

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

Occurrence and identification of swine intestinal spirochetes in industrial pig herds from two raising areas in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, in relation to feed medication

David Emilio Barcellos¹ Luís Eduardo Razia² Sandra Maria Borowski³

RESUMO

As infecções intestinais por espiroquetas em suínos, na fase que se segue ao alojamento nos prédios de recria, são predispostas por fatores como o estresse da movimentação, mistura entre animais imunes e excretores com leitões não imunes, deficiências nas condições ambientais e troca no tipo da ração usada. Para contrabalançar esses efeitos, é uma prática rotineira a inclusão de antimicrobianos à ração, em doses de promoção de crescimento ou de controle. O presente trabalho avaliou a ocorrência da infecção por *Brachyspira* spp. em rebanhos suínos do Estado do Rio Grande do Sul, tentando relacionar com o tipo de programa de uso de antimicrobianos adotado. Foram examinados 393 suabes retais colhidos de 38 granjas do RS (22 usando rações medicadas e 16 com ração sem medicação). A *B. hyodysenteriae* e *B. pilosicoli* foram detectadas respectivamente em 0% e 6,25% das granjas medicadas e de 31,8% e 45,5% das granjas não medicadas. Entre os suabes examinados, a *B. hyodysenteriae* e *B. pilosicoli* estavam presentes respectivamente em 0 e 0,6% dos materiais colhidos de granjas medicadas e de 3,9% e 7,3% em granjas não medicadas. O presente trabalho suporta a opinião de diversos autores que sugeriram a influência direta da inclusão de antimicrobianos à ração em doses de promoção de crescimento ou em dose de controle e a ocorrência de diarreias espiroquetais em leitões. Entretanto, pelas características multifatoriais desse tipo de patologia, seriam necessários estudos adicionais abrangendo um número maior de variáveis entre aquelas possivelmente envolvidas no desencadeamento das diarreias, antes que fosse obtida uma conclusão definitiva.

Palavras-chave: *Disenteria Suína, Colite Espiroquetal, Brachyspira, promotores de crescimento, antimicrobianos.*

ABSTRACT

Intestinal spirochaetal infections in pigs following transportation to growing facilities is predisposed by stressful factors such as contact between carriers and non-immune piglets, deficient environment and diet changes. To neutralize such effects, it is a common practice to include antimicrobials to feed in promoting or control levels. The present work assessed the occurrence of *Brachyspira* infection in pig herds in the State of Rio Grande do Sul, Brazil, trying to relate the infection with the feed medication program. A total of 393 rectal swabs collected from 38 farms were bacteriologically examined (22 from farms using medicated feed and 16 with non-medicated feed). *B. hyodysenteriae* and *B. pilosicoli* were isolated respectively from 0% and 6,25% in medicated herds and from 31.8% and 45.5% in non-medicated farms. *B. hyodysenteriae* and *B. pilosicoli* were isolated respectively from 0% and 0.6% swabs collected in medicated farms and from 3.9% and 7.3% swabs from non-medicated farms. The present work agrees with several authors who suggest a direct influence of inclusion of antimicrobials to feed in promotion on growth levels on spirochaetal diarrhoea in pigs. However, considering the multifactorial determination of this condition, additional studies investigating the importance of other variables would be necessary to reach a definitive conclusion about the role of medication in the determination of diarrhoea caused by pathogenic spirochetes.

¹Médico Veterinário, Doutor, Professor Adjunto, Departamento de Medicina Animal, Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, 91540-000, Porto Alegre-RS. E-mail: davbarce@terra.com.br
Autor para correspondência.

²Médico Veterinário, aluno do curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária da UFRGS.

³Médico Veterinário, MSc, Doutor, Laboratório de Patologia Suína do CPVDF, FEPAGRO, Eldorado do Sul-RS.

Key words: *Swine Dysentery, Spirochetel Colitis, Brachyspira, growth promoters, antimicrobials, feed medication.*

INTRODUÇÃO

Já foram identificadas até o momento seis espécies de espiroquetas nas fezes de suínos, cinco do gênero *Brachyspira* (*B. hyodysenteriae*, *B. pilosicoli*, *B. innocens*, *B. intermedia* e *B. murdochii*) e uma do gênero *Treponema* (*T. succinifaciens*). As espécies consideradas patogênicas são duas: a *B. hyodysenteriae*, que causa uma colite mucohemorrágica em leitões na fase de crescimento e terminação (disenteria suína, DS); e a *B. pilosicoli*, que causa uma diarreia mucóide, geralmente autolimitante, ocorrendo principalmente na fase de alojamento de leitões na fase de recria (colite espiroquetal, CE). As outras espiroquetas intestinais dos suínos são consideradas comensais (HAMPSON & TROTT, 1995).

