

ANA ELISA DEL'ARCO

**CARACTERIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE *Streptococcus suis* EM SUÍNOS  
CLINICAMENTE DOENTES NO BRASIL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2001  
1

Aos meus pais, Adalberto e Maria Carmem, aos meus irmãos, Júnior e Anamaria, por fazerem parte da minha existência.  
A Oldair, pelo amor e cumplicidade.

## **BIOGRAFIA**

ANA ELISA DEL' ARCO, filha de Adalberto Del' Arco e Maria Carmem Magalhães Del' Arco, nasceu em Teixeira– MG, em 10 de março de 1974.

Em dezembro de 1997, graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

Em abril de 1999, iniciou o Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Viçosa.

## ÍNDICE

RESUMO.....	VI
ABSTRACT.....	VIII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Fatores de virulência.....	5
2.1.1. <i>Muramidase Released Protein e Extracellular Factor</i> .....	5
2.1.2. Suilisina.....	6
2.1.3. Adesinas e Polissacarídeos capsulares.....	6
2.2. Patogenia.....	7
2.3. Sinais clínicos e lesões.....	8
2.4. Identificação do agente.....	8
2.5. Tratamento e prevenção.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. Amostras de campo.....	11
3.2. Testes bioquímicos.....	12
3.3. Questionários.....	12
3.4. Produção de soro hiperimune.....	17
3.4.1. Amostra-padrão.....	17
3.4.2. Preparo do inóculo.....	18
3.4.3. Imunização dos coelhos.....	18
3.4.4. Titulação do soro hiperimune.....	20

3.4.4.1. Teste de aglutinação com 2-mercaptoetanol.....	20
3.4.4.2. Teste de coaglutinação.....	20
3.5. Sorotipagem das amostras.....	21
3.6. Análise dos dados.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1. Testes bioquímicos.....	24
4.2. Caracterização dos rebanhos por meio do questionário.....	25
4.3. Localização geográfica dos isolamentos.....	28
4.4. Distribuição dos isolamentos durante mês e ano.....	30
4.5. Idade dos animais.....	32
4.6. Órgão de isolamento.....	33
4.7. Distribuição dos sorotipos.....	35
4.8. Outros agentes microbianos presentes.....	40
4.9. Relação entre sorotipo de <i>S. suis</i> , órgão de seu isolamento e outros agentes microbianos isolados.....	42
4.9.1. Isolamentos de <i>S. suis</i> no cérebro.....	42
4.9.2. Isolamentos de <i>S. suis</i> no pulmão.....	43
4.9.3. Isolamentos de <i>S. suis</i> no focinho e na traquéia.....	44
4.9.4. Isolamentos de <i>S. suis</i> em casos de septicemia.....	45
4.10. Sensibilidade e resistência das amostras a diversos antibióticos e quimioterápicos.....	49
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

## RESUMO

DEL' ARCO, Ana Elisa, M.S. Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2001. **Caracterização de amostras de *Streptococcus suis* em suínos clinicamente doentes no Brasil.** Orientador: José Lúcio dos Santos. Conselheiros: José Eurico de Faria e Paula Dias Bevilacqua.

No presente trabalho, estudaram-se aspectos epidemiológicos das infecções causadas por *Streptococcus suis*, enfocando, principalmente, a ocorrência dos seus diversos sorotipos. Analisaram-se 323 amostras de *S. suis*, isoladas de animais clinicamente doentes, as quais foram sorotipadas, de acordo com a técnica de coaglutinação, utilizando soro hiperimune produzido para este trabalho. Um questionário foi elaborado e enviado aos proprietários das granjas positivas para *S. suis*. Analisando os questionários recebidos, observou-se que todas as granjas possuem sistema de criação de ciclo completo, 40,5% possuem entre 10 e 20 anos de existência e 38,1% possuem entre 100 e 500 matrizes. Pela sorotipagem das amostras, constatou-se que o *S. suis* está presente em vários estados brasileiros, sendo o maior número de isolados correspondente ao Estado de Minas Gerais (60,1%), seguido de São Paulo (10,4%) e Paraná (8,9%). O sorotipo 2 foi o mais freqüente (61,9%), seguido dos sorotipos 1, 3, 4, 7 e 8. O maior número de isolamentos foi obtido de cérebro (56,0%), seguido do pulmão (9,8%) e casos de septicemia (9,2%). Em relação à sensibilidade a

