias, mas com mais freqüência em idades mais avançadas, acima de 76 dias. Os maiores índices de resistência foram observados para oxitetraciclina (84%), gentamicina (76,0%), amoxicilina (72,0%) e menor índice de resistência para ceftiofur (37%) e enrofloxacin (39%). Os menores valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) 50 e 90, 0,25 e 1,0 µg/mL, respectivamente, foram observados para o ceftiofur.

PALAVRAS-CHAVE: Suínos, fimbrias, CIM, Resistência a antimicrobianos.

ABSTRACT

PHENOTYPIC CHARACTERIZATION AND OF SENSIBILITY OF STRAINS PATHOGENICS OF *Escherichia coli* ISOLATED OF PIGS WITH DIARRHEA IN THE PHASES OF NEWBORN PIGLETS, POSTWEANING, GROWING AND FINISH. The *Escherichia coli* is all over the world the one of causes most frequent and important of diarrhea in swine. The objective of this study was to characterize phenotypic the types fimbrials of strains of *E. coli* isolated of swine with diarrhea, in

² Bolsista CNPq - CAV/UDESC, Lages, SC, Brasil.

³ EMBRAPA – CNPSA, Concórdia, SC, Brasil.

⁴ Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV/UDESC, Lages, SC, Brasil.

different age groups, through the test microhemagglutination and seroagglutination and to determine the profile of sensibility front to the main antimicrobials used in the pig farms. Of the 159 samples that not agglutinate eritrocyte in the test of manose-resistant hemagglutination (HAMR), 57 (35%) they were positive for the expression of the antigen fimbriae F6, in the test of fast seroagglutination in plate, corresponding to 23% of the total of the phenotypes potentially pathogenic characterized. Considering the age group and the phenotype fimbriae, the serotypes of *E. coli* potentially pathogenic, more prevalence until the third week of age, were F5 (K99) 29%, F41 10%, F42 11% and F6 (987P) 23%, already in pigs with more than 21 days age, stumps prevailed with fimbriae F4 (K88) 27%. The animals were susceptible the stumps F4, during all of the age groups, but with more frequency in more advanced ages, above 76 days. The largest resistance indexes were observed for oxytetracycline (84%), gentamicin (76%), amoxicilin (72%) and smaller resistance index for ceftiofur (37%) and enrofloxacin (39%). The smallest values of CIM 50 and 90, 0,25 and 1,0 µg/mL, respectively, they were observed for the ceftiofur.

KEY WORDS: Swine, fimbriae, CIM, Resistance the antimicrobials.

INTRODUÇÃO

A colibacilose é uma das doenças mais importantes para a indústria de carne suína em todo o mundo, sendo a maior e mais freqüente causa de perdas econômicas e de produção, por morbidade e mortalidade em diferentes faixas etárias (HANSEN, 2006; ROMERO *et al.*, 2001).

O potencial patogênico e a participação da *Escherichia coli* na patogênese das infecções entéricas em suínos, está intimamente associada a sua capacidade de expressar fatores de adesão (fimbrias) e a produção de enterotoxinas (FRANCIS, 2002b ; GYLES *et al.*, 2004; MARTINS *et al.*, 2000). Os antígenos fimbriais (fimbrias) possibilitam a adesão/fixação da bactéria na mucosa intestinal, através da ligação específica a receptores, situados nas células (enterócitos) do epitélio intestinal dos suínos e as enterotoxinas causam, diarreia secretória e/ou lesões vasculares sistêmicas (BERTSCHINGER, 1999; NATARO; KAPER, 1998).

As fimbrias são apêndices filamentosos com 2-7 nanômetros de comprimento presentes na superfície celular (HOLLAND, 1990). Cada fimbria é composta por centenas de subunidades polipeptídicas repetidas, que confere estrutura, especificidade antigênica e a propriedade de ligação/adesão específicas a determinados sítios presentes nas células intestinais (GYLES *et al.*, 2004).

A *E. coli* é capaz de sintetizar vários tipos fimbriais que possibilitam a colonização do trato intestinal de diversas espécies animais. Em suínos os tipos fimbriais mais frequentemente relacionadas com distúrbios entéricos são, F4 (K88_{ab, ac, ad}), F5 (K99), F6 (987P), F41, F42, e F18_{ab, ac} (FAIRBROTHER *et al.*, 1986; FRANCIS, 2002a). Entretanto, a expressão *in vitro* de determinados tipos fimbriais sofre a influência do meio de cultivo e das condições de cultivo como o pH, osmolaridade, tensão de oxigênio e temperatura de cultivo (HOLLAND, 1990).

Considerando a característica hemaglutinante, as fímbrias de *E. coli* podem ser classificadas em três grupos: fímbrias não hemaglutinantes, como exemplo a fímbria F6 (987P); fímbrias tipo 1 (F1) ou manose-sensíveis (HAMS) que têm a sua aglutinação com eritrócitos inibida pela manose e fímbrias manose-resistente (HAMR) que não tem a hemaglutinação inibida pela manose (EVANS *et al.*, 1979; GAASTRA; GRAAF 1982; MORRIS, 1983; SNYDER; KOCH, 1966). As fímbrias HAMR compreendem um grupo heterogêneo de estruturas da superfície bacteriana que se liga a carboidratos, exceto a manose, presentes nos receptores dos eritrócitos de diferentes espécies animais (EVANS *et al.*, 1979; GAASTRA; GRAAF, 1982; MORRIS, 1983; QUADRI *et al.*, 1994; WILSON; HOHMANN, 1974).

Além dos caracteres de adesão, cepas de *E. coli* podem produzir outros fatores de virulência importantes na patogenia das enfermidades como a hemolisina. Esta característica é com freqüência considerada por alguns autores como um marcador de clones virulentos e indicador de patogenicidade para amostras de *E. coli* (LUDWIG; GOEBEL, 1997; VAN DEN BOSCH *et al.*, 1982).

O diagnóstico significativo e efetivo das colibaciloses em suínos deve-se considerar as características clínicas e anatomopatológicas, isolamento microbiológico e principalmente a caracterização fenotípica e/ou genotípica do potencial patogênico, pois a maioria das cepas de *E. coli* presentes no trato gastrointestinal são comensais não patogênicos e assim, podem confundir o diagnóstico do agente etiológico efetivo (BERTSCHINGER, 1999; HOLLAND, 1990).

