



## AVALIAÇÃO DO USO DA VACINAÇÃO PARA A PREVENÇÃO DA DOENÇA DO EDEMA EM SUÍNOS

EVALUATION OF VACCINATION FOR PREVENTION OF EDEMA DISEASE IN PIGS

Sandra Maria Borowski<sup>1</sup>, David Emilio Santos Neves de Barcellos<sup>2</sup>, André Hagemann<sup>3</sup>, Cláudio Chiminazzo<sup>1</sup>, Luís Eduardo Razia<sup>1</sup> & Tania Allen Coutinho<sup>1</sup>

### RESUMO

A colibacilose enterotoxêmica (doença do edema) ocorre com muita frequência nas criações de suínos do Estado do Rio Grande do Sul. Vários procedimentos têm sido adotados para o seu controle, como correções de manejo e ambiente, além de melhorias na formulação de rações, uso de antimicrobianos, de probióticos e reforços na área de higiene e de desinfecção ambiental, os quais nem sempre têm mostrado resultados satisfatórios. Também têm sido utilizadas vacinas inativadas contendo cepas patogênicas ou subunidades de *Escherichia coli* como uma alternativa, visando a prevenir e controlar a infecção. O presente trabalho avaliou o uso de uma bacterina autógena na prevenção da doença do edema em uma granja de suínos que apresentava elevada mortalidade após o desmame, com diagnóstico de infecção por *Escherichia coli* enterotoxêmica. A vacina foi preparada com uma amostra de *Escherichia coli* isolada em cultura pura de materiais coletados no surto. O programa de vacinação consistiu no uso de duas vacinações nas matrizes (aos 80 e 100 dias de gestação) e duas doses para os leitões (entre 15/17 e 35/38 dias de idade). Observou-se uma diminuição significativa da taxa de mortalidade nas fases de pré-creche e creche, mas não houve melhoria no ganho de peso diário.

**Descritores:** doença do edema, vacinação, *Escherichia coli*, suínos.

### ABSTRACT

Enterotoxemic colibacillosis (edema disease) occurs very frequently in pig farms in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Several alternatives of control have been used, such as management and environmental changes and improvement in feed formulation. Other control measures include use of feed additives, such as antibiotics or probiotics, and improvement in disinfection and general hygienic measures, but they frequently present inconsistent results. Alternatively, inactivated vaccines containing pathogenic strains of *Escherichia coli* or sub-unit vaccines have been used for control and prevention of the infection. The present work evaluated the use of an autogenous bacterin in the prevention of edema disease, in a pig farm with high post-weaning mortality associated with enterotoxemic *E. coli* infection. The vaccine was prepared with an *E. coli* strain isolated in pure culture from material collected in the outbreak. The vaccination program consisted of two sow injections (80 and 100 days of gestation), and two injections in the piglets (between 15/17 and 35/38 days of age). It was observed a significant decrease in mortality rate in nursery and growing age piglets, but there was no improvement in daily weight gain.

**Key words:** edema disease, vaccination, *Escherichia coli*, pigs.

## INTRODUÇÃO

A doença do edema ou colibacilose enterotoxêmica dos suínos é uma forma específica de infecção causada por determinadas amostras de *Escherichia coli* (*E. coli*), afetando com maior frequência leitões no período que se segue ao desmame [21]. Os grupos sorológicos capazes de causar a doença são geralmente classificados em padrões específicos, sendo os principais O138:K81; O139:K82 e O141:K85a,b [22]. Essas amostras têm o seu efeito patogênico explicado por dois mecanismos de virulência: presença de fímbrias e produção/ação de toxinas. A maioria das cepas causadoras da doença do edema possui a fímbria F107 [5]. Além dessa, uma outra fímbria foi identificada em amostras isoladas em casos dessa doença, a 2134P [18]. Mais recentemente, essas fímbrias foram designadas F18a,b (F107) e F18a,c (2134P). Elas apresentam uma estrutura complexa, sugerindo que existem variações antigênicas semelhantes às encontradas na fímbria K88 (F4), presente em amostras de *E. coli* isoladas de casos de diarreia na maternidade e que, para fins de classificação, são subdivididas em K88ab, K88ac e K88ad [15]. Os sintomas nervosos e as demais manifestações clínicas e patológicas da infecção podem ser reproduzidos experimentalmente pela injeção intravenosa de uma toxina produzida pelas amostras de *E. coli* causadoras da doença do edema, denominada SLT-IIv [6].