antibióticos, as amostras de *S. suis* foram mais sensíveis a amoxicilina (96,4%), seguida de lincomicina-espectinomicina (90,9%), ampicilina (87,2%), cloranfenicol (79,1%) e penicilina (71,0%).

## ABSTRACT

DEL' ARCO, Ana Elisa, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, October, 2001.  
**Characterization of *Streptococcus suis* samples of clinically sick pigs in Brazil.** Advisor: José Lúcio dos Santos; Committee members: José Eurico de Faria and Paula Dias Bevilacqua.

In the present work, epidemiological features of *Streptococcus suis* infections were studied, mainly focalizing the serotypes occurrence. It was analyzed 323 *S. suis* isolated samples, of clinically sick pigs. These samples were serotyped following the coagulation method, using hyperimmune sera, specially produced for this work. A questionnaire was developed and then sent to farmers that had *S. suis* positives pigs. Analyzing the received questionnaires, it was observed that all farms have farrow-to-finish production system, 40,5% have 10 to 20 years of production and 38,1% had between 100 and 500 sows. Serotyping these samples, it was noticed that *S. suis* is present in several Brazilian states, and the greater number of them belong to Minas Gerais, followed by São Paulo (10,4%) and Paraná (8,9%). The serotype 2 was the most frequent one (61,9%), followed by the serotypes 1, 3, 4, 7 and 8. The greater number of isolations occurred in brain (56,0%), followed by lung (9,8%) and septicemic cases (9,2%). Regarding to drugs' sensitivity, the *S. suis* isolated samples were more sensitive to amoxicillin (96,4%), followed by lincomycin-spectinomycin (90,9%), ampicillin (87,2%), chloranphenicol (79,1%) and penicillin (71,0%).

## 1. INTRODUÇÃO

Durante a última década, a indústria suinícola direcionou seus maiores esforços para a produção de rebanhos com baixo nível de doença. Mas, nos últimos anos, o *Streptococcus suis* tem emergido como um importante patógeno na suinocultura mundial, particularmente em rebanhos de elevado estado de sanidade.

A infecção causada pela bactéria *S. suis* é um problema disseminado nos países de maior produção suína no mundo. Por ela fazer parte da flora normal de suínos e por ser transmitida durante o parto, não pode ser erradicada com as novas metodologias de criação, como a desmama precoce. O problema tem recebido grande atenção nos últimos anos em razão das grandes perdas econômicas, as quais estão relacionadas com a mortalidade e o custo dos processos infecciosos, incluindo medicação para animais infectados e para aqueles sob risco de infecção e perdas por menor peso de carcaça dos animais afetados.

O *S. suis* é responsável por uma grande variedade de infecções como meningite, pneumonia, septicemia e artrite. Vários sorotipos já foram identificados e sua patogenia, ainda hoje, é objeto de estudo para melhor compreensão deste processo.

No Brasil, a meningite tem se tomado um problema cada vez maior na suinocultura com alta tecnologia de produção, mas ainda não se conhecem os sorotipos que estão envolvidos, principalmente aqueles que estão causando doença. Além disso, ainda não se conhecem os aspectos epidemiológicos das infecções causadas por esta bactéria, nem as características dos rebanhos afetados.

Segundo o relatório final do Encontro Técnico da ABRAVES nacional sobre meningite estreptocócica em suínos, uma das prioridades para o Brasil seria a caracterização dos sorotipos do *Streptococcus suis*, bem como o estudo dos fatores de risco relacionados com a infecção (VAZ, 1999).