Atualmente, diversos são os recursos utilizados para diagnosticar e biotipificar os fatores de patogênese de *E. coli*. Para avaliar a expressão fenotípica (fenotipificação) dos tipos fimbriais os testes mais frequentemente utilizados são hidrofobicidade, adesão celular, microhemaglutinação, ensaio imunoenzimático (ELISA), imunofluorescência indireta (IFA) e sorologia. Para genotipificação tem sido utilizado o teste da reação em cadeia da polimerase (PCR) (FRANCIS, 2002b;

[GUEDES, 2006a](#)). A intensificação da suinocultura modificou a relação de equilíbrio entre “parasita – hospedeiro – ambiente” criando condições para que agentes que se mantinham em equilíbrio no ambiente, viessem a exercer um efeito patogênico. A estratégia mais adotada para ajudar a restabelecer o equilíbrio perdido, prevenir, controlar e tratar as diversas infecções, dentre elas às enterites, tem sido a terapia antimicrobiana ([BURCH, 2000](#)).

Os objetivos deste estudo foram caracterizar fenotipicamente os tipos fimbriais de cepas de *E. coli* isoladas de suínos com diarreia através de microhemaglutinação, sorologia e determinar o perfil frente aos principais antimicrobianos utilizados em suinocultura.

MATERIAL E MÉTODOS

1.1. Seleção e amostragem do rebanho: neste estudo foram utilizados 349 animais, das fases de maternidade, creche crescimento/terminação com sinais clínicos de diarreia. Foram amostradas 176 granjas localizadas em 11 microrregiões geográficas do estado de Santa Catarina. A obtenção do material para análise laboratorial foi feita a partir da necropsia dos animais a campo, e no caso de animais de terminação, a coleta foi realizada na linha de abate durante a etapa de evisceração. Foram coletadas amostras de segmentos intestinais, contemplando intestino delgado e grosso.

1.2. Processamento microbiológico: o isolamento das cepas de *E. coli* foi realizado semeando o material entérico em placas de ágar sangue ovino 5% (AS) e ágar Mac Conkey (MC), incubadas durante 24 horas a 37°C em atmosfera de aerobiose. As colônias características foram submetidas à coloração de Gram e identificadas fenotipicamente através de testes bioquímicos ([QUINN et al., 1994](#)). Uma colônia isolada das culturas positivas foi repicada para AS e utilizada na caracterização fenotípica.

Caracterização fenotípica: as fímbrias foram pesquisadas através da técnica de microhemaglutinação (HA), com suspensões a 1% de hemácias de cobaio, galinha, ovino e eqüino em presença de D-manose 1%. As suspensões de hemácias foram obtidas de sangue fresco, após coleta em solução anticoagulante de Alsever e

lavagens sucessivas com solução salina tamponada (PBS - Phosphate buffer solution), pH 7,4. As culturas bacterianas foram crescidas em meio meio Minca a 37 °C durante 24 horas. O teste foi realizado em micro placa de base em “U”. Foram realizadas diluições seriadas em PBS a partir de 1:2 até 1:128, em volumes de 50µl, da suspensão bacteriana padronizada a uma leitura no espectrofotômetro de 2 D.O a 675 nm e 50µL da suspensão de eritrócitos a 1%. A leitura e interpretação foi feita após 12 horas de incubação a 4°C (AWAD-MASALMEH *et al.*, 1982; JONES; RUTTER, 1974.).

1.3. Teste de resistência a antimicrobianos. As cepas potencialmente patogênicas de *E. coli* foram submetidas ao teste da concentração inibitória mínima (CIM). As amostras de *E. coli* foram inoculadas em caldo Muller Hinton (Difco) e incubadas a 37°C por 3 horas. Após este período, a cultura foi diluída em solução salina até atingir um nível de turbidez equivalente a 0,5 da escala de McFarland ou uma concentração de aproximadamente 10⁶ UFC/mL de caldo. Em cada poço da microplaca de fundo em U foram depositadas alíquotas de 50 µL da cultura. Um volume igual, do antimicrobiano, foi adicionado no primeiro poço de cada linha e a partir deste, diluído no fator 1:2 até a concentração mínima desejada. As microplacas foram incubadas a 37°C por 18 horas. Após a incubação procedeu-se a classificação das amostras em sensível, intermediário e resistente (NCCLS, 2003). A padronização da prova foi realizada com a amostra *E. coli* ATCC 25922.

1.4. Produção dos soros e determinação dos antígenos fimbriais: anti-fímbrias 987P e K99 foram a produção de soros e análise sorológica das amostras de *E. coli* foi realizada na EMBRAPA – Suínos e Aves, Concórdia, SC. Os soros hiperimunes monoespecíficos produzidos a partir de cepas de *E. coli* que expressavam as respectivas fímbrias na superfície bacteriana. As cepas foram cultivadas em meio Minca a 37°C durante 24h e as células foram ressuspensas em tampão fosfato (PBS) com 0,4% de formalina, incubadas por 6 horas a 37°C e por uma noite a 4°C e padronizadas para um inóculo de 2x10⁹ células/mL. Coelho albinos, machos adultos, foram inoculados no dia zero com 0,5mL do inóculo (suspensão bacteriana inativado com formol, via subcutânea (SC), previamente padronizado e, posteriormente, em intervalos de quatro dias, procedia-se a inoculação dos volumes de 0,5 mL (suspensão bacteriana inativada com formol via subcutânea (SC)); 0,5 mL

(suspensão bacteriana inativada com formol intravenosa (IV)) e posteriormente 1,0; 2,0; 3,0 e 3,0 mL (suspensão bacteriana viva, IV). No sétimo dia após a última inoculação, os animais foram eutanasiados, o sangue coletado, o soro separado e aliquotados, adicionados de 25% de glicerol e conservados a -20°C. Posteriormente, o soro foi adsorvido com a respectiva cepa bacteriana, cultivada a 18° C durante 4 dias em meio Triple sugar iron (TSA), para remover os anticorpos anti-antígenos K e O.

A determinação dos antígenos fimbriais foi realizada por soroaglutinação rápida em lâmina (SARP). Para realizar o teste as cepas de *E. coli* foram cultivadas em meio Minca a 37°C durante 24h. Numa placa foram adicionados 30µL de anti-soro monoespecífico e igual quantidade de uma suspensão bacteriana padronizada para 7,0 da escala MacFarland. A leitura foi procedida após um minuto [de homogeneização \(JONES, 1974\)](#).

