

Avaliação de um protocolo de inoculação de *Escherichia coli* em leitões desmamados: efeitos no desempenho e na ocorrência de diarreia

Evaluation of an Escherichia coli inoculation protocol in weaned piglets: effects on performance and occurrence of diarrhea

Caio Abércio da Silva^{1*}, Claudia Cassimira da Silva Martins², Maurício Prata², Henrique Fries², Andrea Micke Moreno³, Cleandro Pazinato Dias⁴, Marco Aurélio Callegari⁴, Kelly Lais de Souza⁴, Rafael Humberto de Carvalho^{1,4},

^{1*}Departamento de Zootecnia - Universidade Estadual de Londrina - BR; casilva@uel.com

²DSM Nutritional Products | Animal Nutrition & Health, São Paulo, BR

³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo, - BR

⁴Akei Animal Research, São Paulo, BR

Palavras-chave: desafio, creche, óxido de zinco, pós-desmame

Introdução

As avaliações da performance e da saúde de leitões desmamados em condições experimentais frente a aditivos melhoradores de desempenho podem ser impactadas pelo baixo desafio sanitário por vezes experimentado. Embora os quadros de diarreia pós-desmame tenham um caráter multifatorial, a *Escherichia coli*, considerado o agente primário mais importante desta patologia, demanda condições de colonização para expressão do problema (Luppi. 2017). Em condições de limitados desafios ambientais, alimentares e de manejo, podem não expressar sua patogenicidade. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar um protocolo de desafios com *E.coli* com perfil F18+ e K88+, LT+, STb+ e STa+ para leitões desmamados e a verificação do estabelecimento deste agente no trato digestório e suas consequências no desempenho e na ocorrência de diarreia durante a fase de creche.

Material e Métodos

Foram utilizados 360 suínos, provenientes de uma granja comercial, linhagem PIC®, machos castrados e fêmeas, com idade média de 23 dias e peso corporal de $5.800 \pm 0,2$ kg. Os animais foram submetidos a 3 tratamentos (blocos ao acaso): T1 -Controle; T2 - Com desafio com *E.coli* (C); T3 - C+3500 ppm de óxido de zinco (ZnO) durante a fase pré-inicial (dias 0-21); com 12 repetições por tratamento, com 6 leitões por baia. Os animais receberam água e ração à vontade durante todo o período experimental (42 dias). A cepa *Escherichia coli* LSS-103/2008 (coleção do Laboratório de Sanidade Suína – VPS/USP), com perfil F18+ e K88+, LT+, STb+ e STa+, foi utilizada para o desafio dos leitões. O inóculo de *E.coli* foi preparado na concentração de 1×10^6 UFC/mL e armazenado em pipetas plásticas estéreis seladas, sob refrigeração até o uso. Os animais desafiados receberam 2,5 mL do inóculo no terceiro, quinto e sétimo dias pós-desmame. Leitões do grupo controle receberam o mesmo volume de PBS nos mesmos dias. Foram avaliados o desempenho e a ocorrência de diarreia aquosa e pastosa. Amostras de fezes frescas foram coletadas diretamente do reto de três animais por baia no dia da inoculação (5 dias pós-desmame), e nos dias 7, 10 e 19 após o desmame, e no abate (dias 13 e 19 após o desmame), para contagem de *E.coli*. Nos dias 10 e 19 após o desmame, 12 leitões por tratamento foram eutanasiados para coleta de amostras de digesta e mucosa do íleo para contagem de *E.coli* e qPCR para *E.coli* K88 e F18. Para o desempenho foi aplicado a ANOVA seguido pelo teste de Tukey, para variáveis categóricas binárias foram analisadas usando um Modelo Linear Generalizado (GLM) com teste post-hoc de Tukey.

Resultados e Discussão

No período total do estudo (Tabela 1) somente foi verificado um maior consumo diário de ração para T3 em relação a T2, sem diferenças para os demais parâmetros, identificando com os resultados de Rossi et al. (2012), que trabalharam com leitões desafiados e não desafiados com *E.coli*. T1 e T2 apresentaram mais ocorrências de diarreia (285 e 281, respectivamente), diferindo ($p < 0,001$) de T3 (93 ocorrências), ratificando o efeito do ZnO na minimização deste agente (Mores et al., 1998), mesmo com a indução do desafio. As contagens de *E.coli* nas fezes (Tabela 2) foram influenciadas pela presença do ZnO em todos os dias de avaliação (T3), sendo menores que T1 e T2, que não diferiram entre si, apontando que a inoculação não foi determinante para promover em T2 um efeito distinto de T1. No conteúdo do íleo (Tabela 3) há uma evidência efetiva dos efeitos da inoculação, onde T2 diferiu de T1, sendo maior, e T3, mesmo inoculado, mas pela ação do ZnO apresentou menor contagem ($p < 0,01$). Para a contagem de *E.coli* na digesta de leitões desafiados, determinada por cultivo bacteriano e qPCR para genes F18 e F4 (Tabela 4), houve diferença entre T3 em relação a T1 e T2, com menores valores para o primeiro, apontando que o desafio não foi efetivo para este

