

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANNE CAROLINE DE LARA

INTERFERÊNCIA DO TRATAMENTO PREVENTIVO COM ANTIMICROBIANOS
SOBRE A COLONIZAÇÃO DE AGENTES DA MICROBIOTA DO TRATO
RESPIRATÓRIO DE LEITÕES

CURITIBA

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANNE CAROLINE DE LARA

INTERFERÊNCIA DO TRATAMENTO PREVENTIVO COM ANTIMICROBIANOS
SOBRE A COLONIZAÇÃO DE AGENTES DA MICROBIOTA DO TRATO
RESPIRATÓRIO DE LEITÕES

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre, pelo Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná – UFPR.

Orientador: Prof Dr. Geraldo Camilo Alberton

CURITIBA

2011



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "EFEITO DA ANTIMICROBIANOTERAPIA PREVENTIVA NA COLONIZAÇÃO DE LEITÕES" apresentada pela Mestranda ANNE CAROLINE DE LARA declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 15 de dezembro de 2011

Professor Dr. Geraldo Camilo Alberton
Presidente/Orientador

Professor Dr. David Emilio Santos Neves de Barcellos
Membro

Professora/Dra. Elizabeth Santin
Membro

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só foi possível devido a colaboração e apoio de pessoas da Sadia/BRF e Universidade Federal do Paraná – setor de Ciências Agrárias. Agradeço a todas as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente. Em especial:

À Mário Sérgio Assayag e Osório Dal Bello pela autorização para realização do trabalho e todo o suporte;

Ao Rui Peretti pela autorização para realização do mestrado, pela ajuda durante minha ausência no laboratório, pelos ensinamentos em microbiologia e pela grande amizade;

À toda equipe da granja experimental de Nova Sarandi, ao gerente Marcos Téo, ao supervisor Renato e a veterinária Alexandra pela disponibilização da granja para realização do experimento e toda ajuda durante o experimento, sem a qual não seria possível;

Ao orientador Geraldo Camilo Alberton, primeiramente pelos ensinamentos e orientação durante toda a graduação e mestrado. Também pela confiança em meu trabalho, pela grande paciência em momentos decisivos e principalmente pela grande amizade que cultivamos ao longo desses anos;

À equipe do Laboratório Central Agropecuário (Concórdia), em especial, Márcia Silva, Márcia Santi, Cidiane, Giovane e Ivete; grandes profissionais do laboratório que me acolheram, ensinaram e ajudaram muito durante os três anos de convívio;

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em nome de Priscila Zlotowski e Luiza Amaral de Castro pela ajuda nas análises para detecção de *Streptococcus suis*;

Aos grande amigos que cultivei, que em muitos momentos, mesmo que distante, me aconselharam e tornaram alguns momentos difíceis em momentos mais

tranqüilos e divertidos: Andressa, Christiane, Ana Márcia, Carlinhos, Kelly, Letícia, Jalusa e Lauren;

Ao Diego Surek pela ajuda nas análises estatísticas e também pela enorme paciência em muitos momentos, pelo carinho, amizade e companheirismo em todos as horas;

À minha mãe Jocelia e meus irmãos Alexandre e Patrícia, que representam a razão de tudo. Agradeço por toda paciência, preocupações, eterna lealdade e pelo amor incondicional, em todos os momentos de minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO	11
CAPÍTULO 1: Revisão de literatura - Fatores que interferem na colonização da microbiota do trato respiratório de leitões.....	13
1.1. Introdução.....	14
1.2. Colonização e Imunidade.....	17
1.3. Fatores que interferem na colonização.....	19
1.3.1. Manejo de leitões.....	20
1.3.2. Uso de antimicrobianos preventivo.....	21
1.3.3. Manejo de colostro e Idade de desmame.....	22
1.3.4. Uso de vacinas.....	24
1.4. Conclusões	26
Referências	27
CAPÍTULO 2: O tratamento preventivo com antimicrobianos afeta a colonização de leitões?	31
2.1. Introdução.....	33
2.2. Material e Métodos.....	35
2.2.1. Delineamento experimental.....	36
2.2.2. Processamento de amostras.....	37
2.2.2.1. Detecção de <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	37
2.2.2.2. Detecção de <i>Haemophilus parasuis</i>	38
2.2.2.3. Detecção de <i>Streptococcus suis</i>	39
2.2.3. Análise estatística.....	40
2.3. Resultados.....	40
2.4. Discussão.....	41
2.5. Conclusões.....	46
Referências	46
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Delineamento experimental com distribuição dos animais nos grupos tratados ou não com antimicrobianos.....36

Tabela 2 – Resultados das análises de PCR positivas para *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae* a partir de exames de suabes de tonsila de leitões.....40

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 – Concentração de imunoglobulinas no colostro segundo as horas após decorrido o parto.....23

LISTA DE ABREVIATURAS

BHI	<i>Brain heart infusion</i>
CO ₂	Dióxido de carbono
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
dNTP	<i>Deoxyribonucleotide</i>
HCl	Ácido clorídrico
Ig	Imunoglobulina
KCl	Cloreto de potássio
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
mM	Milimolar
μL	Microlitro
μM	Micromolar
NAD	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>
ng	Nanograma
pb	Pares de base
PCR	<i>Polimerase chain reaction</i>
ppm	Parte por milhão
U	Unidades
V	Volts

RESUMO

INTERFERÊNCIA DO TRATAMENTO PREVENTIVO COM ANTIMICROBIANOS SOBRE A COLONIZAÇÃO DE AGENTES DA MICROBIOTA DO TRATO RESPIRATÓRIO DE LEITÕES

Os agentes *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus pleuropneumoniae* são responsáveis por grandes prejuízos na suinocultura tecnificada. Estes agentes podem causar meningite estreptocócica, doença de Glasser ou pneumonias, respectivamente. Essas doenças são consideradas multifatoriais, pois somente a presença dos agentes na granja não é suficiente para desencadear a doença. Portanto, a presença de fatores de risco associado à cepas potencialmente patogênicas representam o ponto chave na ocorrência dessas doenças. A colonização precoce por cepas patogênicas durante o período de lactação demonstrou ser uma ferramenta para evitar doença clínica na fase de creche por agentes como *H. parasuis* e *S. suis*. Alguns fatores de risco podem alterar a colonização natural desses agentes no trato respiratório de leitões, sendo que vacinação de fêmeas pré-parto e desmame precoce de leitões já foram descritos como causa para redução da colonização. Dentre os possíveis fatores de risco, estudou-se a interferência da terapia preventiva com antimicrobianos sobre a colonização de *H. parasuis*, *A. pleuropneumoniae* e *S. suis* no trato respiratório de leitões. Após análise preliminar para verificar fêmeas portadoras sadias de *H. parasuis*, *A. pleuropneumoniae* e *S. suis* em fase de final de gestação, 28 fêmeas foram divididas em quatro grupos, sendo que no primeiro grupo as fêmeas e os leitões receberam antimicrobiano preventivo; no segundo grupo somente as fêmeas receberam antimicrobiano preventivo; o terceiro grupo, somente leitões foram medicados e o quarto grupo testemunha, o qual não recebeu antimicrobiano preventivo. No desmame foram colhidos suabes de tonsila de cinco leitões de cada porca, totalizando 35 amostras por grupo, e avaliados para presença dos agentes por meio da PCR. Os resultados demonstraram que a terapia preventiva com antimicrobianos em leitões e fêmeas, reduz a colonização de *H. parasuis* e *S. suis* no trato respiratório de leitões durante a lactação.

Palavras-chave: antibiótico, *H. parasuis*, portador, *S. suis*, suínos, tonsilas

ABSTRACT

PREVENTIVE ANTIMICROBIAL TREATMENT AFFECTING COLONIZATION OF PIGLETS MICROBIOTA RESPIRATORY TRACT

Streptococcus suis, *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus pleuropneumoniae* are responsible for many losses in swine production. These agents can cause meningitis, Glässer disease or pneumonias, respectively. These diseases are considered multifactorial, because the single presence of the agents in the herd is not enough to develop clinical signs. Therefore, the presence of risk factors and potential pathogenic strains associated, represent the key point in the development of the disease. Early colonization of piglets by pathogenic strains was demonstrated as a tool to prevent disease on nursery by *H. parasuis* e *S. suis*. Some risk factors can affect natural colonization by these agents, and sow vaccination on prenatal period and piglets early weaning has been demonstrated as a reduction cause of colonization. Among the factors risk, we studied the interference of preventive antimicrobial treatment on the colonization of piglets respiratory tract by *H. parasuis*, *A. pleuropneumoniae* e *S. suis*. After preliminary analysis to identify healthy carrier sows of *H. parasuis*, *A. pleuropneumoniae* e *S. suis* on late pregnancy period, 28 sows were divided into four groups. The first group, sow and suckling pigs were medicated; in the second group only sow was medicated; in the third group suckling pigs were medicated and finally the last group was kept as control, which did not receive any medication. At weaning, tonsil swabs were collected from five suckling pigs per sow to carry out PCR analysis. Results demonstrated that preventive medication with antimicrobial of sow and piglets can reduce colonization of piglets respiratory tract by *H. parasuis* and *S. suis* during lactation.