1.5. Detecção de atividade hemolítica: a atividade hemolítica foi avaliada utilizando ágar sangue contendo 5% de sangue de ovino desfibrinado, seguida de incubação por 24 horas a 37°C 24h para avaliação visual do halo de hemólise [\(LUDWIG, 1997\)](#).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de microhemaglutinação em presença de manose (HAMR) estão apresentados na **(Tabela 1)**.

Das 349 cepas de *E. coli* estudadas, [159 \(45,7%\)](#) não apresentaram atividade hemaglutinante no teste HA resistente à manose, aos eritrócitos utilizados. Os dados encontrados são semelhantes aos resultados descritos por outros autores que, estudando fatores de patogênese avaliando fenótipo fimbrial de cepas de *E.coli* isoladas de leitões com diarreia, observaram que 38% e 62% das cepas de *E. coli*, respectivamente, não apresentaram hemaglutinação em presença de manose [\(BRITO et al., 2003; KLEIN et al., 2003\)](#).

Os dados deste trabalho demonstraram que de [159](#) amostras não hemaglutinantes, [57 \(36%\)](#), foram positivas para o fenótipo fimbrial F6 no teste de soroaglutinação rápida em placa (SARP). Estas observações refletem que os

resultados negativos no teste de HA devem ser interpretados com cautela, pois esse perfil, no teste de HA, pode indicar a presença de diferentes biótipos fimbriais, ou seja, além do antígeno fimbrial F6, pode sugerir fenótipos F1 (Fimbrias Tipo 1), negativo para todas as fimbrias, ou ainda, a possibilidade de novos fatores de adesão, ainda sem padronização hemaglutinante. Neste contexto faz-se necessário a utilização de um teste diferencial como aglutinação em látex, sorologia monoespecífica ou teste de ELISA para caracterização fenotípica e diferencial das amostras F6.

Além disso, é importante considerar a participação cada vez mais freqüente e significativa dos biótipos F6 e F1 na patogênese das diarreias em leitões até os 21 dias de idade e a relação entre a expressão dos diferentes fatores de virulência (HOLLAND, 1990; JONES; RUTTER, 1974; MARTINS *et al.*, 2000).

Avaliando fatores de virulência de cepas de *E. coli*, outros estudos demonstraram que há uma íntima e importante relação entre o potencial de expressão de adesinas fimbriais e a capacidade de expressão de enterotoxinas, assim como, produção de toxinas sem apresentar o antígeno fimbrial que, neste caso, é explicado pela perda do plasmídeo que codifica o fator de adesão durante os procedimentos laboratoriais (MARTINS *et al.*, 2000; OSEK, 1999; POST *et al.*, 2000).

Os demais 54,3% das 349 cepas de *E. coli*, tiveram um perfil determinado de hemaglutinação para os eritrócitos das diferentes espécies no teste de HA em presença de D-manose. Estes dados são semelhantes aos resultados descritos por outros autores que observaram uma freqüência de atividade HAMR às hemácias de ovino, cobaia, eqüino e galinha de 62,1% , estudando fenótipos virulentos de *E. coli* isoladas de leitões com diarreia de diferentes faixas etárias (BRITO *et al.*, 2003).

Considerando a faixa etária e o fenótipo fimbrial encontrado neste estudo (**Tabela 1**), foi observado que os sorotipos fimbriais mais prevalentes na faixa etária até 21 dias foram F41 10%, F42 11%, F6 (987P) 23% e F5 (K99) 29% e em idades a partir dos 22 dias, houve uma maior ocorrência de cepas portadoras do tipo fimbrial F4 (K88) 27%. Dados semelhantes foram demonstrados em outros trabalhos realizados no EUA, estudando a prevalência de fatores de patogênese desta bactéria (FRANCIS, 2002a; POST *et al.*, 2000,).

Esta disposição dos fenótipos fimbriais, observada neste estudo, caracterizam efetivamente uma predisposição dos leitões em determinadas faixas etárias a tipos

fimbriais específicos. Esta observação é confirmada por outros autores que estudando a incidência e virulência de amostras de *E. coli*, descrevem padrões de susceptibilidade aos diferentes grupos antigênicos de *E. coli* patogênicas associadas a idade, determinada pela variabilidade na condição de expressão e disponibilidade de receptores na membrana plasmática dos enterócitos dos suínos (AWAD-MASALMEH *et al.*, 1982; FRANCIS, 2002a).

Em relação às cepas que expressaram o antígeno F4 (K88), observou-se que estas ocorrem em leitões de todas as faixas etárias estudadas, com maior frequência a partir dos 26 dias de idade chegando a estar associado a quadros de colibacilose em animais com mais de 76 dias.

Os dados de ocorrência em diversas fases corroboram com afirmações de outros autores que citam que o antígeno F4 (K88) pode acometer animais de 0-8 semanas de idade, mas com maior frequência a partir da terceira semana, esbarrando num quadro de resistência por parte do animal a partir dos 60 dias. A suscetibilidade ou resistência a este fenótipo está associada a uma característica autossômica que determina a expressão de componentes que atuam como receptores fimbriais no intestino dos leitões. Já o estado de resistência se dá devido aos receptores serem bloqueados por compostos presentes no conteúdo intestinal, pelo glicocálice, mudança de alimentação ou estabelecimento de defesas imunitárias direcionadas e naturais (FRANCIS, 2002a; HOLLAND, 1990; NATARO; KAPER, 1998; OSEK, 1999).

Entretanto, a associação de cepas de *E. coli* K88 com quadros de diarreia em animais com mais de 80 dias, possivelmente se deve a interação das cepas de *E. coli* potencialmente patogênicas, com outros fatores infecciosos (vírus, bactérias, fungos) ou não infecciosos (superlotação, manejos inadequados, micotoxinas) que levam a um quadro de imunodepressão. O circovírus suíno (PCV2) vem ganhando projeção no atual modelo de exploração de suínos, devido ao quadro de comprometimento imunológico que causa nos animais. As observações feitas neste estudo corroboram com as descrições feitas por outros autores, que estudando as co-infecções virais e bacterianas em suínos, descrevem que a Síndrome Multissistêmica do Definhamento dos Suínos (SMDS), doença causada pelo circovírus (PCV2), é mais observada em suínos entre 8 e 12 semanas de idade e desenvolve em sua patogênese um quadro de imunodeficiência, predispondo à

ocorrência de infecções entéricas mistas, onde vem se destacando cada vez mais freqüente a *E. coli* (COCHRAN, 2006).