A presença de amostras causadoras da doença do edema parece ser comum nos rebanhos suínos. Já a ocorrência dos sintomas da infecção geralmente se relaciona com a presença simultânea de alguns fatores predisponentes [16], relacionados com falhas de manejo e na qualidade da ração, deficiências nos processos higiênicos, de desinfecção e excesso de contaminação ambiental.

O controle da colibacilose enterotóxica vem sendo tentado por correções de manejo e ambiente, além de melhorias na formulação de rações, uso de antimicrobianos e de probióticos [13,19] e reforços na área de higiene e de desinfecção ambiental. Coletivamente, essas medidas têm se mostrado ineficientes, sendo comum a ocorrência de casos da doença associada com múltipla resistência aos antibióticos, o que gera uma situação difícil no que se refere ao seu controle. Uma abordagem alternativa seria o aumento das defesas dos leitões através da estimulação imunitária

[9,17]. Trabalhos desse tipo têm sido pouco frequentes e, em relação à doença do edema, só recentemente foram publicados dados conclusivos. Alguns autores [1,8,11,14] obtiveram o controle da doença, usando bacterinas produzidas com isolados bacterianos oriundos de casos de campo e avaliando através de monitoria clínica, ou usando vacinas vivas modificadas [10,12,23]. A eficiência de vacinas experimentais (viva e inativada) para a prevenção de doença do edema foi avaliada no Brasil usando um modelo com desafio experimental [7]. Os pesquisadores concluíram que o uso dos imunógenos reduziu a ocorrência de diarreia e a mortalidade, mas não afetou o ganho de peso no período avaliado.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso de uma bacterina autógena na prevenção da doença do edema em uma granja de suínos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Granja e manejo em uso

A granja avaliada situava-se na Região da Serra do Estado do Rio Grande do Sul e apresentava problemas de mortalidade após o desmame, com repetidos diagnósticos laboratoriais de infecção por *Escherichia coli* enterotoxêmica (doença do edema). Várias tentativas já haviam sido feitas para baixar o índice de mortalidade, usando diminuição da concentração de proteína bruta das rações iniciais e aumento da sua digestibilidade; melhoria do ambiente, mantendo a temperatura ambiental em torno de 28°C e evitando variações diárias superiores a 6°C; melhoria no processo de desinfecção e aumento do período de vazio sanitário; melhoria do manejo do desmame, tentando reduzir situações estressantes e melhoria na uniformidade e peso dos leitões ao desmame. Nenhuma alternativa havia sido eficiente.

A dosagem de óxido de zinco na ração havia sido ajustada para 2300 ppm e estava sendo adotada a associação com outras drogas antibacterianas nas rações (carbadox, neomicina e apramicina), com alternância de produtos. Essa última alternativa havia apresentado resultados eficientes, porém por um curto período de tempo, devido ao surgimento de resistência bacteriana às drogas utilizadas.

As instalações de pré-creche eram em salas com ambiente controlado, contendo gaiolas com piso de ferro redondo, com lotação de 0,3 m<sup>2</sup> por animal.

As condições ambientais eram boas. Nas creches, havia baias com piso ripado de concreto, mantendo um espaço de 0,4 m<sup>2</sup> por animal. As condições ambientais eram piores do que as das pré creches.

Os animais eram desmamados com 21-22 dias de idade, com peso médio de 6,0 kg e recebiam uma ração tipo pré-inicial até 33 dias. A seguir, era fornecida uma ração designada “inicial 1” até 38 dias de idade. Com 40-45 dias os animais eram retirados da pré-creche, recebendo a “ração inicial 2” dos 39 dias até 55 dias. A taxa de crescimento era elevada, chegando alguns lotes a ganhar 320 g/dia nesta fase.