Além disso, com o aumento da restrição ao uso de antibióticos na

produção suinícola, juntamente com a pressão exercida por parte das indústrias de exportação em relação à restrição aos antibióticos, torna-se cada vez maior a necessidade do entendimento da infecção causada pelo *S. suis*, para que o combate a este agente seja mais efetivo e que vacinas mais efetivas possam ser desenvolvidas. O primeiro passo para este desenvolvimento é o conhecimento dos sorotipos envolvidos nos processos infecciosos.

Os objetivos do presente trabalho foram determinar a frequência dos sorotipos de *Streptococcus suis* do 1 a 9 e ½ em suínos clinicamente doentes, e estudar a epidemiologia das infecções e as características das granjas afetadas por esta bactéria.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Na década de 50, na Inglaterra e Holanda, foram relatados, pela primeira vez, casos de meningite e artrite em leitões causados por *Streptococcus* (FIELD et al., 1954; Jansen e Dorssen, 1951, citados por SANFORD e HIGGINS, 1992). Em 1963, eles foram classificados por de Moor em dois grupos *Lancefield*: S e R (de Moor, 1963, citado por SANFORD e HIGGINS, 1992). Em 1975, o organismo foi classificado como pertencendo ao grupo D e a classificação de S e R foi substituída por *Streptococcus suis* tipo I e II, respectivamente (WINDSOR e ELLIOT, 1975). Somente em 1987, o *S. suis* foi oficialmente descrito como uma nova espécie por Kilpper-Balz e Schleifer, mostrando que o *S. suis* é uma espécie geneticamente homogênea e diferente dos demais membros do grupo *Lancefield* D (SANFORD e HIGGINS, 1992).

O *S. suis* é uma bactéria gram positiva, hemolítica e anaeróbica facultativa; um coco bacilo que ocorre sozinho, em pares, e raramente em cadeias curtas. Já foram identificados 35 sorotipos do *S. suis* (1 ao 34 e o 1/2), sendo os mais freqüentemente associados à doença os sorotipos 2 e 1. Mas outros sorotipos também têm sido relacionados a quadros infecciosos em diversos países, como os sorotipos 1/2, 3, 4, 8, 17, 19 e 21 no Canadá (GOTTSCHALK et al., 1993); 7, 8 e 14 no Reino Unido (MACLENNAN et al., 1996); 1/2, 3, 8, 9 e 14 na Espanha (LUQUE et al., 1998); 3, 4, 7 e 9 na Alemanha e 1/2, 3, 4, 7 e 9 na Itália (WISSELINK et al., 2000).

No Brasil, REIS et al. (1980) isolaram *Streptococcus* alfa hemolíticos de leitões e FARINHA et al. (1981) de cérebro de suínos. Outros trabalhos relatam o isolamento do *S. suis* em diversas regiões do país (BARCELLOS et al., 1984; GARCIA e SCHONHOFEN, 1988; BARCELLOS et al., 1995; GIMENES et al., 1997), mas apenas classificaram as amostras como pertencentes aos sorotipos I e II. Somente a partir de 1999, ocorreram as primeiras descrições da distribuição dos sorotipos desta bactéria no Brasil (SANTOS et al., 1999; SANTOS et al., 2000).

Alguns sorotipos têm sido isolados de animais saudáveis e, segundo estudo realizado por DEVRIESE et al. (1994), esta espécie faz parte da flora

normal de tonsilas e intestino de suínos. O *S. suis* também tem sido isolado de outras espécies como ruminantes, gatos, cachorros, cavalos e humanos (SANFORD e HIGGINS, 1992; GOTTSCHALK et al., 1998). Em humanos, a bactéria pode causar meningite e choque séptico, sendo considerada uma doença ocupacional (FRANÇOIS et al., 1998).

A doença tem maior incidência em granjas de produção intensiva, com animais totalmente confinados e alta densidade. Altas taxas de infecção são atribuídas à má condição sanitária e doença concomitante. O uso da desmama precoce medicada, objetivando erradicar o *S. suis*, tem falhado, já que a infecção da leitegada ocorre durante ou logo após o parto (DEE et al., 1993; DRITZ et al., 1996a; AMASS et al., 1997).