As cepas de *E. coli* F5, F6, F41 e F42 ocorreram com grande freqüência em animais até a terceira semana de vida. Dados semelhantes foram descritos por outros autores que estudando a freqüência de fatores de virulência e cepas de *E. coli* isoladas de animais com diarréia, encontraram uma disposição etária similar para os referidos biotipos fimbriais (FAIRBROTHER *et al.*, 1986; GUEDES *et al.*, 2006b). Além disso, outros autores descrevem que as cepas de *E. coli* F5, F6 e F41 são idade-restritas, pois só acometem leitões até a segunda semana de vida. Esta configuração ocorre porque a concentração dos receptores para F5 diminui rapidamente com o crescimento dos animais, e os receptores para F6, F41 e F42 são bloqueados por ligantes análogos presentes no conteúdo intestinal ou pelo glicocálice, que recobre a mucosa entérica (FRANCIS, 2002a).

Quanto à expressão de hemolisinas, das 349 amostras de *E. coli* estudadas 104 (29,7%) eram positivas para produção de hemólise na semeadura em meio de cultura agar com 5% de sangue ovino. Destas, 19 (8,6 %) foram isoladas de leitões com até 21 dias de idade e 85 (65,4%) eram amostras de leitões com idade acima de 21 dias. Dados semelhantes foram descritos por outros autores, que avaliando este fenótipo em amostras de *E. coli* isoladas de leitões com diarréia, descreveram uma freqüência de 26,4% de positividade para a produção de hemolisinas, sendo entre 5 e 8% em amostras provenientes de leitões lactentes e 52% em amostras de leitões desmamados (BRITO *et al.*, 2003; MARTINS *et al.*, 2000).

Estes dados revelam que esta característica fenotípica, não deve ser utilizada como critério para selecionar cepas patogênicas de *E. coli*, que causam diarréia em leitões lactentes, pois estas podem ser ou não hemolíticas, porém, pode ser usado com certa segurança para selecionar biotipos patogênicos isolados de animais acima de 21 dias de idade ou desmamados. Estes dados concordam com as informações descritas por outros autores que associam a produção de hemolisinas com maior freqüência aos patotipos fimbrias F4 e F18, freqüentes após a terceira semana de vida, e não aos os biotipos F5, F6, F41 e F42 que ocorrem mais na fase lactente do leitão (BRITO *et al.*, 2003; FRANCIS, 2002b; MARTINS *et al.*, 2000).

Considerando que as 349 amostras de *E. coli* estudadas, obtidas pelo isolamento a partir de animais com diarréia, destas, apenas 247 (70,7%) das amostras tiveram seu fenótipo patogênico comprovado através dos teste de HA e

sorologia. Isso representa que se o diagnóstico fosse baseado apenas no isolamento, teria uma margem de 102 (29,3%) dos diagnósticos, que provavelmente seriam errôneos, pois estas amostras não expressaram potencial patogênico. Entretanto, deve-se considerar possíveis limitações dos estudos fenotípicos e genotípicos. Pois alguns autores descrevem em estudos comparativos nos testes fenotípicos que a bactéria pode não expressar o fenótipo em condições *in vitro* ou vir a perder a característica genética (plasmídeo) durante os procedimentos de cultivo. Quanto ao estudo genotípico, deve se considerar o risco de enumerar e mensurar a presença gene/genes que necessariamente não são funcionais e que o fator de virulência não está sendo expresso (AWAD-MASALMEH *et al.*, 1982; FRANCIS, 2002a). Desta forma, para o diagnóstico efetivo das diarreias, outras possibilidades etiológicas sejam estas infecciosas (vírus, protozoários e bactérias) ou não infecciosas (intoxicações, ambiente, manejo) devem ser sempre pesquisadas.

As amostras de *E. coli* analisadas revelaram elevado índice de resistência aos diferentes antimicrobianos testados (**Tabela 2**).

Os índices de resistência observados, ceftiofur (37%), enrofloxacina (39%), norfloxacina (63 %), neomicina (66%), noxicilina (67%), colistina (69%), amoxicilina (72%), e gentamicina (76%), oxitetraciclina (84%) diferiram dos dados obtidos por outros autores que, estudando a resistência antimicrobiana de amostras de *e. coli* isoladas de leitões com diarreia em granjas de suínos na Croácia, verificaram valores de resistência menores para colistina (5%), neomicina (24%), norfloxacina (24%), enrofloxacina (24%), gentamicina (38%) e amoxicilina (52%) e valores de resistência bem superiores para doxicilina (90%) e oxitetraciclina (100 %) (HABRUM *et al.*, 2004).

As diferenças observadas entre os resultados dos diferentes trabalhos, podem ser atribuídas aos diferentes regimes de tratamentos, freqüência, objetivos, dosagens, tempo de uso, critérios de seleção e utilização dos agentes antimicrobianos mais usados nos programas sanitários e de manejo nas diferentes regiões, pois deve-se considerar que estes fatores atuam diretamente na pressão de seleção de populações bacterianas resistentes.

Em relação aos valores de concentração inibitória mínima (CIM) 50 e 90, foram encontrados valores acima dos relatados por outros autores, que estudando a resistência antimicrobiana de amostras de *E. coli* isoladas de leitões com diarreia, verificaram valores superiores para CIM 50 e 90 para a maioria das drogas, exceto

para Ceftiofur onde os valores foram de 1,0 e 2,0 µg/mL, respectivamente (BACARRO *et al.*, 2002), enquanto neste trabalho foram observados valores de 0,25 e 1,0 µg/mL para CIM 50 e 90.

CONCLUSÃO

Os fenótipos fimbriais caracterizados nas diferentes faixas etárias foram F4, F5, F6, F41 e F42.

As amostras de *E. coli* testadas apresentaram maior sensibilidade à ceftiofur e enrofloxacin.

A tipificação diagnóstica das amostras se faz cada vez mais necessária para tornar realmente efetivo o diagnóstico das colibaciloses em suínos.

Tabela 1 – Distribuição e freqüência dos fenótipos fimbrias de *Escherichia coli*, isoladas de leitões com diarreias em diferentes faixas etárias, diagnosticados pelo teste de microhemoaglutinação manose-resistente e soroglutinação rápida em placa, SC, 2006.