### **Problema clínico**

Em torno de 80% dos casos de mortalidade ocorria quando os animais estavam com 25-30 dias de idade, alternando em alguns casos para 35-40 dias. Em muitas ocasiões, os animais eram encontrados mortos, sem sinais prévios. Em poucos foram observados sintomas nervosos, consistindo de apatia e outros como tremores musculares, alterações sensoriais e incoordenação. Além desses, havia edema ocular e temperatura corporal elevada. Na maioria dos casos, a morte ocorria poucas horas após a observação inicial dos sintomas. Mesmo nos animais medicados com antitérmicos e antimicrobianos, não foi verificada a reversão do quadro.

### **Diagnóstico laboratorial**

Foram coletadas amostras de fezes e alças intestinais de leitões que apresentavam problemas clínicos recorrentes. Os materiais coletados foram inicialmente semeados em meio ágar sangue suplementado com 5% de sangue ovino e em ágar MacConkey e incubados a 37°C, por 18 horas. Após esse período, as colônias suspeitas de *E. coli* foram submetidas a testes visando à classificação bioquímica e sorológica, de acordo com técnicas descritas anteriormente [2,22]. Como critério de identificação primária das colônias isoladas, foi considerada a presença de hemólise em placas de ágar sangue, pois praticamente todas as amostras de *E. coli* isoladas de casos de doença do edema são beta-hemolíticas.

### **Produção da vacina**

A vacina experimental foi preparada com uma amostra de *E. coli* grupo OK O139:K82. Em síntese,

a amostra de *E. coli* isolada, que se encontrava congelada a -20°C, foi cultivada em caldo BHI (infuso cérebro-coração), com um inóculo correspondendo a 2% do volume de produção. Após crescimento por 14 a 18 horas a 37°C foi realizada a inativação pela adição de formalina na diluição final de 0,6% e incubação a 37°C por 48 horas. O cultivo inativado foi adsorvido em hidróxido de alumínio, numa concentração de 20% sobre o volume final.

Foram realizadas provas de rotina de inocuidade (em cobaias) e esterilidade (em placas de ágar sangue e tubos contendo os meios de Caldo Simples, Sabouraud, Tarozzi e Tioglicolato).

### **Teste a campo**

A vacinação teve início no dia 28/06/1999, tendo sido usada uma dose de 3mL, injetada pela via subcutânea, em leitões de maternidade com 15/17 dias de idade. Nesta data também foram vacinados leitões nas creches, com 35/38 dias de idade. No dia 29/06/1999 foi iniciada a vacinação das fêmeas, com 80 dias de gestação. A partir daí foi instituído o programa de vacinação definitivo, que consistia de duas injeções nas matrizes (aos 80 e 100 dias de gestação) e duas doses para os leitões (aos 15/17 e aos 35/38 dias de idade).

Os parâmetros utilizados para avaliar a eficiência da vacinação foram o ganho de peso diário e as taxas de mortalidade na pré-creche e na creche.

Uma amostragem dos animais com sintomas suspeitos de doença do edema tiveram vísceras e/ou fezes coletadas para a realização de exames laboratoriais.

### **Análise estatística**

O período usado para a avaliação dos resultados da vacinação foi de 4 meses antes da vacinação e quatro meses após. Durante o mesmo, considerando o fluxo na granja, foram analisados aproximadamente 4351 leitões e 302 matrizes. As médias das diferenças dos tratamentos foram avaliadas pela análise de variância, pelo procedimento GLM [20] e comparadas pelo teste *t* de Student.

## **RESULTADOS**

As colônias isoladas dos casos clínicos foram classificadas como *E. coli* grupo OK: O139: K82.

Os resultados para os parâmetros usados na avaliação do efeito da vacinação constam da tabela 1.

**Tabela 1.** Porcentual de mortalidade e taxa de ganho de peso diário dos leitões na fase de creche antes e depois do uso de vacina autógena contra *Escherichia coli*.