As infecções espiroquetais em suínos possuem uma significativa importância econômica. Na década de 80, a disenteria suína foi considerada a doença com maior significação econômica na Austrália, estimando-se uma perda anual de 100 dólares americanos por porca (HAMPSON & TROTT, 1995). A piora da conversão alimentar tem sido calculada na ordem de 10 a 90% e a redução do ganho de peso em 13 a 62%. Mais recentemente, vem sendo observada uma redução na incidência da DS, mas, paralelamente, houve um aumento na incidência de CE, considerada uma doença emergente. A doença cursa com redução na absorção de nutrientes e líquidos no intestino grosso, interferindo de maneira direta com a alimentação, numa fase da criação em que chega a representar acima de 80% do custo de produção (DUHAMEL, 1996).

A razão da maior concentração de casos de DS e CE no início da fase de recria tem sido relacionada a fatores como o estresse da transferência entre diferentes instalações, mistura de animais imunes/excretadores com animais não imunes, piora das condições ambientais mas, principalmente, à retirada do medicamento adicionado à ração que é fornecida aos leitões nessa fase (GIRARD et al., 1995). Na Suécia, foi registrada uma significativa redução do isolamento de *Brachyspira* spp. em rebanhos medicados com olaquinox (FELLSTRÖM et al., 1996). Não há, até o momento, publicações resultantes de estudos de prevalência de tais enfermidades no Brasil.

O objetivo do presente trabalho foi o de estudar a ocorrência de infecções por *B. pilosicoli* em granjas de suínos de duas regiões criatórias do Estado

do Rio Grande do Sul, tentando relacioná-la com o tipo de programa de medicação da ração em uso.

MATERIAL E MÉTODOS

As granjas foram visitadas conforme metodologia preconizada por SOBESTIANSKY *et al* (2001) dando-se ênfase às fases de recria e terminação (RT). Foram visitadas 38 granjas de porte industrial, nas regiões criatórias do Alto Taquari e Missões, Rio Grande do Sul. Seis dessas granjas eram de ciclo completo (CC) e 32 unidades eram de RT. Em todas as unidades de CC havia a adição de produtos antimicrobianos à ração, enquanto que, em 10 das 32 unidades de RT, as rações eram medicadas. Os seguintes produtos estavam sendo usados: carbadox (50 ppm) em 6 granjas (3 de CC e 3 de RT), olaquinox (100 ppm) em 2 granjas CC e 1 de RT, tilosina (100 ppm) em 1 granja de CC e 2 de RT, oxitetraciclina (400 ppm) em 2 granjas de RT e tiamulina (10 ppm) em 2 granjas de RT, sendo que as doses usadas eram as indicadas para fins preventivos (BARCELLOS & SOBESTIANSKY, 1998). Por ocasião da visita, os lotes examinados foram classificados quanto à severidade da diarreia conforme descrito por SONCINI & MADUREIRA (1998). Nas granjas com menos de 10 leitões com diarreia, foram colhidas fezes de todos os afetados. Naquelas, com número superior a 10, foram colhidas entre 10 a 20 amostras. A média foi de 10,42 suabes retais por granja visitada, perfazendo um total de 393 amostras. Os materiais foram colhidos diretamente do reto de suínos com diarreia, nos primeiros trinta dias após o alojamento na fase de recria. Imediatamente após a colheita, foram colocados em tubos contendo o meio de transporte "Amies" com carvão ativado e transportados ao laboratório em caixa isotérmica, com gelo. Imediatamente após a chegada ao laboratório (no máximo 48 horas após a colheita), os suabes foram semeados no meio seletivo CVS (DUHAMEL & JOENS, 1994) e incubados a 42°C numa jarra de anaerobiose contendo atmosfera de 10% CO₂, 10% H₂ e 80% N₂. Cada cultivo foi observado para crescimento e hemólise em intervalos de 48 horas, por 14 dias. Foi considerado positivo quando observadas áreas de B hemólise com escasso crescimento superficial ou do tipo véu ("swarming") difundindo-se além da zona de inoculação primária. A presença das espiroquetas nessas áreas foi confirmada conforme metodologia descrita por BARCELLOS (2000). Os cultivos positivos foram subcultivados no meio líquido pré-reduzido PRAS, de acordo com KUNKLE & KINYON (1988), previamente distribuído em tubos tipo Hungate e contendo um micromagneto em seu

interior. A incubação foi feita a 37°C em agitação a 150rpm num agitador magnético. Cultivos puros de cada espiroqueta foram submetidos a provas de caracterização fenotípicas e genotípicas.