ANTÍGENO FIMBRIAL	DISTRIBUIÇÃO E FREQUÊNCIA (%)	HEMÓLISE (+) ¹	DISTRIBUIÇÃO E FREQUÊNCIA (%) POR FAIXA ETÁRIA		
			0-25 dias	26-75 dias	> 76 dias
HAMR Positivas	190 (54,3)	72	123 (56,2)	48 (51,1)	19 (52,8)
HAMR Negativas	159 (45,7)	32	96 (43,8)	46 (48,9)	17 (47,2)
F4 (K88)	66 (19)	63	9 (4,1)	39 (41)	19 (52)
F5 (K99)	73 (21)	0	70 (32)	2 (2,6)	0
F6 (987P)	57 (16,3)	8	57 (26)	0	0
F41	24 (6,8)	8	20 (9)	4 (4,3)	0
F42	27 (7,7)	1	24 (11)	3 (3,1)	0
SAFD ²	102 (29,2)	24	39 (17,9)	46 (49)	17 (48)

¹Atividade hemolítica positiva; ²Sem antígeno fimbrial definido.

Tabela 2 – Valores de CIM capazes de inibir 50 % e 90% das amostras analisadas e freqüência (%) de resistência das amostras de *Escherichia coli* em relação aos antimicrobianos testados, SC, 2006.

Antimicrobiano	Concentração (µg/ml)	CIM 50 ^a	CIM 90 ^b	Freqüência de resistência (%)
Ceftiofur	0,25- 128	0,25	1	37
Norfloxacina	0,008 - 32	>32	>32	63
Doxicilina	0,25 - 128	8	>16	67
Colistina	0,008 - 32	2	4	69
Amoxicilina	0,25 - 128	>32	>32	72
Enrofloxacin	0,008 - 32	0,5	>32	39
Neomicina	0,25 - 128	32	>128	66
Gentamicina	0,25 - 128	16	>128	76
Oxitetraciclina	0,25 - 128	>128	>128	84

^a - CIM necessária para inibir o crescimento de 50% das amostras testadas. ^b - CIM necessária para inibir o crescimento de 90% das amostras testadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AWAD-MASALMEH, M.; MOON, H. W.; RUNNELS, P. L.; SCHNEIDER, R. A. Pilus Production, Hemagglutination, and Adhesion by Porcine Strains of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Lacking K88, K99, and 987P Antigens. **Infection and Immunity**, USA, v.35, n.1, p. 305-313, jan. 1982.

BACCARO, M. R.; MORENO, A.M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A. J. P.; CALDERARO, F. F. Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.2, p.15-18, abr./jun. 2002

BERTSCHINGER, H. U. *Escherichia coli* Infections. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 431-457.

BRITO, B. G.; TAGLIARI, K. C.; BERBEL, M. M.; FREIRE, R. L. Produção de enterotoxina termoestável, hemolisinas, colicina e fatores de colonização em amostras de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarreia no sudoeste do Paraná. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 15-20. 2003.

BURCH, D. G S. Controlling diarrhoea in growing pigs - the grey scour syndrome. **The Pig Journal**, Ucrânia. v. 45, p. 131-149, abr. 2000.

COCHRAN, R. S. Estúdio y manejo de co-infecciones virales y bacterianas em granjas porcinas. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3, 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras ...** Foz do Iguaçu, 2006. p.151-156.

EVANS, J. R. D. J.; EVANS, D. G.; DuPONT, H. L. Hemagglutination patterns of enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* determined with human, bovine, chicken, and guinea pig erythrocytes in the presence and absence of mannose. **Infection and Immunity**, USA, v. 23, n. 2, p. 336-346. feb. 1979.

FAIRBROTHER, J. M.; LARIVIERE, S.; LALLIER, R. New fimbrial antigen f165 from *Escherichia coli* serogroup O115 strains isolated from piglets with diarrhea. **Infection and Immunity**, EUA, 51, n.1, p. 10-15, jan. 1986.

FRANCIS, D.H. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in pigs and its diagnosis. **Journal Swine Health Production**. Dakota, v. 10, n. 4, p.171-175. 2002a

FRANCIS, D. H. Post-weaning *Escherichia coli* syndrome – laboratory perspectives. In: ANNUAL SWINE DISEASE CONFERENCE FOR SWINE PRACTITIONERS, 10, 2002, Iowa, EUA. **Proceedings**... Iowa, 2002b.

GAASTRA, W.; GRAAF, F. K. Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. **Infection and Immunity**, EUA, v. 46, n. 2, p. 129-161, jun. 1982.

GUEDES, R. Avanços na detecção de patógenos entéricos de leitões jovens. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3, 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras**... Foz do Iguaçu, 2006a. p. 157-161.

GUEDES, R. M. C.; MACÊDO, N. R.; MENEZES, C. L. P.; LAGE, A. P.; RISTOW, L. E.; REIS-COSTA, A. T. Virulence determinant genes and antimicrobial sensitivity of *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic piglets in the State of Minas Gerais, In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 19, 2006. Copenhagen, Denmark. **Proceedings**... Copenhagen, 2006b. 326 p.

GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, J. G.; THOEN, C. O. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 3th ed. Iowa: Blackwell, 2004. 456 p.

HANSEN, D. Abordagem pratica da Síndrome Diarréica na Maternidade. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3, 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras**... Foz do Iguaçu, 2006. p.167-178.

HOLLAND, R. E. Some Infectious Causes of Diarrhea in Young Farm Animals. **Clinical Microbiology Reviews**, EUA, v. 3, n. 4, p. 345-375, Oct. 1990.

HABRUN, B.; HUMKI, A.; JEMERSIC, L.; CVETNIC, Z.; MITAK, M. Antimicrobial resistance of beta-hemolytic *Escherichia coli* associated with diarrhea in weaned pigs from large pig breeding farms in croatia. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 18. 2004, Hamburg, Germany. **Proceedings**... Hamburg, 2004. 522 p.

JONES, G. W.; RUTTER, J. M. The association of K88 antigen with haemagglutinating activity in porcine strains of *Escherichia coli*. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, n. 84, p.135-144, 1974.

KLEIN, C. S.; MARCHIORI, M.; PIFFER, I. A.; KICH, J. D.; GRANZOTTO, G. Comparação entre as técnicas de microhemaglutinação e aglutinação em látex para Identificação de fímbrias em amostras de *Escherichia coli* In: CONGRESSO

BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11, 2003. Goiânia, Brasil. **Anais...** Goiânia, 2003. 5.p.