Keywords: antibiotic, carrier, *H. parasuis*, *S. suis*, swine, tonsils

INTRODUÇÃO

Devido ao impacto que algumas doenças causam no rebanho, a suinocultura nas últimas décadas vem buscando melhor condição sanitária, por meio da eliminação de agentes específicos e aumento da biossegurança nas granjas. Em casos de doenças causadas por agentes primários, como por exemplo, Doença de Aujeszky e Peste Suína Clássica, deve-se considerar que somente a presença desses agentes no rebanho é suficiente para desencadear a doença e nestes casos, os programas de erradicação representam uma alternativa viável.

Entretanto, alguns agentes podem somente colonizar o trato respiratório superior de leitões sem que a doença clínica seja um problema na granja, como é o caso do *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Porém, a presença desses agentes associados a fatores de risco, pode desencadear manifestações clínicas com alta taxa de morbidade e/ou mortalidade.

Embora *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus pleuropneumoniae* apresentem epidemiologia diferente dos agentes primários, em muitos casos, busca-se a eliminação desses agentes das granjas comerciais. Por outro lado, a colonização precoce por cepas de *H. parasuis* e *S. suis* já foi descrita como uma ferramenta para evitar doença clínica e reduzir o uso de antimicrobianos curativos nas fases subsequentes (TORREMOREL et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2004_a)

Alguns fatores de risco, como por exemplo, desmame precoce e ordem de parto da fêmea, já foram descritos como causa para a redução da colonização do trato respiratório superior de leitões por *H. parasuis* (KIRKWOOD et al., 2001), e por

conseqüência, estes fatores podem aumentar a predisposição para a ocorrência de manifestações clínicas.

Desta forma, visando abordar os possíveis fatores de risco para redução da colonização, o trabalho foi dividido em dois capítulos, sendo o primeiro uma revisão de literatura sobre fatores que podem alterar a colonização do trato respiratório de leitões por agentes como *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus pleuropneumoniae*. No segundo capítulo, em formato de artigo, avaliou-se a interferência do tratamento preventivo com antimicrobianos sobre a colonização do trato respiratório de leitões.

CAPÍTULO 1

FATORES QUE INTERFEREM NA COLONIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO TRATO RESPIRATÓRIO DE LEITÕES – REVISÃO DE LITERATURA

FATORES QUE INTERFEREM NA COLONIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO TRATO RESPIRATÓRIO DE LEITÕES

(Factors Affecting Microbial Colonization of Respiratory Tract of Pigs)

RESUMO - A maioria dos agentes que causam as principais doenças dos suínos pode ser encontrada em todas as granjas, sem necessariamente causar manifestação clínica. Estes agentes fazem parte da microbiota do trato respiratório dos leitões, portanto a sua presença no animal é natural e esperada. Estudos demonstraram que leitões colonizados precocemente por *H. parasuis* e *S. suis* apresentam melhor resposta a estes patógenos na fase subsequente, uma vez que já houve a adaptação do hospedeiro. Porém várias características da granja podem influenciar no sucesso da colonização dos leitões, como uso preventivo de antimicrobianos, emprego de vacinações nas porcas, desmame precoce dos leitões, adaptação sanitária inadequada das leitoas, manejo de colostro deficiente e transferência de leitões na maternidade. Deste modo, o objetivo desta revisão é apresentar e discutir algumas práticas de manejo que podem auxiliar no estabelecimento de equilíbrio entre animais e microbiota, evitando a ocorrência dessas doenças no rebanho.

Palavras chave: exclusão competitiva, *H. parasuis*, portador sadio, *S. suis*, suínos

ABSTRACT - Most agents that cause diseases in pigs are commonly found in all farms, but do not necessarily cause clinical signs. These agents are part of microbiota and their presence in herd is natural and expected. Studies have shown

that piglets early colonized by *H. parasuis* e *S. suis* tend to demonstrate a better response to these pathogens in the subsequent phase, since the animal has adapted when the pressure of infection increases. Several characteristics of the farm may influence the success of piglets colonization, as preventive use of antibiotics, use of sow vaccinations, early weaning of piglets, inadequate health adaptation of gilts, deficient management of colostrum and cross fostering. Thus, the purpose of this review is to present and discuss some management practices that can assist in establishing a balance between animal and microbiota, avoiding clinical disease.

Key Words: competitive exclusion, *H. parasuis*, healthy carrier, *S. suis*, suínos

1.1. INTRODUÇÃO

A forma intensiva de produção de suínos cria condições favoráveis à manifestação de doenças, pois as principais enfermidades que acometem os suínos são multifatoriais, sendo desencadeadas por fatores de risco existentes nas granjas. Em condições de criações comerciais, poucos suínos chegam ao peso final sem terem adquirido alguma doença, tais como pneumonia, pleurite ou outras infecções. O impacto econômico deve-se à diminuição na taxa de crescimento, aumento da conversão alimentar, aumento no uso de antimicrobianos, eliminação de animais doentes e mortes (SORENSEN et al., 2006).

Alguns agentes que causam as principais doenças dos suínos podem ser encontrados em todas as granjas, sem necessariamente causar manifestação clínica. Estes agentes fazem parte da microbiota do trato respiratório superior dos

suínos (HORTER et al., 2003), portanto a presença dos mesmos no animal ou no rebanho é natural e esperada. Quando o equilíbrio entre animal e microbiota é alterado com práticas de manejo inadequadas, estes agentes podem atuar de inúmeras formas, causando diferentes lesões, conseqüentemente ocasionando perdas diretas, levando o animal à morte; ou indiretas, afetando principalmente a conversão alimentar. Como exemplo citam-se *Pasteurella multocida*, causadora de broncopneumonia, *Haemophilus parasuis*, o qual é o agente responsável pela Doença de Glässer, caracterizada por severa poliserosite e o *S. suis*, que por sua vez, é responsável principalmente pela meningite estreptocócica, podendo também causar artrites e peritonite. Embora o *A. pleuropneumoniae* não seja encontrado em todas as granjas comerciais, este agente também pode colonizar animais sadios, sem que a pleuropneumonia seja um problema (SIBIDÉ et al., 1993; KICH et al., 2000).

Por outro lado, existem doenças na suinocultura, as quais os agentes são considerados primários, por exemplo, vírus da Doença de Aujeszky e Peste suína Clássica, pois somente a presença destes agentes no rebanho é suficiente para desencadear doença clínica (SOBESTIANSKY et al., 2007).

Geralmente os estudos com doença procuram demonstrar quais são os agentes envolvidos, porém são escassas as pesquisas demonstrando que agentes como *H. parasuis*, *A. pleuropneumoniae* e *S. suis* podem colonizar animais sadios, sem que a doença clínica seja um problema na granja. Deste modo, o objetivo desta revisão é apresentar e discutir algumas práticas de manejo que podem auxiliar no estabelecimento de equilíbrio entre hospedeiro e estes agentes.

1.2. COLONIZAÇÃO E IMUNIDADE

O leitão ao nascer é colonizado por uma série de microrganismos, sendo a porca e o ambiente as principais fontes desses agentes. A colonização pela microbiota do trato respiratório deve ocorrer nas fases em que os leitões apresentam imunidade e por isso a fase de aleitamento torna-se a mais importante. A imunidade passiva transferida pelo colostro não interfere na colonização da mucosa nasal e tonsilar por agentes como *A. pleuropneumoniae* (CHIERS et al., 2002) e permite que a colonização ocorra sem desencadeamento da doença.

Alguns agentes como o *S. suis* colonizam os leitões já no momento do nascimento (AMASS, et al., 1995) e outros colonizam ao longo da lactação, como o *H. parasuis* (KIRKWOOD et al, 2001, CERDÀ-CUÉLLAR et al, 2010) e *A. pleuropneumoniae* (CHIERS, et al, 2002).

O mecanismo de utilizar a colonização precoce por cepas potencialmente patogênicas da própria granja para evitar a manifestação clínica da doença nas fases subseqüentes, foram demonstradas utilizando as bactérias *S. suis* (TORREMORELL et al, 1999, OLIVEIRA et al., 2001) e *H. parasuis* (OLIVEIRA et al., 2001, OLIVEIRA et al., 2004_a). No estudo realizado por OLIVEIRA et al., (2001) foram infectados experimentalmente leitões com cepas patogênicas de *H. parasuis* e *S. suis*, por meio de dois protocolos diferentes, ou seja, pelo contato com porcas previamente infectadas antes do parto ou, infecção direta dos leitões aos cinco dias de idade. Ambos os protocolos foram seguros e permitiram a colonização dos leitões, reduzindo a incidência da doença na fase de creche. No estudo de TORREMORELL et al. (1999), infectaram-se experimentalmente leitões com cinco dias de idade, com cepas de *S. suis* tipo 2 previamente isoladas de leitões com

quadro clínico de meningite. A infecção experimental preveniu o aparecimento das doenças causadas pelo *S. suis*.

Apesar da exposição precoce à estes agentes, associada à imunidade materna ser uma excelente ferramenta para evitar doenças, esta colonização deve ser uniforme no rebanho. Em algumas doenças, como por exemplo, a meningite estreptocócica, a presença de poucos portadores sadios associado a fatores de risco como ambiência inadequada, é suficiente para desencadear a doença clínica no rebanho (QUINN et al., 2005). Assim sendo, poucos animais colonizados em meio a animais não colonizados pode ser um risco potencial para desencadear a doença no rebanho na fase de creche.