A introdução do agente ocorre através de animais portadores assintomáticos, geralmente animais do rebanho reprodutivo. Os leitões tornam-se infectados durante o parto, quando entram em contato e, ou, deglutem a bactéria da secreção vaginal da porca (AMASS et al., 1997). Após a desmama, os leitões infectados disseminam o agente para os demais leitões presentes (TORREMORELL e PIJOAN, 1998). Os surtos ocorrem mais comumente em animais de 4 a 12 semanas e seu pico, geralmente, acontece na creche (em torno de 6 semanas). A mortalidade pode variar entre 4 e 14% (TORREMORELL et al., 1998). Animais de qualquer idade podem ser afetados, mas geralmente a susceptibilidade diminui com o aumento da idade. Em rebanhos, em que o *S. suis* é endêmico, uma parte dos animais torna-se portadora assintomática (DEE et al., 1993; STAATS et al., 1997).

## **2.1. Fatores de virulência**

A virulência varia entre as amostras de *S. suis*, sendo que nem todos os sorotipos e nem todos os isolados de um mesmo sorotipo causam doença. OKWUMABUA et al. (1995) mostraram que existe uma certa heterogeneidade genética entre os sorotipos e até mesmo entre amostras de um mesmo sorotipo. Amostras virulentas e avirulentas de um mesmo sorotipo puderam ser

distinguidas por possuírem heterogeneidade genômica. São comuns de serem encontradas amostras do sorotipo 2 virulentas, moderadamente virulentas e avirulentas (STAATS et al., 1998).

Em um estudo sobre a diversidade filogenética do *S. suis*, CHATELLIER et al. (1998) mostraram que todos os sorotipos são muito semelhantes, sendo mais divergentes apenas os sorotipos 20, 22, 26, 32, 33 e 34. Apesar desta divergência, não foram encontrados outros subsídios para caracterizar uma outra espécie.

Os fatores de virulência ainda não estão muito bem definidos, apesar de já terem sido identificados alguns, ainda não se conhecem seus mecanismos de ação.

### **2.1.1. Muramidase Released Protein e Extracellular Factor**

O tipo 2 virulento possui a MRP (*muramidase released protein*), proteína de 136 kDa presente na cápsula, e a EF (*extracellular factor*), proteína de 110 kDa, que é secretada no meio pela célula. Acredita-se que a MRP possa se ligar a fibronectinas e assim auxiliar na resistência à fagocitose. Ela apresenta semelhança às proteínas M presentes em outras espécies de *Streptococcus* que possuem esta função. Alguns autores acreditavam serem estas proteínas necessárias para a atuação completa da virulência (QUESSY et al., 1995; VECHT et al., 1996; SMITH et al., 1997; STAATS et al., 1999). Por outro lado, pesquisas recentes têm demonstrado que, apesar da presença destas estar associada à doença, a sua atuação não é necessária para que uma amostra seja virulenta. Já foram encontradas amostras que, apesar de virulentas, não possuíam a expressão de um ou dos dois fatores (SMITH et al., 1996; GOTTSCHALK et al., 1998; STAATS et al., 1998; STAATS et al., 1999; GOTTSCHALK e SEGURA, 2000).

### **2.1.2. Suilisina**

O *S. suis* também produz uma hemolisina (suilisina) que parece ter um papel importante na virulência (FEDER et al., 1994). Esta proteína pertence à família de toxinas que são conhecidas como antígenicamente relacionadas a toxinas “colesterol-binding”, pois possui características semelhantes a toxinas pertencentes a esta família, como sensibilidade a oxigênio e outros agentes oxidantes e inibição por pequenas quantidades de colesterol (GOTTSCHALK et al., 1995). Apesar de ela ser colocada como um fator de virulência importante (STAATS et al., 1998; CHARLAND et al., 2000), algumas amostras que não produzem esta toxina também são virulentas, o que demonstra a necessidade de maiores estudos para esclarecimento da sua função (GOTTSCHALK et al., 1998; STAATS et al.,

1999).