MÊS/ANO	1997	1998	Janeiro/Abril 1999	Maio/Agosto 1999	Setembro/Dezembro 1999*
Taxa de mortalidade (%)	1,150	3,830	6,050	7,820 ± 1,5a	0,370 ± 0,2b
Ganho de peso diário (g/dia)	393	450	497	482 ± 22,2a	445 ± 12,9b

\*Animais submetidos ao programa vacinal completo.

a,b: médias seguidas de letras desiguais, na linha, são estatisticamente diferentes (P<0,05).

Foi observado que nos lotes de animais que receberam apenas uma dose de vacina na maternidade ou na creche no dia 28/06/1999, após passarem pelo período crítico, ou seja, com 25-38 dias, continuava a ocorrência de casos suspeitos de doença do edema, mas numa taxa menor. Entre aproximadamente 1000 animais nessa faixa de risco, 47 tiveram sintomas suspeitos. Entre esses, foram coletados 7 materiais, sendo em todos revelada a presença da amostra de *E. coli* grupo OK O139: K82.

A redução dos casos clínicos foi observada quando os animais nascidos de fêmeas vacinadas na gestação e que receberam a primeira dose de vacina na maternidade e a segunda na creche, passaram pelo desafio no período crítico na pré-creche. Após a constatação de que os sintomas haviam sido controlados, foram retirados todos os antimicrobianos das rações pré-iniciais e iniciais (incluindo o óxido de zinco em doses altas) e não ocorreu alteração na taxa de mortalidade, sendo que essa voltou aos percentuais aceitáveis para a fase de creche na granja, ou seja, abaixo de 1,2%.

## DISCUSSÃO

Com relação ao ganho de peso diário, não houve melhoria após a adoção do programa vacinal. Essa variável é sabidamente multifatorial, dependendo fortemente da qualidade da ração e do manejo nutricional. Outros fatores capazes de influenciá-la são características ambientais e de manejo, genética e ocorrências sanitárias (como diarreias). Com exceção de variações no programa nutricional, as demais variáveis se mantiveram estáveis durante o período observacional. A doença do edema ocasiona sintomas agudos nos leitões, com morte súbita resultando em alta mortalidade. Poucos leitões apresentam sintomas nervosos e sobrevivem, tendendo a refugar. Com exceção desses animais que sobrevivem e refugam, essa forma de infecção por *E. coli* não apresenta grande impacto no ganho de peso nos leitões na fase de creche [6]. Essa

observação foi confirmada no surto em análise. Os resultados foram similares aos obtidos em estudo anterior [7], em que uma vacina contra a doença do edema reduziu a ocorrência de diarreia e a mortalidade na creche, mas não afetou o ganho de peso dos leitões no período avaliado. A doença do edema tem sido diagnosticada com muita frequência em nosso meio. As infecções entéricas por *E. coli* representaram 46,21% dos isolamentos de agentes patogênicos em casos de diarreia em suínos no Estado do Rio Grande do Sul, numa amostragem de 613 ocorrências de distúrbios digestivos em animais de creche [4].

Um problema particular detectado no controle da doença do edema é a frequente emergência de resistência aos antimicrobianos que são usados na ração para prevenir a doença [3]. O controle da proliferação bacteriana com antibióticos é muito mais eficiente no caso da diarreia colibacilar do que na doença do edema, pois nessa última a produção de toxina já ocorreu quase que totalmente ao serem observados os sintomas [6]. Isso gera dificuldade no tratamento e pode induzir ao aumento de resistência aos princípios ativos utilizados. De outra parte, a toxina SLT-IIv gera uma angiopatia generalizada, causando lesões que incluem o edema cerebral. Isso resulta em sintomatologia nervosa com lesões encefálicas graves e irreversíveis, praticamente inviabilizando as tentativas de tratamento dos animais após serem detectados os sintomas. A frequente baixa eficiência observada com o uso das medidas de controle ditas “tradicionais” (como a adição de antimicrobianos na ração e melhorias na sua formulação, alterações no manejo e no ambiente) gera a necessidade do uso de alternativas visando ao aumento da imunidade. O uso de vacinação apenas nas porcas não se mostra eficiente, pois com o desmame os leitões suspendem a ingestão do leite da porca e, conseqüentemente, suspendem o aporte das imunoglobulinas com ação direta na mucosa intestinal (IgA). Também deve ser salientado que as vacinas comer-