Devido aos grandes prejuízos que estes agentes causam, sua erradicação já foi proposta para reduzir os riscos de doenças nas granjas. Em 1997, TEMPLETON, trouxe esse questionamento a ponto de culminar seu artigo com a pergunta “*Haemophilus parasuis*: Eliminação ou Controle?” Neste mesmo trabalho, a autora sugere que a práticas de manejo para melhorar o estado sanitário dos rebanhos contribuiu fortemente para o aumento na incidência da Doença de Glässer. Deve-se considerar que a eliminação de uma bactéria em um ambiente abre vaga para novo organismo, o qual estava sendo excluído pela presença da primeira e na maioria das vezes, o novo organismo tem impacto absolutamente imprevisível (FIORENTIN, s.d). Neste sentido, BÄUMLER et al., (2000) sugeriram que a alta frequência da contaminação de ovos de galinhas e a ocorrência surtos de infecções por *Salmonella* Enteritidis em seres humanos está relacionada à exclusão competitiva de agentes específicos. Segundo os autores, a *S. Enteritidis*, que antes se restringia aos roedores, passou a ocupar nicho deixado nas criações de aves comerciais pela

erradicação de *S. Pullorum-Gallinarum*. Em outras palavras, a infecção por *S. Pullorum-Gallinarum* proporcionava exclusão competitiva de *S. Enteritidis*.

São descritas diferentes formas de exclusão competitiva que impedem a colonização de agentes na mucosa, variando desde competição por sítios de ligação, competição por nutrientes, aprimoramento da imunidade do hospedeiro ou ainda, produção de compostos com propriedades antimicrobianas (GUARNER et al., 2003; CALLAWAY et al., 2008). Estes mecanismos de exclusão podem ser explorados no sentido de evitar colonização e sinais clínicos, porém para que isto ocorra com sucesso, faz-se necessário o entendimento do mecanismo de ação do agente patogênico ao infectar o animal e causar doença.

Em condições normais, alguns agentes patogênicos precisam de um sítio de ligação para se fixar no hospedeiro e a partir daí iniciar sua multiplicação (REID et al., 2001). Baseado nesse conceito, a competição por sítios específicos é uma forma interessante de controlar a manifestação clínica de alguns patógenos. Neste caso, a exclusão competitiva é baseada em cepas com diferentes graus de patogenicidade, porém com antígenos comuns. Uma vez que o sítio de ligação em questão está ocupado por bactérias menos virulentas, porém com antígenos comuns às cepas virulentas, este sítio não estará disponível para a fixação de cepas mais virulentas (NURMI e RANTALA, 1973), caso a mesma esteja presente na granja.

1.3. FATORES QUE INTERFEREM NA COLONIZAÇÃO

Várias características da granja podem influenciar no sucesso da colonização dos leitões, como o uso preventivo de antimicrobianos, emprego de vacinações para controle de agentes nas porcas e desmame precoce dos leitões com idade inferior a

21 dias. Ainda, algumas práticas de manejo podem interferir no processo de transferência da microbiota da porca para o leitão, por exemplo, a adaptação sanitária inadequada das leitoas, o manejo de colostro deficiente e a transferência de leitões entre porcas na maternidade.

1.3.1. Manejo de leitoas

Ao adquirir novas leitoas, as mesmas devem passar pelo processo conhecido como quarentena, em que o principal objetivo é evitar a introdução de agentes exóticos na granja. Porém, deve-se considerar que após o período de quarentena deve ser realizada a adaptação sanitária das leitoas aos agentes presentes na granja, como por exemplo parvovírus, *M. hyopneumoniae*, *P. multocida*, *S. suis* e *H. parasuis* (HEUSER, 1999).

A adaptação sanitária das leitoas, além de evitar desenvolvimento de doenças no período próximo a cobertura, também contribui para a colonização de seus leitões durante a fase de lactação, pois as leitoas além de transferirem menos imunidade passiva aos seus leitões, possuem menor capacidade de transferência de microbiota para suas leitegadas. Em estudo realizado por KIRKWOOD et al. (2001), foi observado que leitões filhos de porcas mais velhas tiveram percentual maior de colonização por *H. parasuis* quando comparados com filhos de primíparas. Deste modo, os leitões filhos de primíparas são considerados potenciais amplificadores de doenças, pois adoecem mais facilmente, amplificando os patógenos e aumentando a pressão de infecção, de tal forma que, os leitões que normalmente não desenvolveriam a doença, passam a adoecer devido ao desafio muito elevado. Portanto, a adaptação sanitária das leitoas deve ser realizada logo após a quarentena, sendo que a soma destes dois processos deve ter duração mínima de

dois meses (HEUSER, 1999). As leitões devem ser adquiridas mais jovens possível, pois quanto maior o período de adaptação com a microbiota da nova granja antes da primeira cobertura, melhor a transferência de anticorpos e microbiota para os leitões.

1.3.2. Uso de antimicrobianos preventivo

O uso de antimicrobianos é amplamente empregado na suinocultura, sendo de extrema importância, pois é utilizado em programas preventivos, curativos ou ainda, em programas de erradicação de agentes.

O desenvolvimento de resistência de alguns microorganismos frente aos antimicrobianos já foi descrito em várias espécies. ZIEBUHR et al., (2006) observaram que o *Staphylococcus epidermidis*, causador de infecções hospitalares difere do encontrado nas superfícies da pele, principalmente quanto ao perfil de resistência aos antimicrobianos, entre outras características. Neste caso, foi demonstrado que a utilização de antimicrobianos pode alterar alguns agentes da microbiota, e por consequência, tornar um agente comensal em patogênico. Neste sentido, granjas que utilizam antimicrobianos de forma preventiva sem critério, por um longo período, podem representar um fator de risco importante para a seleção de agentes mais resistentes, tanto de cepas patogênicas, bem como de cepas que colonizam animais saudáveis. ZHANG et al., (2008) observaram que 22% das amostras isoladas de *S. suis* de porcas saudáveis na China apresentam resistência para ceftiofur.

Ainda não é muito conhecido o impacto do tratamento com antimicrobianos sobre a colonização de leitões, porém a prática de medicar leitões e porcas preventivamente na maternidade é muito disseminada na suinocultura tecnificada. Alguns critérios importantes que devem ser avaliados ao iniciar um tratamento

incluem o período do tratamento, a avaliação dos animais a serem tratados, conforme fase de produção e o espectro do princípio ativo utilizado.

Com o aumento da resistência dos microorganismos aos antimicrobianos utilizados, torna-se cada vez mais importante o entendimento e principalmente, o uso racional de antimicrobianos e a avaliação de técnicas alternativas para evitar e controlar doenças. Em trabalho descrito por OLIVEIRA et al. (2001), foi observado que a colonização precoce com cepas sistêmicas de *H. parasuis* presentes no rebanho, podem ser usadas seguramente para tentar prevenir e controlar infecções de ambos organismos durante o período de creche.

1.3.3. Manejo de Colostro e Idade de desmame

As porcas possuem placenta epitéliocorial e, portanto, não existe transferência de anticorpos para os fetos via placenta (BOURNE et al., 1978). Deste modo, os leitões dependem da ingestão imediata do colostro para receber a imunidade passiva da mãe, sendo que a concentração de imunoglobulinas tipo G no plasma de leitões neonatos está positivamente relacionada com a taxa de sobrevivência dos mesmos (HEIM et al., 2011). Como o epitélio intestinal dos leitões neonatos é permeável a macromoléculas, como as imunoglobulinas, apenas nas primeiras horas de vida, a partir de 12 horas de nascimento esta transferência começa a diminuir, e torna-se praticamente nula entre 24 e 36 horas pós-parto. A concentração total de imunoglobulinas reduz em média 3,4% para cada hora decorrida após o parto (KLOBASA, et. al.,1987) (Figura 1), portanto a máxima transferência de imunidade via colostro ocorre nas primeiras horas de vida do leitão.

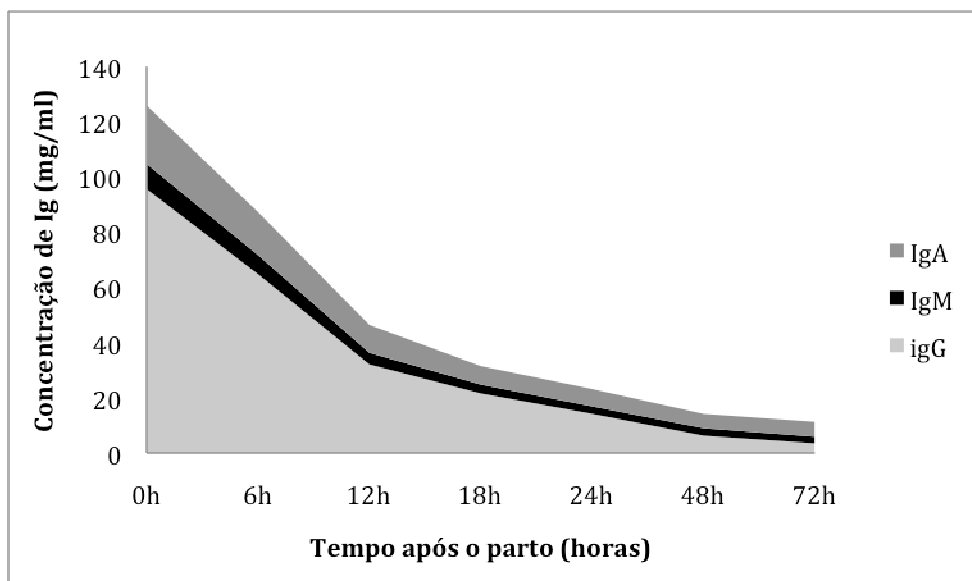


Figura 1 – Concentração de imunoglobulinas no colostro segundo as horas após o parto (Adaptado de KLOBASA, et al., 1987).