parâmetro. Considerando os resultados de contagem, como tratado por Rossi et al. (2021), para uma reprodução efetiva dos desafios da *E.coli* e suas consequências, uma abordagem multifatorial (infecciosa, nutricional e de manejo) é necessária para estabelecer uma efetiva colonização do agente e reproduzir os quadros relacionados e suas consequências.

Conclusões

O protocolo de desafio com *E. coli* promoveu colonização intestinal, mas não resultou em efeitos clínicos distintos entre os grupos controle e desafiado. O óxido de zinco reduziu a carga bacteriana e a ocorrência de diarreia, evidenciando sua eficácia. Conclui-se que a reprodução da colibacilose em condições experimentais requer um modelo multifatorial.

Referências

LUPPI A. Swine Enteric Colibacillosis: Diagnosis, Therapy and Antimicrobial Resistance. *Porcine Health and Management*, v.3, 2017
MORES N et al. Effects of zinc oxide on postweaning diarrhea control in pigs experimentally infected with *E. coli*. I, v.50, p.50:513, 1998.
ROSSI, L. et al. Experimental Induction of *Escherichia coli* Diarrhoea in Weaned Piglets. *Open Journal of Veterinary Medicine*, v.2; p.1-8, 2012.

Tabela 1. Desempenho de leitões desafiados ou não por *E.coli*, segundo os grupos experimentais (T1, T2 e T3).

Parâmetros	T1	T2	T3	CV(%)	p-valor
Peso inicial (Kg)	5,802	5,801	5,802	10,7	0,9998
Consumo diário de ração (g)	682,5ab	649,8b	713,4a	9,4	0,0156
Ganho de peso diário (g)	433,0	418,0	446,0	9,3	0,1172
Conversão alimentar	1,579	1,554	1,601	3,2	0,0653
Peso final (Kg)	23,989	23,355	24,533	8,8	0,1465

^{a-b}Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre tratamentos (p < 0,05).

Tabela 2. Contagem de *E.coli* (UFC/mL e log₁₀) nas fezes de leitões desafiados aos 5 (D+5) e 7 (D+7) dias após a inoculação, segundo os grupos experimentais (T1, T2 e T3).

Contagem Fezes	T1	T2	T3	p-valor
D+5 (UFC/mL)	2,3 x 10 ⁸ a	1,6 x 10 ⁸ a	8,7 x 10 ⁶ b	0,0000
D+7 (UFC/mL)	2,4 x 10 ⁸ a	3,1 x 10 ⁸ a	1,2 x 10 ⁷ b	0,0000
D+5 (Log10)	7,495a	7,670a	6,097b	0,0000
D+7 (Log10)	7,763a	8,009a	6,117b	0,0000

^{a-b}Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre tratamentos (p < 0,05).

Tabela 3. Contagem de *E.coli* no conteúdo de íleo de leitões desafiados, determinada por cultivo bacteriano e qPCR para genes F18 e F4, segundo os grupos experimentais (T1, T2 e T3).

Contagem Íleo (UFC/mL)	T1	T2	T3	p-valor
Íleo	5,9 x 10 ⁶ a	1,2 x 10 ⁷ a	3,7 x 10 ⁴ b	0,0006
qPCR F18	9,6 x 10 ⁶ a	4,9 x 10 ⁶ a	2,9 x 10 ⁴ b	0,0008
qPCR F4	0,0	4,6 x 10 ⁴	1,7 x 10 ²	0,3599

^{a-b}Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre tratamentos (p < 0,05).

Tabela 4. Contagem de *E. coli* na digesta de leitões desafiados, determinada por cultivo bacteriano e qPCR para genes F18 e F4, segundo os grupos experimentais (T1, T2 e T3).

Contagem Digesta (UFC/mL)	T1	T2	T3	p-valor
Digesta	5,6 x 10 ⁷ a	2,0 x 10 ⁷ a	3,1 x 10 ⁵ b	0,0005
qPCR F18	8,6 x 10 ⁶ a	1,7 x 10 ⁶ ab	1,4 x 10 ⁴ b	0,0022
qPCR F4	0,0	3,5 x 10 ³	0,0	0,1228

^{a-b}Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre tratamentos (p < 0,05).