Caracterização fenotípica

Foi realizada através da determinação da hemólise, com classificação como forte ou fraca. A determinação da produção de indol foi feita através de reação colorimétrica em tubo, com leitura com o reativo de Ehrlich (HOLDEMAN et al., 1977). A verificação da hidrólise do hipurato foi feita através de reação colorimétrica em tubo (RUBSAMEN & RUBSAMEN, 1986).

Caracterização genotípica

Foi realizada, usando-se a reação em cadeia da polimerase (PCR), amplificando-se um segmento do gene codificador do 23S rRNA e digestão do amplicon obtido com três enzimas de restrição, conforme descrito por BARCELLOS et al., (2000).

RESULTADOS

A ocorrência de *Brachyspira* spp. em 393 amostras fecais obtidas de leitões na fase de crescimento nas 38 granjas amostradas é apresentada na tabela 1.

Brachyspira spp. foi isolada de 22/22 (100%) das granjas que estavam usando ração não medicada. Entre as que estavam usando ração adicionada de antimicrobianos, o índice de isolamento foi de 12,5% (2/16). A *B. pilosicoli* estava presente em 45,5% das granjas usando ração sem medicamentos e, em 6,25% das granjas, com

rações medicadas. A *B. hyodysenteriae* estava presente em 31,8% das granjas sem medicação e em nenhuma granja usando ração medicada. Entre os materiais colhidos, a *B. pilosicoli* foi isolada de 7,3% dos suabes colhidos de granjas sem medicação e em 0,6% das granjas com medicação. Numa dessas granjas, foi isolada simultaneamente uma espiroqueta comensal (*B. innocens*). A *B. hyodysenteriae* foi isolada de 3,9% dos suabes colhidos de granjas sem medicação e em nenhum "swab" colhido em granja com medicação. No total, apenas dois suabes colhidos de duas diferentes granjas que estavam usando ração medicada, mostraram isolamento positivo de espiroquetas. Entre as granjas positivas, uma estava usando olaquinox e outra tilosina. No presente caso, não foi determinada a sensibilidade dos isolados. Na ausência dessa informação, não foi possível explicar a causa da ineficiência das drogas para inibir o crescimento das espiroquetas nas duas granjas com isolamento positivo. Antimicrobianos são adicionados estrategicamente à ração de suínos por períodos de tempo curtos com a finalidade de neutralizar os efeitos negativos do estresse e a conseqüente depressão do sistema imune, prevenindo a emergência de infecções oportunistas (promoção de crescimento). Elas são incluídas, por exemplo, 7 a 10 dias após a movimentação de leitões entre instalações de creche e recria. Nas granjas medicadas analisadas no presente trabalho, a ocorrência de diarreia era esporádica e os sintomas tendiam a ser leves, consistindo principalmente de fezes amolecidas sem outros sinais clínicos simultâneos. Na maioria dos rebanhos não medicados, uma forma mais severa de diarreia estava presente.

Tabela 1 - Ocorrência de *Brachyspira* spp. em 393 "swabs" fecais obtidos de 38 granjas.

| | <i>B. hyodysenteriae</i> | <i>B. pilosicoli</i> | <i>Brachyspira</i> spp. | Não tipadas* | Total |
|---------------------------|--------------------------|----------------------|-------------------------|--------------|--------|
| Granjas medicadas | | | | | |
| Positivas/examinadas (Nº) | 0/16 | 1/16 | 1/16 | 0 | 2/16 |
| % positivo | 0 | 6,25 | 6,25 | 0 | 12,5 |
| Granjas não medicadas | | | | | |
| Positivas/examinadas (Nº) | 7/22 | 10/22 | 6/22 | 0 | 22/22 |
| % positivo | 31,8 | 45,5 | 27,3 | 0 | 100,0 |
| Granjas medicadas | | | | | |
| Positivos/ materiais (Nº) | 0/164 | 1/164 | 1/164 | 0 | 2/164 |
| % positivo | 0 | 0,6 | 0,6 | 0 | 1,2 |
| Granjas não medicadas | | | | | |
| Positivos/ materiais (Nº) | 8/229 | 15/229 | 6/229 | 20/229 | 49/229 |
| % positivo | 3,9 | 7,3 | 2,9 | 9,7 | 23,8 |

* Amostras presentes em materiais de campo, mas não submetidas a testes de caracterização por impossibilidade de serem obtidas em cultivos puros.