Deste modo, os leitões devem ser estimulados a mamar imediatamente após o parto (MORÉS et al., 1998) e também deve ser permitido o acesso ao aparelho mamário independente do porte do leitão, pois o contato direto com a fêmea associado à imunidade passiva, permite que o leitão seja colonizado e não desenvolva doença clínica. Ainda, a transferência de leitões entre porcas para uniformizar o lote deve ser utilizada com critério, não sendo recomendado transferir após as 24 horas de nascimento para equilibrar peso de leitegada, pois os novos reagrupamentos além de provocarem brigas e diminuírem o peso de desmame (ROBERT e MARTINEAU, 2001), podem gerar novos desequilíbrios de colonização e imunidade.

Além de um correto manejo de colostro, a idade de desmame é extremamente importante, pois animais que permanecem um período maior em contato com a mãe, tendem a apresentar melhor colonização pela microbiota. Em estudo realizado por KIRKWOOD et al. (2001), foi observado que leitões desmamados com 21 dias, apresentaram percentual maior de colonização por *H.*

parasuis quando comparados com leitões desmamados aos 14 dias de idade. Ainda, granjas que praticam o desmame precoce segregado, onde os leitões permanecem pouco tempo com a porca após o nascimento, tendem a apresentar maior risco de desencadeamento de doenças como Glässer e meningite estreptocócica. (PIJOAN et al., 1997; NIELSEN et al., 1975). Nestes casos, os programas de desmame precoce segregado têm como principal objetivo eliminar alguns agentes específicos do rebanho, e com isso, a redução do tempo de contato entre porca e leitão associada à administração de antimicrobianos pode reduzir a transferência de microbiota da mãe para seus filhos. A reprodução experimental da doença de Glässer foi já descrita em leitões derivados de cesariana e privados de colostro (VAHLE et al., 1995), demonstrando que a imunidade passiva é um dos pontos chave para evitar doença clínica.

1.3.4. Uso de vacinas

Os programas de vacinação tem o objetivo de induzir resposta do hospedeiro frente a um antígeno apresentado. Para um adequado programa de vacinação, não só a vacina é importante, mas principalmente a resposta do hospedeiro frente a este desafio. Ao estabelecer a idade para administração das vacinas, é importante considerar a fase da vida em que o leitão entra em contato com o agente, bem como a fase de maior desafio frente a este patógeno.

As vacinas apresentam vantagens quando comparadas com outras ferramentas de controle de doenças, porém o emprego das mesmas para o controle de agentes que fazem parte da microbiota merece avaliação criteriosa, pois os efeitos podem não ser vantajosos para todas as granjas. Embora as vacinas quando administradas em fêmeas no pré-parto aumentem a transferência de imunidade

passiva, as mesmas podem diminuir a colonização dos leitões. CERDÀ-CUÉLLAR et al., (2010) observaram que a vacinação de porcas para *H. parasuis* além de reduzir a colonização do trato respiratório superior de leitões, também reduziu a variabilidade das cepas de *H. parasuis* colonizando os leitões. TORREMORELL et al., (1998), em estudo com colonização natural de leitões por *S. suis*, verificaram que leitões filhos de porcas vacinadas com vacina comercial para *S. suis* 2, apresentaram menor percentual de colonização por *S. suis* 2 na desmama, mas não houve interferência no percentual total de colonização por todos os *S. suis* pesquisados.

É importante ressaltar que a proteção adquirida com o uso das vacinas normalmente é sorotipo específica, portanto antes de implantar a vacinação para determinado agente, é imprescindível o diagnóstico e sorotipagem do agente responsável pelas manifestações clínicas. Foi observado que para controle de rebanhos que apresentavam Doença de Glässer, as vacinas autógenas apresentaram melhores resultados quando comparadas às comerciais (OLIVEIRA et al., 2004_b; OLIVEIRA et al., 2007).

Ferramentas como vacinas, as quais podem ser uma vantagem no controle de algumas doenças, uma vez que busca-se efeito na redução da colonização, podem gerar animais mais susceptíveis a doenças nas fases de creche ou de recria, pois os leitões recebem imunidade, por meio do colostro, porém não se contaminam no mesmo momento. O uso de vacinas para agentes da microbiota deve ser recomendado para granjas em que existem problemas sanitários relevantes, e sendo que o uso dessas vacinas em granjas sem problema sanitário além de não evitar o aparecimento da doença, pode gerar animais mais susceptíveis à doença para qual eles foram vacinados.

1.4. CONCLUSÕES

As estratégias adotadas para controle de doenças causadas por agentes como *H. parasuis* e *S. suis*, nas últimas décadas têm sido ineficientes. Práticas que evitam a excreção de agentes da microbiota comprometem diretamente a colonização dos animais mais jovens e conseqüentemente provocam desequilíbrio no status sanitário do plantel. Ferramentas como vacinas e antimicrobianos estão disponíveis, porém é importante identificar em que momento e ocasião é necessário implantar vacinas para diminuir a excreção de agentes que cedo ou tarde infectarão o animal ou o rebanho. Deste modo, as evidências científicas indicam que o futuro será conviver com estes agentes, respeitando o equilíbrio natural entre hospedeiros e sua microbiota.

Com o conhecimento disponível, as seguintes medidas de manejo e controle poderiam ser consideradas na modulação da colonização de agentes bacterianos como *H. parasuis* e *S. suis*:

1. Não desmamar com menos de 21 dias de idade;
2. Adaptar as leitoas à microbiota da granja logo após o período de quarentena;
3. Realizar manejo de colostro adequado para todos leitões;
4. Avaliar necessidade de vacinas para cada granja;
5. Evitar tratamentos preventivos com antimicrobianos em leitões e porcas na maternidade.

REFERÊNCIAS

AMASS, S.F.; CLARK, L.K.; WU, C.C. Source and timing of *Streptococcus suis* infection in neonatal pigs: Implications for early weaning procedures. **Swine Health and Production**, v.3, n.5, p.189-193, 1995.

BÄUMLER, A.J.; HARGIS, B.M.; TSOLIS, R.M. Tracing the Origins of *Salmonella* Outbreaks. **Science**, v.7, n.287, p.50-52, 2000.

BOURNE, F.J.; NEWBY, T.J.; EVANS, P; MORGAN, K. The immune requirements of the newborn pig and calf. **Annales de Recherches Vétérinaires**, v.9, p.239-244, 1978.

CALLAWAY, T.R.; EDRINGTON, T.S.; ANDERSON, R.C.; HARVEY, R.B.; GENOVESE, K.J.; KENNEDY, C.N.; VENN, D.W.; NISBET, D.J. Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. **Animal Health Research Reviews**, v.9, n.2, p.217–225, 2008.

CERDÀ-CUÉLLAR, M.; NARANJO, J.F.; VERGE, A.; NOFRARÍAS, M.; CORTEY, M; OLVERA, A.; SEGALÉS, J.; ARAGON, V. Sow vaccination modulates the colonization of piglets by *Haemophilus parasuis*. **Veterinary Microbiology**, v.145, p.315-320, 2010.

CHIERS, K.; DONNÉ, E.; OVERBEKE, I.V.; DUCATELLE, R.; HAESEBROUCK, F. *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in closed swine herds: infectious patterns and serological profiles. **Veterinary Microbiology**, v.85, p.343-352, 2002.

FIORENTIN, L. *Salmonella* Enteritidis: um interessante caso de dinâmica de populações bacterianas. **CNPSA-EMBRAPA**. Artigo 486, S.d. www.cnpsa.embrapa.br

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.R. Gut flora in health and disease. **Lancet**, v.360, p.512-518, 2003.

HEIM, G.; MELLAGI, A.P.G.; BIERHALS, T.; PIUCO, P.; SOUZA, L.P.; GAVA, D.; CANAL, C.W.; BERNARDI, M.L.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P. Absorção de IgG via colostro em leitões biológicos e adotados após a uniformização da leitegada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.5, p.1073-1078, 2011.

HEUSER, W. Gilt pool management acclimatization and verification. **Proceedings...** American Association of Swine Practitioners. p.469-471, 1999.

HORTER, D.C.; YOON, K.J.; ZIMMERMAN, J.J. A review of porcine tonsils in immunity and disease. **Animal Health Research Reviews**, v.4, n.2, p.143-155, 2003.

KICH, J.D.; PIFFER, I.A.; BARCELLOS, D.E.S.N; GUIDONI, A.L.; KLEIN, C.S.; FÁVERO, M.B.B.; VIZZOTTO, R. Comparação de métodos de isolamento de bactérias NAD-dependentes do trato respiratório superior de suínos sadios. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, 1, p.1-6, 2000.

KIRKWOOD, R.N.; RAWLUK, S.A.; CEGIELSKY, A.C.; OTTO, A.J. Effect of pig age and autogenous sow vaccination on nasal mucosal colonization of pigs by *Haemophilus parasuis*. **Journal of Swine Health and Production**, v.9, n.2, p.77-79, 2001.

KLOBASA, F.; WERHAHN, E.; BUTLER, J.E. Composition of sow milk during lactation. **Journal of Animal Science**, v.64, p.1458-1466, 1987.