LUDWIG, A.; GOEBEL, W. Haemolysins of *Escherichia coli*. In: SUSSMAN, M. ***Escherichia coli* Mechanisms of Virulence**. Cambridge: Cambridge University, 1997. p.281-329.

MARTINS, M. F.; MARTINEZ-ROSSI, N. M.; FERREIRA, A.; BROCCHI, M.; YANO, T.; CASTRO, A. F. P.; SILVEIRA, W. D. Pathogenic characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from newborn piglets with diarrhea in Brazil. **Veterinary Microbiology**, Suíça, v.76, n.1, p. 51-59, set. 2000.

MORRIS, J. A. *Escherichia coli* fimbrial adhesins. **Pig News and Information**, Farnham Royal, v.4, n.1, p.19-21, 1983.

NATARO, J.P.; KAPER, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, EUA, v.11, n. 1, p. 142–201, jan. 1998.

NCCLS - THE NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 8 ed. Wayne: Law, 2003. 62 p.

OSEK, J. Prevalence of virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic and healthy piglets after weaning. **Veterinary Microbiology**, Switzerland, v. 68, n. 3-4, p. 209-217, ago,1999.

POST, K. W.; BOSWORTH, B. T.; KNOTH, J. L. Frequency of virulence factors in *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhea and edema disease in North Carolina. **Swine Health Production**, EUA, v.8, n. 3, p.119 -120, mar. 2000.

QADRI, F.; HAQUE, A.; FARUQUE, S. M.; BETIELHEIM, K. A. ROBINS-BROWNE, R., ALBERTV,A. Hemagglutination properties of enteroaggregative *Escherichia coli*. **Journal Clinical Microbiology**, EUA, v. 32, n. 2, p. 510-514, fev. 1994.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B. **Clinical Veterinary Microbiology**. London:Wolfe, 1994. 648 p.

ROMERO, A. M.; BERNARD, F.; PRONOST, S. ; FORTIER, G. ; LOISNARD, D. ; BISSON, C. ; MONTIER, S. Bacteriano y parasitário de las diarreas en transición en Francia. **Anaporc**, n. 180, p. 5-30, nov. 2001.

SNYDER, I. S.; KOCH, N. A.; Production and Characteristics of Hemolysins of *Escherichia coli*. **Journal Of Bacteriology**, USA, v. 91, n. 2, p. 763-767, feb. 1966.

VAN DEN BOSCH, J. F.; EMÖDY, L.; KÉTYI, I. Virulence of haemolytic strains of *Escherichia coli* in various animal models. **FEMS Microbiology Letters**, Birmingham, v.13, n.4, p. 427-430, apr. 1982.

WILSON, M. R.; HOHMANN, A. W. Immunity to *Escherichia coli* in pigs: Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to isolated intestinal epithelial cells. **Infection and Immunity**, USA. v. 10, n. 4. p. 776-782, Oct. 1974.

CAPITULO 4: DISCUSSAO GERAL

DISCUSSAO GERAL

Com intensificação do processo produtivo, a diarreia tornou-se uma das doenças de maior importância na suinocultura. As perdas ocasionadas pela diarreia são decorrentes do aumento de mortalidade, baixa performance, refugagem, gastos com programas de controle. Estudos realizados na Europa constataram que as doenças bacterianas entéricas são responsáveis por 34,21% da mortalidade de leitões considerando as fases de maternidade, creche e terminação e podem representar um acréscimo de 58% no custo total de produção (BURCH, 2000; ROMERO et al., 2001; TZIKA et al., 2002).

A causa de diarreia em leitões é resultado da interação negativa de diversos fatores, e a simples presença de patógenos entéricos nem sempre é suficiente para produzir a doença clínica. As perdas por morbidade e mortalidade dependem das defesas imunológicas específicas e inespecíficas do hospedeiro, potencial patogênico do agente e da presença de fatores predisponentes como pressão de infecção e manejos inadequados.

Entre as principais etiologias bacterianas associadas à patogênese das diarreias na fase pré-desmame, destacam-se a *E. coli* com fenótipos fimbriais F4, F5, F6, F41 e F42 e *Clostridium* sp. (BERTSCHINGER, 1999; FRANCIS, 2002a; FRANCIS, 2002b; HOLLAND, 1990; LANZA, 1998; SONGER, 1996; STRAW et al., 1999; YAEGER et al., 2002) e no pós - desmame *E. coli* com fenótipo fimbrial F4, *Salmonella* sp., *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* e *Lawsonia intracellularis* (CHIU et al., 2004; HAMPSON; TROTT, 1999; McORIST; GEBHART, 1999; GUEDES; GEBHART, 2001; ROMERO et al., 2001; SCHWARTZ, 1999). Deve ser considerado cada vez mais infecções entéricas mistas, voltadas a uma dinâmica de interação multifatorial em que os “complexos bacterianos enteropatogênicos”, exercem um papel fundamental.

Com a evolução das metodologias de diagnóstico laboratorial, monitoramento clínico, avaliações epidemiológicas e ecopatológicas (estudos dos fatores de risco) cada vez mais se deve considerar o diagnóstico das diarreias como multifatorial e a simples presença de patógenos entéricos nem sempre deve ser encarado como conclusivo.

Devido à intensificação do processo produtivo, os dados de avaliação epidemiológica de uma região ou rebanho são essenciais para implementação ou implantação de programas sanitários representativos e eficientes.

A *Escherichia coli* enterotoxigênica é o agente etiológico de diarreia neonatal e pós-desmame mais importante na suinocultura. É cada vez mais desejável a caracterização fenotípica dos isolados para fornecer evidências de que ele é de fato virulento. Essa informação, além de caracterizar a etiologia efetivamente, auxilia nos programas de imunização e evita diagnósticos mascarados.

Devido os riscos de resistência bacteriana, contaminação ambiental e a representatividade no custo de produção a utilização de antimicrobianos para tratamento, controle e profilaxia das diarreias deve considerar o diagnóstico efetivo do agente etiológico envolvido, perfil de sensibilidade, condições de manejo, ambiente e conhecimento farmacológico acerca da droga (ANDRADE, 2002; FRANCIS, 2002a; GYLES et al., 2004; HOLAND, 1990).