cialmente disponíveis para o controle das diarreias na fase de aleitamento são produzidas com os antígenos fimbriais F4, F5, F6 e F41, sem relevância à patogenia da doença do edema. Para o controle específico dessa doença, deve-se incluir as adesinas especificamente presentes na maioria das cepas causadoras da patologia (F18ab; F18a,c). Vários autores [1, 7, 8, 10-12, 23] avaliaram programas de vacinação dos leitões na maternidade e na creche com diferentes tipos de vacinas e esquemas de vacinação para a doença do edema, usando amostras bacterianas portadoras dessas fímbrias, com resultados promissores.

O esquema proposto no presente trabalho envolveu a vacinação das porcas e duas vacinações dos leitões, uma na fase de aleitamento e outra na fase de creche. Existem dificuldades logísticas com essas injeções, pelo estresse gerado aos leitões durante o manejo para a aplicação do produto, além da dor pelas lesões induzidas. No entanto, esquemas de vacinação similares têm sido usados com sucesso para outras doenças (como pneumonia enzoótica e rinite atrófica). O custo adicional gerado pelo uso da vacinação não pode ser subestimado, pois com as margens de lucratividade estreitas da suinocultura todos os gastos devem ser analisados com cautela. Entretanto, a vacinação poderia ser justificada pelos prejuízos decorrentes de surtos de colibacilose enterotoxêmica e as dificuldades de seu controle através das vias tradicionais, desde que fosse confirmada a eficiência do esquema de imunização usado.

## CONCLUSÕES

O uso de uma bacterina autógena contra *Escherichia coli* com aplicação de duas doses nas porcas e duas doses nos leitões foi eficaz na redução dos sintomas e mortalidade provocados pela doença do edema na granja avaliada, quando usada na fêmea e nos leitões.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Mari Lourdes Bernardi, do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia da UFRGS, pelo apoio à realização da análise estatística.

## REFERÊNCIAS

- 1 **Awad-Masalmeh M., Reitinger H. & Willinger H. 1988.** Efficacy of edema principle toxin as a vaccine against edema disease of weaned piglets. In: *Proceedings of the 10th International Pig Veterinary Society*. (Rio de Janeiro, Brazil). p.116.
- 2 **Barcellos D.E.S.N. & Baptista P.J.H.P. 1975.** Colibacilose suína: diagnóstico da doença do edema e classificação sorológica de amostras de *Escherichia coli* isoladas em surtos no Rio Grande do Sul e Santa Catarina. *Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor*. 3: 151-58.
- 3 **Barcellos D.E.S.N., Ribeiro L.A.O. & Warth W. 1977.** Colibacilose Suína: sensibilidade aos antibióticos de amostras patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de suínos. *Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor*. 4: 73-78.
- 4 **Barcellos D.E.S.N. & Stepan A.L. 1991.** Estudo etiológico de diarreia em leitões recentemente desmamados. In: *Anais do 5º Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, ABRAVES*. (Águas de Lindóia, Brasil). p.60.
- 5 **Bertschinger H.U., Bachmann A., Mettler C., Pospischl A., Schraner E.M., Stamm M., Sydlar T. & Wild P. 1990.** Adhesive fimbriae produced in vitro by *Escherichia coli* O139: K82(B): H1 associated with enterotoxemia in pigs. *Veterinary Microbiology*. 25: 267-281.
- 6 **Bertschinger H.U. & Fairbrother J.M. 1999.** *Escherichia coli* infections. In: Straw B., D'Allaire S., Mengeling W. & Taylor D. J. (Eds). *Diseases of Swine*. 8th edn. Ames: Iowa State University Press, pp.431-468.
- 7 **Brito B.G., Leite D.M.G. & Leite D.S. 1995.** Eficiência de vacina viva e vacina inativada na prevenção da doença do edema. In: *Anais do 7º Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, ABRAVES*. (Blumenau, Brasil). p. 94.
- 8 **Connaughton I.D., Driesen S.J., Fahy V.A. & Sammons N.G. 1992.** Field trials with an *E. coli* bacterin (Weanavac) to prevent postweaning coliform enteritis. In: *Proceedings of the 12th International Pig Veterinary Society*. (The Hague, The Netherlands). p. 254.
- 9 **Dobrescu L. 1982.** Immunological studies in pigs using edema disease principle (*E. coli* neurotoxin). In: *Proceedings of the 7th International Pig Veterinary Society*. (Mexico City, Mexico). p.23.
- 10 **Dziaba K. & Jabubowski T. 1992.** The effect of an inactivated oral vaccine as a feed additive in the control of colibacillosis in piglets. In: *Proceedings of the 12th International Pig Veterinary Society*. (The Hague, The Netherlands). p. 253.
- 11 **Fahy V.A., Connaughton I.D., Driesen S.J. & Spicer E.M. 1992.** Field trials with an oral *E. coli* vaccine (Autovac) to prevent postweaning coliform enteritis. In: *Proceedings of the 12th International Pig Veterinary Society*. (The Hague, The Netherlands). p 255.