MORES, N.; SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; MORENO, A.M. Manejo do leitão desde o nascimento até o abate. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P.R.S.; SESTI, L.A.C. **Suinocultura Intensiva**. Brasília. Embrapa, 1998. p.142-145.

NIELSEN, R.; DANIELSEN, V. An outbreak of Glässer's disease: Studies of etiology, serology, and effect of vaccination. **Nordisk Veterinær Medicin**. v.27, p.20-25, 1975.

NURMI, E., RANTALA, M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. **Nature**, v.241, p.210-211, 1973.

OLIVEIRA, S.; BATISTA, L.; TORREMORELL, M.; PIJOAN, C. Experimental colonization of piglets and gilts with systemic strains of *Haemophilus parasuis* and *Streptococcus suis* to prevent disease. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v.65, p.161-167, 2001.

OLIVEIRA, S.; PIJOAN, C., MORRISON, R. Evaluation of *Haemophilus parasuis* control in the nursery using vaccination and controlled exposure. **Journal of Swine Health and Production**, v.12, n.3, p.123-128, 2004_a.

OLIVEIRA, S.; PIJOAN, C. *Haemophilus parasuis*: New trends on diagnosis, epidemiology and control. **Veterinary Microbiology**, v.99, p.1-12, 2004_b.

OLIVEIRA, S. Infecções respiratórias por *Haemophilus parasuis* e *Actinobacillus suis*: infecções emergentes. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, p.193-198, 2007.

PIJOAN, C.; TORREMORELL, M.; SOLANO, G. Colonization patterns by the bacterial flora of young pigs. **Proceedings...** American Association Swine Practitioners, p.463–464, 1997.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. Estreptococos. In: **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. Porto Alegre: Artmed, p.61-66, 2005.

REID G.; HOWARD, J.; GAN, B.S. Can bacterial interference prevent infection? **Trends in Microbiology**, v.9, p.424-428, 2001.

ROBERT, S.; MARTINEAU, G.P. Effects of repeated cross-fostering on preweaning behavior and growth performance of piglets and on maternal behavior of sows. **Journal of Animal Science**, v.79, p.88-93, 2001.

SIDIBÉ, M.; MESSIER, S.; LARIVIERE, S.; GOTTSCHALK, M.; MITTAL, K.R. Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the upper respiratory tract as a complement to serological tests. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.57, p.204-208, 1993.

SOBESTIANSKY, J.; WEIBLEN, R.; MORÉS, N.; REIS, R.; BARCELLOS, D. Classificação das Doenças. In: BARCELLOS, D.; SOBESTIANSKY, J. **Doenças dos Suínos**. Goiânia: Cãnone Editorial, 2007, p.15-19.

SORENSEN, V.; JORSAL S.E.; MOUSING. Diseases of the Respiratory System. In: STRAW B., ZIMMERMAN J., ALLAIRE S., TAYLOR D. **Diseases of Swine**. 9th ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006, p.149-177.

TEMPLETON, C. *Haemophilus parasuis* – Elimination or control? **Proceedings...** American Association Swine Practitioners. p.389-391, 1997.

TORREMORELL, M.; PIJOAN, C.; DEE, S. Experimental exposure of young pigs using a pathogenic strain of *Streptococcus suis* serotype 2 and evaluation of this method for disease prevention. **Canadian Journal of Veterinay Research**, v.63, p. 269-275, 1999.

TORREMORELL, M; CALSAMIGLIA, M.; PIJOAN, C. Colonization of suckling pigs by *Streptococcus suis* with particular reference to pathogenic serotype 2 strains. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.62, p.21-26, 1998.

VAHLE, J.L.; HAYNES, J.S.; ANDREWS, J.J. Experimental reproduction of *Haemophilus parasuis* infection in swine: clinical, bacteriologic, and morphologic findings. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p.476-480, 1995.

ZHANG, C.; NING, Y.; ZHANG, Z.; SONG, L.; QIU, H; GAO, H. In vitro antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* strains isolated from clinically healthy sows in China. **Veterinary Microbiology**, v.131, p.386-392, 2008.

ZIEBUHR, W.; HENNIG, S.; ECKART, M.; KRÄNZLER, H.; BATZILLA, C.; KOZITSKAYA, S. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.28, p.14-20, 2006.

CAPÍTULO 2

O TRATAMENTO PREVENTIVO COM ANTIMICROBIANOS AFETA A COLONIZAÇÃO DE LEITÕES?

O TRATAMENTO PREVENTIVO COM ANTIMICROBIANOS AFETA A COLONIZAÇÃO DE LEITÕES?

(Does preventive medication with antimicrobial affect colonization of piglets?)

RESUMO - O objetivo do estudo foi verificar a interferência da medicação preventiva de porcas e leitões sobre a colonização do trato respiratório de leitões por agentes como *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae*. Foram estudadas 92 fêmeas em fase final de gestação e testadas por PCR para presença de *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae*. Vinte e oito fêmeas com resultado positivo para os três agentes foram selecionadas para o experimento, e foram divididas em quatro grupos, sendo que no primeiro a mãe e o leitão receberam antimicrobiano; no segundo somente a porca; no terceiro grupo somente os leitões foram medicados e finalmente o último grupo testemunha, o qual não recebeu nenhum antimicrobiano. No desmame foram colhidos suabes de tonsilas de 35 leitões de cada grupo, sendo cinco leitões provenientes de cada fêmea, para análise de PCR para os seguintes agentes: *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae*. Os leitões provenientes dos grupos que receberam antimicrobiano preventivo apresentaram menor percentual de colonização por *H. parasuis* e *S. suis*, demonstrando que a terapia preventiva com antimicrobianos em fêmeas na fase de lactação e leitões, reduz a colonização desses agentes no trato respiratório de leitões.

Palavras-Chave: antimicrobianos, *H. parasuis*, PCR, portador, *S. suis*, suínos, tonsila

ABSTRACT - The aim of the study was to verify the interference of preventive medication of sow and piglets on colonization of piglets respiratory tract by *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae*. Ninety-two sows on late pregnancy phase were studied and tested by PCR for presence of *H. parasuis*, *S. suis* and *A. pleuropneumoniae*. Twenty eighth sows, positive for the three bacteria, were selected and divided into four groups. The first group, sow and suckling pigs were medicated; in the second group only sow was medicated; in the third group suckling pigs were medicated and finally the last group was kept as control and did not receive any medication. At weaning, tonsil swabs were collected from 35 suckling pigs of each group, five from each sow, to carry out PCR analysis to *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae*. Piglets from preventive medicated groups presented significative reduction for the presence of *H. parasuis* and *S. suis*, demonstrating that preventive medication of sow and piglets can affect piglets colonization by these agents during lactation.

Key Words – antibiotics, carrier, *H. parasuis*, PCR, *S. suis*, swine, tonsils

2.1. INTRODUÇÃO

As bactérias *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae* são agentes etiológicos de doenças que causam grandes prejuízos à suinocultura e acometem suínos em várias fases de produção. O *H. parasuis* é o agente causador da doença de Glässer, caracterizada por severa poliserosite, enquanto o quadro mais clássico causado pelo *S. suis* é a meningite estreptocócica. Estes agentes podem causar alta

taxa de mortalidade ou ainda aumentar a taxa de conversão alimentar e reduzir ganho de peso dos animais (MACINNES et al., 1999).

Agentes como *H. parasuis* e *S. suis* estão presentes em todas as granjas comerciais, sendo que leitões entram em contato com estes agentes ainda na maternidade, quando a imunidade passiva está presente. Embora o *A. pleuropneumoniae* não seja identificado em todos dos rebanhos, quando presente, este agente pode causar severa pleuropneumonia ou somente colonizar o trato respiratório superior de leitões e não causar manifestação clínica. A porca e o ambiente representam as principais fontes desses microrganismos, e a colonização pode ocorrer durante o parto, como é o caso do *S. suis* (AMASS, et al., 1995) ou ao longo da lactação, como o *H. parasuis* (CERDÁ-CUÈLLAR et al, 2010, KIRKWOOD et al., 2001) e o *A. pleuropneumoniae* (CHIERS, et al, 2002).

A colonização precoce por cepas de *S. suis* e *H. parasuis* é um evento biológico que pode auxiliar na prevenção da doença clínica na fase de creche. OLIVEIRA et al. (2001_a) demonstraram que a infecção precoce de leitões por cepas de *H. parasuis* reduziu a mortalidade na fase de creche, e também a necessidade do uso de antimicrobianos para tratamentos curativos. A colonização precoce por cepas de *S. suis* para evitar doença na fase subsequente também foi demonstrada (TORREMOREL et al., 1999).

Sendo a mãe uma das fontes mais importantes de transmissão de infecção para o leitão, medidas de manejo que alteram excreção desses agentes pela porca, podem interferir diretamente na colonização precoce do trato respiratório de leitões, como por exemplo, vacinação na fêmea no período pré-parto (CERDÁ CUÈLLAR et al., 2010). A redução do tempo de contato entre porca e leitão, por meio do

desmame precoce, também foi demonstrada como fator de risco para reduzir a colonização de leitões (KIRKWOOD et al., 2001).

A medicação preventiva em leitões é utilizada na suinocultura com a finalidade de evitar diarreias neonatais e outras doenças durante a fase de aleitamento. Quando realizada, normalmente é administrada no primeiro dia de vida do leitão, logo após o nascimento. Também é comum a medicação preventiva das fêmeas durante a fase de lactação, com o intuito de evitar infecções puerperais ou urinárias, pois é nesta fase que ocorre a maior incidência dessas infecções (ALBERTON et al., 2000).