Sabidamente, no Brasil são poucas as informações epidemiológicas sobre as etiologias bacterianas infecciosas de diarreia nas diferentes faixas etárias e fenótipos fimbriais de cepas de *E. coli* isoladas de animais com diarreia e a respectiva sensibilidade frente aos antimicrobianos mais frequentemente utilizados na suinocultura.

Os dados obtidos no primeiro estudo revelam que os principais gêneros / espécies bacterianos diagnosticados a partir de casos de diarreia em suínos foram *E. coli*, *Clostridium* sp., *Salmonella* sp., *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* e *Lawsonia intracellularis*, perfil semelhante ao descrito por outros autores (BERTSCHINGER, 1999; CHIU et al., 2004; FRANCIS, 2002a; FRANCIS, 2002b; GUEDES; GEBHART, 2001; HAMPSON; TROTT, 1999; HOLAND, 1990; LANZA, 1998; McORIST; GEBHART, 1999; PEARCE, 1999; ROMERO et al., 2001; SCHWARTZ, 1999; SONGER, 1996; STRAW et al., 1999; YAEGER et al., 2002;)

A *E. coli* foi o enteropatógeno mais frequentemente isolado como agente primário ou de forma associada dos casos de diarreia pré e pós-desmame,

caracterizando a devida importância da bactéria como agente infeccioso entérico, apesar da evolução no processo de produção de suínos (BERTSCHINGER, 1999; GRANGE et al., 1998; NAGY; FEKETE, 2005; THOMSON, 2001). A *E. coli* estava associada à patogênese de quadros clínicos de diarreia do segundo ao 81º dia de vida dos leitões, caracterizando uma possível interação com outros agentes infecciosos e alterações na suscetibilidade dos animais ou aumento na capacidade de virulência das cepas, pois outros autores descrevem que as cepas de *E. coli* patogênicas afetam leitões até no máximo 60 dias de idade (SOBESTIANSKY, et al., 1999; BERTSCHINGER, 1999).

A partir destes dados de levantamento, o segundo trabalho propôs caracterizar fenotipicamente os tipos fimbriais de cepas de *E. coli* isoladas de suínos com diarreia nas diferentes faixas etárias através de microhemaglutinação, sorologia e determinar o perfil de sensibilidade das cepas isoladas frente aos principais antimicrobianos utilizados no tratamento das colibaciloses em granjas de suínos.

As técnicas de análise fenotípica utilizadas foram microhemaglutinação resistente a manose para caracterizar os antígenos fimbrias F4, F5, F41 e F42 e soroaglutinação rápida em placa para o antígeno F6, não-hemaglutinante. Estas técnicas foram escolhidas por serem técnicas frequentemente utilizadas por outros pesquisadores e por ser um procedimento relativamente simples e de baixo custo.

Considerando a faixa etária e o fenótipo fimbrial, os sorotipos de *E. coli* potencialmente patogênicos, mais prevalentes até a terceira semana de idade, foram F5 (K99), F7 (F41), F8 (F42) e F6, já em leitões com mais de 21 dias, predominaram cepas com fimbrias F4 (K88). Essa abordagem revela que a maioria das cepas de ETEC importantes na colibacilose suína está relacionada a um conjunto restrito de fenótipos fimbriais e estes se relacionam de forma específica em determinadas faixas etárias (BERTSCHINGER, 1999; FAIRBROTHER et al., 1986; FRANCIS, 2002a; FRANCIS, 2002b; GUEDES et al, 2006; HOLAND, 1990; RIPPINGER et al., 1995). Essa configuração de suscetibilidade é um reflexo da presença e disponibilidade de receptores aos vários tipos de fimbrias na superfície do epitélio intestinal dos leitões (FRANCIS, 2002b). Considerando as diferentes fases de produção, a dinâmica pode ser explicada pela diminuição rápida de receptores para K99 conforme o leitão vai crescendo enquanto os receptores para F6 (987P), F41 e F42, são provavelmente bloqueados por compostos análogos ou glicocálice presentes no conteúdo intestinal. Já os receptores para F4 (K88) podem ser

expressos desde o nascimento, entretanto ocorrem com maior freqüência em animais acima de 21 dias (FRANCIS, 2002a; FRANCIS, 2002b; NAGY; FEKETE, 2005; NATARO; KARPER, 1998)

Os animais foram suscetíveis às cepas F4, durante todas as faixas etárias, mas com mais freqüência em idades mais avançadas, acima de 76 dias. Revelando uma interação com outros enteropatógenos, aumento na suscetibilidade dos animais ou no potencial de virulência das cepas de *E. coli*.

A característica hemolítica, foi observada na maioria absoluta das cepas de *E. coli* isoladas de leitões com idade acima de 21 dias, fase na qual predominara amostras K88 e foi menos observada nas fase inicial. Este padrão esta condicionado ao fato de que os genes codificantes das hemolisinas geralmente estão localizados nos mesmos plasmídeos de virulência que contêm os genes da fímbria K88, relacionada à diarréia em diferentes fase de produção mas com maior freqüência em leitões desmamados (CAVALIERI, 1984; FRANCIS, 2002b; BERTSCHINGER, 1999; SOBESTIANSKY et al., 1999).

Os índices de resistência aos antimicrobianos foram estimados através do teste da concentração inibitória mínima (CIM) como uma forma de melhorar os critérios de utilização dos diversos antimicrobianos no tratamento, controle e profilaxia das colibaciloses em suínos.

Quando submetidas ao teste de antibiograma, as cepas de *E. coli* e *Salmonella* sp., apresentaram altos índices de resistência ao antimicrobianos mais frequentemente utilizados na suinocultura para o tratamento das enterites. A resistência bacteriana pode ser induzida ou transferida por diversos mecanismos, podendo estabelecer-se entre microrganismos de uma mesma população ou de diferentes populações, como da microbiota animal para humana e vice-versa, normalmente induzida pela presença ou transferência de plasmídeos (ANDRADE, 2002; GYLES et al., 2004; HOLAND, 1990).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. 696 p.

BERTSCHINGER, H. U. *Escherichia coli* Infections. In: STRAW, B.E., D'ALLAIRE S., MENGELING, W.L., TAYLOR, D.J., (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 431-457.

BURCH, D. G S. Controlling diarrhoea in growing pigs - the grey scour syndrome. **The Pig Journal**, Inglaterra. v. 45, p. 131-149, abr. 2000.