DISCUSSÃO

Estudos epidemiológicos abrangentes têm demonstrado alta prevalência de *Brachyspira* spp. em leitões com colite ou diarreia. Numa investigação sobre causas de colite em leitões na fase de crescimento realizada entre 1992 e 1996 na Grã Bretanha, a *B. pilosicoli* foi isolada como patógeno exclusivo em 32,9% entre 85 granjas (THOMSON *et al.*, 1998). Infecções mistas envolvendo *B. pilosicoli*, associada com *Yersinia pseudotuberculosis* (9,4%), *Lawsonia intracellularis* (7,1%), ou *B. hyodysenteriae* (2,4%) estavam presentes em 18,9% das granjas amostradas. Num estudo realizado na Suécia entre 1996 e 1997, envolvendo 894 granjas de suínos com histórico de diarreia, a *B. hyodysenteriae* foi isolada em 27% e a *B. pilosicoli* em 18% (FELLSTRÖM *et al.*, 1998). Estudo realizado na Finlândia em 1997 em suínos na fase de crescimento em 50 rebanhos de granjas com máxima sanidade (classe "LSO 2000"), mostrou que, em 28% das granjas, a *B. pilosicoli* estava sendo excretada nas fezes dos leitões, mas não foi determinada uma relação evidente com diarreia (HEINONEN *et al.*, 1998).

O único fator de manejo comum aos estudos realizados por THOMSON *et al.*, (1998), FELLSTRÖM *et al.*, (1998) e HEINONEN *et al.*, (1998) que envolviam leitões na fase de crescimento, era ausência da adição de medicamentos em doses de promoção de crescimento à ração que estava sendo fornecida aos animais. Essa relação foi confirmada em outro trabalho, em que o autor observou que, em algumas granjas, ocorreu um surto de diarreia logo após a retirada de ração medicada com macrolídeos ou com oxitetraciclina em doses de promoção de crescimento, sugerindo que a inibição de patógenos entéricos por antimicrobianos seria importante na expressão clínica de determinadas doenças entéricas em suínos na fase de crescimento (WILKINSON & WOOD, 1987). Em função de que a retirada da medicação da ração com antibióticos em doses promotoras do crescimento parece melhorar o isolamento de *B. pilosicoli* de leitões com colite, (THOMSON *et al.*, 1998), o uso de rações com a adição desse tipo de dose de medicamentos poderia impedir o isolamento de determinadas espiroquetas de materiais fecais. No estudo de HEINONEN *et al.* (1998), três de quatro granjas que não usaram antimicrobianos na ração apresentavam *B. pilosicoli*, enquanto amostras de fezes de 20 granjas que usavam antimicrobiano do grupo químico das quinoxalinas (carbadox) e 26 granjas usando outro produto desse mesmo grupo (olaquinox) na ração que era fornecida a suínos em crescimento, permitiu o isolamento de *B.*

pilosicoli de 4 amostras colhidas de apenas uma (5%) e dez (38%) das granjas, respectivamente. Essa observação está de acordo com a publicação de FELLSTRÖM *et al.* (1996), que isolaram *B. pilosicoli* de 7 entre 15 (46,7%) granjas que não usavam antimicrobianos, mas não obtiveram nenhum isolamento em quatro granjas em que os leitões da fase de crescimento estavam ingerindo rações medicadas com olaquinox.

CONCLUSÃO

A maioria dos trabalhos que procuraram determinar a relação entre a ingestão de rações não suplementadas com antimicrobianos e infecções intestinais por espiroquetas encontraram uma correlação positiva (FELLSTRÖM *et al.*, 1996; GIRARD *et al.*, 1995; TAYLOR & TROTT, 1996). O presente trabalho suporta essa hipótese. O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento, ou para a prevenção de doenças em animais de produção criados em sistemas confinados, é um assunto bastante controvertido. Sem dúvida, também no Brasil, o uso de antimicrobianos como promotores de crescimento podem gerar um risco potencial de resíduos nos produtos ou carcaças de animais destinadas ao consumo humano, além do possível risco do desenvolvimento de resistência antimicrobiana em microorganismos presentes na microbiota intestinal dos suínos, com possível transmissão a patógenos humanos.