Pouco se conhece sobre o real impacto do tratamento preventivo com antimicrobianos sobre a colonização de patógenos respiratórios como *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* e *S. suis*, portanto, o objetivo do trabalho foi verificar a interferência da medicação preventiva de leitões e porcas sobre a colonização do trato respiratório de leitões.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma granja de 1000 matrizes suínas, com manejo semanal, localizada em Santa Catarina, Brasil, no período de janeiro a março de 2011. A granja é composta de três setores segregados; gestação, maternidade e creche, e possui boas práticas de biossegurança. A granja apresenta histórico de surtos de doença de Glässer, no entanto, casos clínicos de pleuropneumonia e meningite estreptocócica não foram relatados nos últimos três anos.

2.2.1. Delineamento experimental

Foram pesquisados os agentes *A. pleuropneumoniae*, *S. suis* e *H. parasuis* a partir de suabes de tonsilas de 92 fêmeas em fase final de gestação, com ordem de parto variando de dois a seis e escore corporal variando de três a quatro. Para a colheita de amostra, as fêmeas foram contidas e com auxílio do abridor de boca, após a localização das tonsilas, foi realizada a colheita do suabe de tonsila para análise por PCR. Vinte e oito fêmeas que apresentaram resultado positivo para presença dos três agentes foram incluídas no experimento. As porcas foram distribuídas nos quatro tratamentos, sendo que cada grupo foi composto de sete fêmeas e suas respectivas leitegadas conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Delineamento experimental com distribuição dos animais nos grupos tratados ou não com antimicrobianos

Grupo	n	Princípio Ativo	Via administração	Dose	Período
T1	7	Fêmeas: florfenicol	Oral (Ração)	30 ppm	Durante 25 dias
		Leitões: ceftiofur	Intramuscular	2mg/Kg	Ao nascer*
T2	7	Fêmeas: florfenicol	Oral (Ração)	30 ppm	Durante 25 dias
		Leitões: não medicados	-	-	-
T3	7	Fêmeas: não medicadas	-	-	-
		Leitões: ceftiofur	Intramuscular	2mg/Kg	Ao nascer*
T4	7	Fêmeas: não medicadas	-	-	-
		Leitões: não medicadas	-	-	-

* Nas primeiras 4h após o parto

A eleição dos princípios ativos utilizados no experimento foi baseada no histórico das análises de sensibilidade *in vitro* de amostras isoladas dos últimos episódios de mortalidade por *H. parasuis*, as quais apresentaram 100% (13/13) de sensibilidade para o ceftiofur e 92,3% (12/13) para o florfenicol.

As fêmeas do grupo T1 e T2 receberam medicação preventiva via ração na dose 30ppm de florfenicol, três dias antes da data prevista do parto até o desmame, sendo que foi considerado consumo médio de ração de 4,3kg/dia e portanto a dose

média de princípio ativo utilizada foi 2,5mg/Kg. Todos os leitões dos grupos T1 e T3 receberam medicação preventiva via parenteral intramuscular (cloridrato de ceftiofur 2mg/kg) nas primeiras 4h após o parto. O grupo T4 é o grupo testemunha, pois fêmeas e leitões não foram tratados com antimicrobiano preventivo.

Durante o estudo, não houve transferência de leitões entre fêmeas na maternidade, para uniformização de lotes. Em leitegadas com mais de 12 leitões nascidos vivos, os leitões excedentes foram remanejados para outras porcas e excluídos do experimento.

Na ocasião do desmame foram selecionados aleatoriamente leitões que apresentavam bom desenvolvimento e após a contenção física dos animais, foram amostrados suabes de tonsila de cinco leitões de cada porca, totalizando 35 amostras por grupo. Todas as coletas foram realizadas em triplicata, sendo uma amostra para pesquisa de cada agente: *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae*. As amostras foram identificadas, armazenadas em tubos estéreis e mantidas sob refrigeração entre 4 a 8°C até o processamento no laboratório.

2.2.2. Processamento das amostras

2.2.2.1. Detecção de *Actinobacillus pleuropneumoniae*

A amostra de suabe de tonsila foi emergida em BHI com NAD e lincomicina–bacitracina (PIJOAN et al., 1983) e incubada a 37°C por 18h. Após o pré-enriquecimento, foi colhido 1 mL do caldo e realizada a extração do DNA, utilizando kit comercial de coluna (Prep Seq[®])¹. A reação para detecção de *A. pleuropneumoniae* foi realizada por meio da PCR, conforme técnica descrita previamente (SCHALLER et al., 2001), utilizando o par de iniciadores APXIVA-1L 5'

¹ Prep Seq – Invitrogen Life Technologies

TGG CAC TGA CGG TGA TGA 3' e APXIVA-1R 5'GGC CAT CGA CTC AAC CAT 3'. Em uma reação de 25 µL, contendo 10 mM Tris-HCl pH 8,3; 1,5 mM MgCl₂; 50 mM KCl; 0,005% de Tween 20; 170 µM de cada dNTP; 0,25 µM de cada iniciador; 0,5 U de Taq polimerase (QIAGEN) e 5 ng de DNA. O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial de 94°C por 10 minutos, seguido de 35 ciclos compostos por desnaturação por 30s a 94°C, anelamento de iniciador por 30s a 52°C, extensão por 30s a 72°C e finalmente uma extensão de 7 minutos a 72°C. Os produtos de PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 1% por 40 minutos a 110V. Os géis foram corados com solução de brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta. Amostras positivas apresentam 422pb, utilizando um marcador de peso molecular (TrackIt® 100 bp DNA Ladder)².

2.2.2.2. Detecção de *H. parasuis*

A amostra de suabe de tonsila foi emergida em salina 0,85% estéril e homogeneizada. Foi colhido 1 mL do caldo e realizada a extração do DNA, utilizando kit de coluna (Prep Seq® - Invitrogen). A reação para detecção de *H. parasuis* foi realizada por meio da PCR, conforme técnica descrita previamente (OLIVEIRA et al., 2001_b), utilizando o par de iniciadores HPSF 5'GTG ATG AGG AAG GGT GGT GT 3' e HPSR 5' GGC TTC GTC ACC CTC TGT 3'. A PCR foi realizada por meio de uma reação de 25 µL contendo 10 mM Tris-HCl pH 8,3; 1,5 mM MgCl₂; 50 mM KCl; 240 µM de cada dNTP; 0,3 mM de cada iniciador; 0,5 U de Taq polimerase (QIAGEN) e 10 ng de DNA. O programa de amplificação consistiu em 10 minutos de desnaturação inicial a 94°C, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s, anelamento a 59°C por 30s, extensão a 72°C por 2 minutos e finalmente uma

² Ladder - Invitrogen Life Technologies

extensão a 72°C por 7 minutos. Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 1% por 30 minutos a 110V. Os géis foram corados com solução de brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta. Amostras positivas apresentam 821pb, utilizando um marcador de peso molecular (TrackIt® 100 bp DNA Ladder).

2.2.2.3. Detecção de *Streptococcus suis*

A amostra de suabe foi semeada em Agar Columbia e foi incubada 24h a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂. Após a incubação, com um suabe estéril, todas as colônias crescidas na superfície do ágar foram colhidas e diluídas em 1 mL de salina 0,85% estéril. A extração do DNA foi realizada utilizando uma solução de lise (Prepman Ultra®)³, a qual foi aquecida a 95°C por 10 minutos. A detecção de *S. suis* foi realizada por meio da PCR conforme técnica descrita previamente (MAROIS et al., 2004). Utilizando o par de iniciadores 16SF 5' CAG TAT TTA CCG CAT GGT AGA TAT 3' e HPSR 5' GTA AGA TAC CGT CAA GTG AGA A 3'. A PCR foi realizada por meio de uma reação de 25 µL contendo 10 mM Tris-HCl pH 8,3; 1,5 mM MgCl₂; 200 µM de cada dNTP (Invitrogen); 0,3 mM de cada iniciador; 1 U de Taq polimerase (Invitrogen) e 10 ng de DNA. O programa de amplificação consistiu em 10 minutos de desnaturação inicial a 94°C, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s, anelamento a 60°C por 30s, extensão a 72°C por 1 minuto e finalmente uma extensão a 72°C por 5 minutos. Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida 5% por 60 minutos a 7V/cm. Os géis foram corados com sybrGold® (Invitrogen) e visualizados em transiluminador de luz azul. Amostras positivas para *S. suis* foram submetidas a nova análise para

³ Prepman Ultra – Invitrogen Life Technologies

detecção de *S. suis* tipo 1 e tipo 2 por meio da PCR previamente descrita (SMITH et al., 1999).

2.2.3. Análise estatística

Foi realizada análise de comparação entre proporções de sucesso em tabela 4 x 2 para avaliação geral de cada agente. A diferença na frequência de detecção de cada agente (*H. parasuis*, *A. pleuropneumoniae* e *S. suis*) entre tratamentos foi comparada pelo Teste do Chi-Quadrado, sendo que $p < 0,05$ foi considerado significativo.