CAVALIERI, S. J.; BOHACH, G.A.; SNYDER, I. S. *Escherichia coli* α -Hemolysin: Characteristics and Probable Role in Pathogenicity. **Microbiological Reviews**, EUA, v. 48, n. 4, p. 326-343, dec. 1984.

CHIU, C. H.; SU, L. H.; CHU, C. *Salmonella enterica* Serotype Choleraesuis: epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 2, p. 311–322, apr. 2004.

FAIRBROTHER, J. M.; LARIVIERE, S.; LALLIER, R. New fimbrial antigen f165 from *Escherichia coli* serogroup O115 strains isolated from piglets with diarrhea. **Infection and Immunity**, EUA, 51, n.1, p. 10-15, jan. 1986.

FRANCIS, D. H. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in pigs and its diagnosis. **Journal Swine Health Production**. Dakota, v. 10, n. 4, p.171-175. 2002a

FRANCIS, D. H. Post-weaning *Escherichia coli* syndrome – laboratory perspectives. In: ANNUAL SWINE DISEASE CONFERENCE FOR SWINE PRACTITIONERS, 10, 2002, Iowa, EUA. **Proceedings**... Iowa, 2002b.

GUEDES, R. Avanços na detecção de patógenos entéricos de leitões jovens. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3, 2006, Foz do Iguaçu, Brasil. **Palestras...** Foz do Iguaçu, 2006a. p. 157-161.

GUEDES, R. M. C.; GEBHART, C. J. Aspectos atuais sobre a detecção da infecção pela *Lawsonia intracellularis* em suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10, 2001, Porto Alegre, Brasil. **Anais...** Porto Alegre, 2001. (Não paginado).

GRANGE, P.A. et al. Characterization of the Carbohydrate Moiety of Intestinal Mucin-Type Sialoglycoprotein Receptors for the K88ac Fimbrial Adhesin of *Escherichia coli*. **Infection and Immunity**, EUA, v. 66, n. 4, p. 1613-1621, apr. 1998.

GYLES, C. L. et al. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 3th ed. Iowa: Blackwel, 2004. 456 p.

HAMPSON, D. J.; TROTT, D. J. Spirochetal Diarrhea/Porcine Intestinal Spirochetosis. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 553-562.

HOLLAND, R. E. Some Infectious Causes of Diarrhea in Young Farm Animals. **Clinical Microbiology Reviews**, EUA, v. 3, n. 4, p. 345-375, Oct. 1990.

LANZA, I. Control of infectious diseases of swine. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 15, 1998, Birmingham, England. **Proceedings...** Birmingham, 1998. p. 79-85.

McORIST, S.; GEBHART, C. J. Porcine proliferative enteropathies. In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999. 1181 p. p. 521-534.

NAGY, B.; FEKETE, P. Z. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. **International Journal of Medical Microbiology**, Wurzburg, v.295, p.443-454, oct. 2005.

NATARO, J.P.; KAPER, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, EUA, v.11, n. 1, p. 142-201, jan. 1998.

PEARCE, G. P. Epidemiology of enteric diseases in grower-finisher pigs: a postal survey of pig producers in England. **The Veterinary Record**. Inglaterra. v.27, n.144, p. 338-342, mar. 1999.

RIPPINGER, P. et al. Designations F18ab and F18ac for the related fimbrial types F107, 2134P and 8813 of *Escherichia coli* isolated from porcine postweaning diarrhea and from oedema disease. **Veterinary Microbiology, Suíça**, v. 45, p. 281-295, aug. 1995.

ROMERO, A.M. et al. Bacteriano y parasitário de las diarreas en transición en Francia. Anaporc. Revista de Porcinocultura. n. 180, p. 5-30, nov. 2001.

SOBESTIANSKY, J. et al. **Clínica e Patologia suína**. 2. ed. Goiânia: Art 3, 1999. 464 p.

SONGER, J.G. Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals. **Clinical Microbiology Reviews**, EUA, v. 9, n. 2, p. 216–234, apr. 1996.

STRAW, B. E.; DEWEY, C. E.; WILSON, M. R. Differential Diagnosis of Swine Diseases In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of Swine**. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999, 1181 p. p. 41-86.

SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Eds.) Diseases of Swine. 8th ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1999. 1181 p. p. 535–551.

THOMSON, J. Etiología y control de las principales infecciones entéricas porcinas. **Información Veterinária**. Espanha, v. 1, n. 224, p. 34 – 39, abr. 2001.

TZIKA, E. D. et al. Causes of the post weaning mortality in industrial Greek swine units. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 17, 2002, Ames, Iowa. **Proceedings...** Ames, 2002. p. 459.

YAEGER, M.; FUNK, N.; HOFFMAN, L. A survey of agents associated with neonatal diarrhea in Iowa swine, including *Clostridium difficile* and porcine reproductive and respiratory virus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Iowa, v.14, p. 281-287, jul. 2002.

CAPITULO 5: CONCLUSÕES FINAIS

CONCLUSÕES FINAIS

- ✓ Os principais gêneros e/ou espécies de enteropatógenos diagnosticados nas diferentes fases de produção foram *Escherichia coli*, *Clostridium* sp., *Salmonella* sp., *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli* e *Lawsonia intracellularis*;
- ✓ A *Escherichia coli* foi a bactéria diagnosticada como causa mais freqüente de diarreia em suínos nas diferentes faixas etárias.
- ✓ Através da HAMR e sorologia monoespecífica foi possível diagnosticar os fenótipos fimbriais F4, F5, F6, F41 e F42.
- ✓ No teste de disco difusão, as amostras de *E. coli* testadas apresentaram maiores índices de sensibilidade ao ceftiofur e a gentamicina, já, as amostras de *Salmonella* sp. apresentaram alta sensibilidade à gentamicina e amoxicilina.
- ✓ No teste de CIM, as amostras de *E. coli* testadas apresentaram maior sensibilidade à ceftiofur e enrofloxacin.
- ✓ A associação de infecções mistas com a patogênese das diarreias nas diferentes fases de produção têm um papel fundamental.
- ✓ A tipificação se faz cada vez mais necessária para tornar realmente efetivo o diagnóstico das colibaciloses em suínos.
- ✓ Sugere-se um estudo futuro envolvendo a caracterização genotípica das amostras de *E. coli*, como forma de associar a presença de genes determinantes de fatores de virulência e sua expressão.