- 12 **Gordon V.M., Whipp S.C., Moon H.W., O'Brien A.D. & Samuel J.E. 1992.** An enzymatic mutant of Shiga-like type II variant is a vaccine for edema disease of swine. *Infection and Immunity*. 60: 485-490.
- 13 **Holm A. 1990.** *E. coli* associated diarrhoea in weaner pigs: zinc oxide added to feed as a preventive measure. In.: *Proceedings of the 11th International Pig Veterinary Society* (Lausanne, Switzerland). p. 154.
- 14 **Husband A.J. & Seaman J.T. 1979.** Vaccination of piglets against *Escherichia coli* enteritis. *Australian Veterinary Journal*. 55: 435-436.
- 15 **Imbrechts H., Deprez P., Lintermans P. & Broes A. 1993.** La maladie de l'edème du porcelet. *Recueil de Médecine Vétérinaire*. 169: 665-674.
- 16 **Marshall V. & Lefler H. 1985.** Cause and prevention of post weaning diarrhea. In.: *Anais do 2º Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, ABRAVES*. v. 2. (Rio de Janeiro, Brasil). p.114.
- 17 **Nabuurs M.J.A., Bokhout B.A. & Van Der Heijden P.J. 1982.** Prevention of post-weaning diarrhoea and oedema disease in piglets by intra-peritoneal injection of an adjuvant without antigens. In: *Proceedings of the 7th International Pig Veterinary Society*. (Mexico City, Mexico). p. 12.
- 18 **Nagy B., Casey T.A., Whipp S.C., Moon H.W. & Dean-Nystrom E.A. 1992.** Pili and adhesiveness of porcine weaning enterotoxic and verotoxigenic *Escherichia coli*. In: *Proceedings of the 12th International Pig Veterinary Society* (The Hague, The Netherlands). p.240.
- 19 **Nielsen N.C. & Larsen J.L. 1988.** Inhibitive effect of 5 probiotic porcine lactobacillus strains on the incidence and severity of experimentally induced post weaning *E. coli* syndrome in pigs. In: *Proceedings of the 10th International Pig Veterinary Society* (Rio de Janeiro, Brazil). p.111.
- 20 **SAS Institute (Cary NC). 1998** *SAS user's guide: Statistical Analysis System, Release 6.12.*
- 21 **Sharrock A. 1987.** Weaners: Oedema Disease. In: *Proceedings of the 95th J.D. Stewart Memorial Refresher Course for Veterinarians*. pp.1001-1003.
- 22 **Sojka W. J. 1965.** *Escherichia coli* in animals. Farnham Royal: Commonwealth Bureau of Animal Health. [Review Series N° 7]. 231 p.
- 23 **Whipp S.C., Samuel J.E., Gordon V.M., Moon H.W. & O'Brien A.D. 1992.** Vaccination to prevent edema disease in swine. In: *Proceedings of the 12th International Pig Veterinary Society*. (The Hague, The Netherlands). p. 244.