2.3. RESULTADOS

Os resultados obtidos nas análises de PCR para detecção dos agentes em leitões constam na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados das análises de PCR positivas para *H. parasuis*, *S. suis* e *A. pleuropneumoniae* a partir de exames de suabes de tonsila de leitões

Grupos	n	<i>H. parasuis</i>	<i>S. suis</i>	<i>A. pleuropneumoniae</i>
T1 fêmea e leitão medicado	35	8 (22,85%) ^a	0(0%) ^a	3(8,57%) ^a
T2 somente fêmea medicada	35	8(22,85%) ^a	0(0%) ^a	3(8,57%) ^a
T3 somente leitão medicado	35	5(14,28%) ^a	4(11,42%) ^b	1(2,85%) ^a
T4 Testemunha	35	17(48,57%) ^b	6(17,14%) ^b	1(2,85%) ^a
p-value*		0,003	0,008	0,547

a, b na coluna indicam frequências diferentes $p < 0,05$ - Chi-Quadrado

*comparação de proporção de sucesso em tabela 4 x 2

Com relação ao *H. parasuis*, o grupo testemunha apresentou percentual significativamente maior de animais positivos quando comparado com todos os demais grupos, os quais não apresentaram diferença estatística quando comparados entre si.

Com relação as análises de *S. suis*, nos grupos em que as fêmeas receberam antimicrobiano, não foram detectados leitões positivos para o agente no desmame. A prevalência de animais positivos no grupo testemunha foi 17,14%, e naqueles em que apenas o leitão foi medicado 11,42%; ambos apresentaram diferença estatística quando comparado aos grupos em que as fêmeas foram medicadas. As amostras positivas para *S. suis* foram avaliadas para *S. suis* tipo 1 e 2, sendo que todas resultaram negativas para estes dois sorotipos.

Não houve diferença significativa entre os grupos para a presença de *A. pleuropneumoniae* nas tonsilas de leitões, sendo que o percentual de animais positivos entre os grupos variou de 2,85% a 8,57%.

2.4. DISCUSSÃO

A colonização dos leitões por *H. parasuis* foi significativamente menor nos grupos em que a porca e/ou seus filhos foram medicados com antimicrobianos. Da mesma forma, a análise para *S. suis* demonstrou que filhos de porcas não medicadas apresentam maior percentual de animais colonizados por este agente aos 21 dias. Essas duas bactérias são consideradas de colonização precoce e são sensíveis aos antimicrobianos utilizados no presente estudo (MACINNES et al., 1999; HALBUR et al., 2000; PRIEBE et al., 2003). Deste modo, a aplicação dessas drogas no período pré e pós-natal possivelmente afetou a colonização desses agentes das porcas para suas leitegadas. Embora existam relatos de práticas de manejo que interfiram na colonização dos leitões (KIRKWOOD et al., 2001; TORREMOREL et al., 1999), não foram encontrados relatos científicos demonstrando que a terapia preventiva com antimicrobianos em porcas e/ou leitões reduza a colonização dos leitões durante a lactação.

No caso do *A. pleuropneumoniae* a terapia não afetou a colonização, embora este agente também seja usualmente sensível às drogas utilizadas (MACINNES et al., 1999; PRIEBE et al., 2003). O *A. pleuropneumoniae* é de colonização tardia, sendo que é por volta da terceira semana que a leitegada começa a ser colonizada (CHIERS et al., 2002). Tendo em vista que a coleta foi realizada no momento do desmame, era de se esperar que não houvesse mesmo a interferência dos tratamentos na colonização.

O percentual de leitões positivos para *S. suis* foi baixo nos leitões amostrados no desmame, inclusive no grupo controle. Entretanto, deve-se considerar que o percentual de animais positivos para *S. suis* nas tonsilas reduz ao longo da lactação (TORREMOREL, 1998). PIJOAN et al. (1997) também observaram redução do número de animais colonizados por *S. suis* na tonsila ao longo da lactação, sendo que aos cinco, dez e 15 dias de idade a prevalência de animais positivos foi 72%, 59% e 30% respectivamente. Baseado nestes resultados, para melhor avaliação da interferência do tratamento preventivo com antimicrobianos, uma alternativa seria colher material para análise em idade mais precoce, pois a colonização por *S. suis* normalmente ocorre no momento do parto (AMASS et al., 1995). Embora os resultados tenham demonstrado uma baixa prevalência ao desmame, vale ressaltar que houve redução significativa no percentual de leitões colonizados nos grupos em que as porcas foram submetidas a tratamento preventivo com antimicrobianos.

A interferência na colonização por *H. parasuis* e *S. suis* demonstrou que a terapia preventiva com antimicrobianos na maternidade e final de gestação, pode ser um fator de risco de grande importância para o aparecimento de doenças nas fases subsequentes. Estas medicações são muito utilizadas na suinocultura e, paralelamente, as doenças causadas por estes agentes são amplamente

disseminadas. Vale ressaltar que estes agentes fazem parte da microbiota do trato respiratório, sendo que *H. parasuis* já foi detectado inclusive em javalis de vida livre (OLVERA et al., 2007). Conforme demonstrado por OLIVEIRA et al. (2001_a), OLIVEIRA et al. (2004) e TORREMOREL et al. (1999), a infecção experimental durante a fase de lactação por *S. suis* e *H. parasuis* evitou a doença clínica na creche. Outra evidência de que a redução na colonização precoce favorece o aparecimento de doença, é a constatação de que em granjas que adotam o desmame precoce segregado, a doença de Glässer e a meningite estreptocócica são mais freqüentes (PIJOAN et al., 1997; SMART et al., 1989; NIELSEN et al., 1975).

Baseado neste conceito de colonização, a tonsila tem um papel substancialmente importante, pois representa um dos principais sítios de colonização e multiplicação de agentes da microbiota e também de alguns agentes oportunistas (HORTER et al., 2003). A tonsila é um órgão linfóide secundário, utilizado por patógenos para a evasão do sistema imunológico do hospedeiro, permanecendo nas criptas e posteriormente, podem atingir outros sítios para causar doença. Porém, grande parte dos agentes permanecem nas tonsilas com baixos títulos, não determinando doença clínica (HORTER et al., 2003).

Normalmente o objetivo ao utilizar um antimicrobiano de forma preventiva seria impedir a manifestação clínica por agentes presentes na granja, e por conseqüência, reduzir o número de microorganismos colonizando os animais. Porém, LOWE et al. (2011), ao comparar duas propriedades diferentes, observaram que animais provenientes do rebanho que não usa antimicrobiano de forma preventiva apresentaram menor diversidade de agentes na tonsila quando comparado aos animais provenientes de rebanho que receberam tratamento

preventivo com antimicrobianos, demonstrando que para cada rebanho, existem diferentes comunidades de microbiota. Estes resultados suportam a hipótese que a utilização de antimicrobianos de forma excessiva e contínua, pode desequilibrar a microbiota de animais saudáveis, uma vez que os mesmos são medicados coletivamente. A terapia preventiva com antimicrobianos também foi descrita como fator de risco para desenvolvimento de doenças por agentes da própria microbiota em seres humanos, devido a um desequilíbrio entre agente e hospedeiro (STEER et al., 2000).

O mecanismo pelo qual a colonização precoce pode evitar doença clínica na fase subsequente ainda não é bem elucidada. Alguns autores sugerem que a colonização durante a maternidade ocorre de forma lenta, devido a excreção uniforme de agentes pela fêmea, associada a presença de imunidade passiva (PIJOAN et al., 2002). Este mecanismo poderia ser explicado pelo princípio da exclusão competitiva, o qual é baseado em duas populações que possuem o mesmo mecanismo de ação, ocupam o mesmo nicho ecológico e mesmo local geográfico e quando uma das populações multiplica-se um pouco mais rápido que a outra, a mais lenta tende a ser excluída (HARDIN et al., 1960). São descritas várias formas de exclusão que variam desde competição direta e indireta por nutrientes, competição por sítios de ligação em comum, produção de componentes inibitórios para outras espécies, aprimoramento da imunidade do hospedeiro ou ainda, interação sinérgica (CALLAWAY et al., 2008).

Estudos demonstraram que as cepas associadas à doença de Glässer são diferentes das isoladas de suabes nasais de leitões clinicamente saudáveis (SMART et al., 1993), portanto, em condições normais de criação, a colonização precoce ocorre por cepas não virulentas e sem capacidade de se tornar sistêmica. Baseado neste

conceito, as cepas de *H. parasuis* são classificadas em três diferentes categorias, sendo a primeira uma cepa com colonização precoce, não virulenta, sem capacidade de tornar-se sistêmica; uma segunda cepa com virulência intermediária, associada a pneumonias e finalmente uma terceira cepa caracterizada por colonização mais tardia, virulenta e com habilidade de tornar-se sistêmica (PIJOAN et al., 2002). Portanto, possivelmente, uma vez que uma cepa não virulenta coloniza precocemente o trato respiratório de leitões, este sítio estará ocupado no momento em que o animal entra em contato com cepas mais virulentas, caso estejam presentes na granja.

A colonização precoce para evitar doenças e preparar o indivíduo para futuros desafios também é descrita em crianças. Em doenças que não possuem vacinas eficientes, os altos níveis de anticorpos neutralizantes transferidos da mãe para o filho, representam o ponto chave para evitar doença, porém não evitam necessariamente infecção (ZINKERNAGEL et al., 2003). Este processo impede a manifestação clínica durante os primeiros meses de vida e ao mesmo tempo, proporciona condições para desenvolvimento da imunidade ativa, uma vez que não impede a infecção e multiplicação lenta do agente no hospedeiro (ZINKERNAGEL et al., 2003).