A diarreia em suínos, na fase de crescimento, tem uma determinação complexa (multifatorial), dependendo da interação de agentes infecciosos com fatores como a qualidade do ambiente, grau de imunidade de rebanho e outras variáveis relacionadas à população de microorganismos intestinais e composição da alimentação. Estudos adicionais investigando a relação entre os agentes infecciosos e esses fatores seriam necessários para que se pudesse chegar a uma conclusão definitiva sobre o papel da medicação na determinação das diarreias causadas pelas espiroquetas intestinais em suínos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARCELLOS, D.E.S.N. *Infecção por Brachyspira spp. em suínos: epidemiologia e caracterização fenotípica e genotípica das espécies*. 2000. 163f. Tese (Doutorado em Ciências - Microbiologia) - Instituto de Microbiologia "Professor Paulo de Góes", Universidade Federal do Rio de Janeiro.

- BARCELLOS, D.E.S.N. et al. Rapid identification and typing of porcine intestinal spirochetes by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism analysis of ribosomal DNA encoding 23S rRNA. **Veterinary Microbiology**, v.75, p.189-198, 2000.
- BARCELLOS, D.E.S.N.; SOBESTIANSKY, J. **Uso de antimicrobianos em suinocultura**. Goiânia : Art 3, 1998. 103pp.
- DUHAMEL, G.E. Espiroquetosis del colon porcino causada por *Serpulina pilosicoli* (espiroquetosis colónica porcina). **Pigs**, v.12, p.11-14, 1996.
- DUHAMEL, G.E.; JOENS, L.A. **Laboratory procedures for the diagnosis of swine dysentery**. Columbia : American Association of Laboratory Diagnosticians, 1994. 94p.
- FELLSTRÖM, C. et al. Isolation of *Serpulina* species in Swedish pig herds with diarrhoea. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 1998, Birmingham. **Proceedings...** Birmingham, 1998. V.2, p.59.
- FELLSTRÖM, C. et al. Prevalence of *Serpulina* species in relation to diarrhea and feed medication in pig rearing herds in Sweden. **American Journal of Veterinary Research**, v.57, p.807-811, 1996.
- GIRARD, C.; LEMARCHAND, T.; HIGGINS, R. Porcine colonic spirochetosis: a retrospective study of eleven cases. **Canadian Veterinary Journal**, v.36, p.291-294, 1995.
- HAMPSON, D.J.; TROTT, D.J. A review - Intestinal spirochetel infections of pigs: an overview with an Australian perspective. In: HENESSY, D.P. & CRANWELL, P.D. **Manipulating pig production V**. Werribee, 1995. p.139-169.
- HEINONEN, M. et al. Prevalence of *Serpulina* species in herds rearing health class (LSO 2000) feeder pigs. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 1998, Birmingham. **Proceedings...** Birmingham, 1998. V.2, p.57.
- HOLDEMAN, L.V.; CATO, E.P.; MOORE, E.W.C. **Anaerobe laboratory manual**. 4.ed. Blacksburg : Virginia Polytechnic Institute and State University, Anaerobe Laboratory, 1977. p.127-149.
- KUNKLE, R.A.; KINYON, J.M. Improved selective medium for the isolation of *Treponema hyodysenteriae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.26, p.2357-2360, 1988.
- RUBSAMEN, S.; RUBSAMEN, S. Hippurat-Hidrolyse: ein schnelltest zur unterscheidung von *Treponema hyodysenteriae* und *Treponema innocens*. **Tier Umschau**, v.41, p.673-677, 1986.
- SOBESTSTIANSKY, J. et al. **Clínica veterinária em sistemas intensivos de produção de suínos e relatos de casos clínicos**. Goiânia : Art 3, 2001. 103p.
- SONCINI, R.A.; MADUREIRA, S.E. **Monitorias sanitárias**. In: SOBESTIANSKY, J. et al. **Suinocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. Concórdia : Embrapa-CNPASA, 1998. Cap.5, p.91-110.
- TAYLOR, D.J.; TROTT, D.J. Porcine intestinal spirochetosis and spirochetel colitis. In: HAMPSON, D.J.; STANTON, T.B. **Intestinal Spirochetosis in domestic animals and humans**. Wallingford : CAB International, 1996. p.211-241.
- 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**, v.142, p.235-239, 1998.
- WILKINSON, J.D.; WOOD, E.N. Grower scour/non specific colitis. **Veterinary Record** v.12, n.1, p.406, 1987.