Desta forma, o presente estudo demonstra que o tratamento preventivo com antimicrobianos pode interferir negativamente no processo de colonização do trato respiratório, alterando uma condição natural da granja. Esta alteração pode implicar em colonização de cepas mais virulentas em fases onde a imunidade passiva está reduzindo, sendo um importante fator de risco para desenvolvimento da doença. Portanto, a utilização de antimicrobianos preventivos na maternidade deve ser bem

avaliada, principalmente em porcas gestantes, as quais representam o ponto chave na contaminação de seus filhos.

2.5. CONCLUSÕES

Os leitões provenientes dos grupos em que as fêmeas receberam tratamento preventivo com antimicrobianos na maternidade, apresentaram menor percentual de colonização por *S. suis* no desmame.

Leitões filhos de porcas não medicadas e que não receberam tratamento preventivo com antimicrobianos, apresentaram maior número de leitões colonizados por *H. parasuis* no desmame.

REFERÊNCIAS

ALBERTON, G.C.; WERNER, P.R.; SOBESTIANSKY, J.; COSTA, O.D.; BARIONI JÚNIOR, W. Prevalência de infecção urinária e de *Actinomyces suis* em porcas gestantes e sua correlação com alguns parâmetros físicos e químicos da urina. **Archives of Veterinary Science**, v.5, p.81-88, 2000.

AMASS, S.F.; CLARK, L.K; WU, C.C. Source and timing of *Streptococcus suis* infection in neonatal pigs: Implications for early weaning procedures. **Swine Health and Production**, v.3, n.5, 1995.

CALLAWAY, T.R.; EDRINGTON, T.S.; ANDERSON, R.C.; HARVEY, R.B.; GENOVESE, K.J.; KENNEDY, C.N.; VENN, D.W.; NISBET, D.J. Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. **Animal Health Research Reviews**, v.9, n.2, p.217–225, 2008.

CERDÀ-CUÉLLAR, M.; NARANJO, J.F.; VERGE, A.; NOFRARÍAS, M.; CORTEY, M; OLVERA, A.; SEGALÉS, J.; ARAGON, V. Sow vaccination modulates the colonization of piglets by *Haemophilus parasuis*. **Veterinary Microbiology**, v.145, p.315-320, 2010.

CHIERS, K.; DONNÉ, E.; OVERBEKE, I.V.; DUCATELLE, R.; HAESBROUCK, F. *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in closed swine herds: infectious patterns and serological profiles. **Veterinary Microbiology**, v.85, p.343-352, 2002.

HALBUR, P.; THANAWONGNUWECH, R.; BROWN, G.; KINYON, J.; ROTH, J.; THACKER, E.; AND THACKER, B. Efficacy of antimicrobial treatments and vaccination regimens for control of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus and *Streptococcus suis* coinfection of nursery pigs. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.3, p.1156-1160, 2000.

HARDIN, G. The competitive exclusion principle: An idea that took a century to be born has implications in ecology, economics and genetics. **Science**, v.131, n.3409, p.1292-1297, 1960.

HORTER, D.C.; YOON, K.J.; ZIMMERMAN, J.J. A review of porcine tonsils in immunity and disease. **Animal Health Research Reviews**, v.4, n.2, p.143–155, 2003.

KIRKWOOD, R.N.; RAWLUK, S.A.; CEGIELSKY, A.C.; OTTO, A.J. Effect of pig age and autogenous sow vaccination on nasal mucosal colonization of pigs by *Haemophilus parasuis*. **Journal of Swine Health and Production**, v.9, n.2, p.77-79, 2001.

LOWE B.A.; MARSH T.L.; ISAACS-COSGROVE, N.; KIRKWOOD, R.N.; KIUPEL, M.; MULKS, M.H. Microbial communities in the tonsils of healthy pigs. **Veterinary Microbiology**, v.147, p.346–357, 2011.

MACINNES, J.I.; DESROSIERS, R. Agents of the "Suis-ide Diseases" of Swine: *Actinobacillus suis*, *Haemophilus parasuis*, and *Streptococcus suis*. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.63, p.83-89, 1999.

MAROIS, C.; BOUGEARD, S.; GOTTSCHALK, M.; KOBISCH, M. Multiplex PCR assay for detection of *Streptococcus suis* species and serotypes 2 and 1/2 in tonsils of Live and Dead Pigs. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, n.7, p.3169–3175, 2004.

NIELSEN, R.; DANIELSEN, V. An outbreak of Glässer's disease: Studies of etiology, serology, and effect of vaccination. **Nordisk Veterinær Medicin**, v.27, p.20-25, 1975.

OLIVEIRA, S.; BATISTA, L.; TORREMORELL, M.; PIJOAN, C. Experimental colonization of piglets and gilts with systemic strains of *Haemophilus parasuis* and *Streptococcus suis* to prevent disease. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, p.161-167, 2001_a.

OLIVEIRA, S.; GALINA, L.; PIJOAN, C. Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parasuis* infections. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.13. p.495-501, 2001_b.

OLIVEIRA, S.; PIJOAN, C.; MORRISON, R. Evaluation of *Haemophilus parasuis* control in the nursery using vaccination and controlled exposure. **Journal of Swine Health and Production**, v.12, n.3, p.123-128, 2004.

OLVERA, A.; SEGALÉS, J.; ARAGON, V. First isolation of *Haemophilus parasuis* and other NAD-dependent Pasteurellaceae of swine from European wild boars. **Veterinary Microbiology**, 2007.

PIJOAN C., TORREMORELL M., SOLANO G. Colonization patterns by the bacterial flora of young pigs. **Proceedings...** American Association of Swine Practitioners, p.463–464, 1997.

PIJOAN, C.; OLIVEIRA, S. *Haemophilus parasuis*: challenges and changes **Proceedings...** American Association Of Swine Veterinarians, p.251-253, 2002.

PIJOAN, C.; MORRISON, R.B.; HILLEY, H.D. Dilution technique for isolation of *Haemophilus* from swine lungs collected at slaughter. **Journal of Clinical Microbiology**, v.18, n.1, p.143-145, 1983.

PRIEBE, S.; SCHWARZ, S. In Vitro Activities of Florfenicol against Bovine and Porcine Respiratory Tract Pathogens. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.47, n.8, p. 2703-2705, 2003.

SCHALLER, A.; DJORDJEVIC, S.P.; EAMENS, G.J.; FORBES, W.A.; KUHN, R.; KUHNERT, P; GOTTSCHALK, M.; NICOLET, J.; FREY, J. Identification and detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by PCR based on the gene *apxIVA*. **Veterinary Microbiology**, v.79, p.47-62, 2001.

SMART, N.; MINIATS, P.; ROSENDAL, S.; FRIENDSHIP, R.M. Glässer's disease and prevalence of subclinical infection with *Haemophilus parasuis* in swine in southern Ontario. **The Canadian Veterinary Journal**, v.30, p.339-343, 1989.

SMART, N.; HURNIK, D.; MACINNES, J.I. An investigation of enzootic Glässer's disease in a specific-pathogen-free grower-finisher facility using restriction endonuclease analysis. **The Canadian Veterinary Journal**, v.34, p.487-490, 1993.

SMITH, H. E.; VEENBERGEN, V.; VELDE, J.; DAMMAN, M.; WISSELINK, H. J.; SMITS, M. A. The *cps* genes of *Streptococcus suis* Serotypes 1, 2, and 9:

development of rapid serotype-specific PCR assays. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, p.3146–3152, 1999.

STEER T.; CARPENTER, H.; TUOHY, K.; GIBSON, G.R. Perspectives on the role of the human gut microbiota and its modulation by pro and prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, v.13, p.229-254, 2000.

TORREMORELL, M; CALSAMIGLIA, M.; PIJOAN, C. Colonization of suckling pigs by *Streptococcus suis* with particular reference to pathogenic serotype 2 strains. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 62, p.21-26, 1998.

TORREMORELL, M.; PIJOAN, C.; DEE. S. Experimental exposure of young pigs using a pathogenic strain of *Streptococcus suis* serotype 2 and evaluation of this method for disease prevention. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.63, p.269-275, 1999.

ZINKERNAGEL, R.M. On Natural and artificial vaccinations. **Annual Review of Immunology**, v.21, p.515-546, 2003.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças causadas pelas bactérias *H. parasuis* e *S.suis* representam um grave problema para as criações de suínos, devido ao alto impacto com mortalidade e custos com antimicrobianos curativos. Porém estes agentes fazem parte da microbiota normal, e podem colonizar leitões sem desenvolver a doença.

Somente nas duas últimas décadas iniciaram-se estudos para o melhor entendimento de como a microbiota pode atuar auxiliando na prevenção de doenças, uma vez que sempre buscou-se melhora do estado sanitário, erradicando agentes específicos das granjas. Evidências científicas demonstram que para alguns agentes como *H. parasuis* e *S. suis*, a colonização precoce pode ser benéfica e representar o ponto chave para o equilíbrio entre agente e hospedeiro no rebanho.

O presente trabalho demonstrou que o tratamento preventivo com antimicrobianos em porcas na fase final de gestação e lactação e em leitões após o parto, pode interferir na colonização normal de alguns agentes da microbiota no trato respiratório de leitões. Este resultado contribui para o melhor entendimento dos possíveis fatores de risco nas granjas onde a Doença de Glässer e meningite estreptocócica representam um problema.