### **2.1.3. Adesinas e Polissacarídeos capsulares**

As adesinas são proteínas presentes na cápsula do *S. suis*. Algumas amostras possuem maior poder de aderência às células, o que pode ser importante para a fixação da bactéria no momento da colonização e posterior invasão dos tecidos (GOTTSCHALK et al., 1991a).

Um outro fator de virulência potencial, presente na bactéria, são os polissacarídeos capsulares, dentre os quais o ácido siálico seria o responsável por esta função. O ácido siálico inibe a via alternativa do complemento e protege a bactéria da fagocitose (GOTTSCHALK et al., 1991a; CHARLAND et al., 1995). Mas a participação deste ácido na patogênese ainda é discutida, pois nem todos os sorotipos o possuem em grande quantidade como em outras espécies de *Streptococcus* (CHARLAND et al., 1997). Alguns trabalhos demonstraram que a ausência destes polissacarídeos está relacionada com o aumento da hidrofobicidade e da fagocitose, o que sugere alguma função destes na virulência do microrganismo (SALASIA et al., 1995; CHARLAND et al., 1998).

## **2.2. Patogenia**

Assim como em outras doenças bacterianas ou virais, o estresse pode precipitar a infecção causada por *S. suis*. Condições como superpopulação, má ventilação, mudança brusca de temperatura, mistura de lotes, movimentações, vacinações e doenças concomitantes são fatores estressantes que podem participar deste processo (DEE et al., 1993).

A patogenia da meningite causada pelo *Streptococcus suis* ainda não está completamente esclarecida. Existem algumas hipóteses, mas ainda são necessários mais estudos para o entendimento completo deste mecanismo.

O *S. suis* tipo 2 é transmitido por via nasal ou oral e coloniza as tonsilas. Geralmente, aceita-se que este seja o local de maior replicação. Alguns animais serão apenas portadores assintomáticos e nunca desenvolverão a doença, enquanto outros, mais cedo ou mais tarde, irão desenvolver bacteremia, algumas vezes septicemia, e finalmente meningite. Neste caso, a

bactéria deve circular pelo organismo através da corrente circulatória e então alcançar o sistema nervoso central (GOTTSCHALK e SEGURA, 2000).

A primeira teoria desenvolvida seria de que células mononucleares poderiam fagocitar a bactéria e carregá-la para o sistema nervoso central, articulações e cavidades serosas (GOTTSCHALK et al., 1992; SANFORD e HIGGINS, 1992).

Mas de acordo com estudos recentes, observou-se que amostras de alta virulência resistem à fagocitose e possuem alta capacidade de aderência a células. Além disso, observou-se que o *S. suis* não possui a capacidade de lesar as células que compõem a barreira hematoencefálica (CHARLAND et al., 1998; CHARLAND et al., 2000; GOTTSCHALK e SEGURA, 2000). Então, tem sido sugerido que o *S. suis* possa invadir o sistema nervoso central através da invasão das junções intercelulares da barreira hematoencefálica, por ocorrer aderência a este tipo de célula, mas a bactéria não causa lesão (CHARLAND et al., 2000).

Outra hipótese seria que, após a aderência às células da barreira hematoencefálica, as bactérias possam secretar fatores tóxicos, os quais afetariam as células endoteliais. Estes fatores poderiam aumentar a permeabilidade da barreira, o que poderia acarretar edema cerebral, aumento da pressão intracraniana e bloqueio do fluxo sanguíneo, característicos da meningite. Um dos mecanismos poderia ser a estimulação da liberação de citocinas que acarretariam estas mudanças (GOTTSCHALK e SEGURA, 2000).

### **2.3. Sinais clínicos e lesões**

Em casos agudos da doença, os sinais clínicos que podem ser observados são: febre, depressão, anorexia, sinais clínicos nervosos como ataxia, incoordenação, tremores, opstotomus, pedalagem, paralisia, convulsões e nistagmo. Pode-se observar, ainda, morte súbita, abortamento, eritema e artrite (GOGOLEWSKI et al., 1990; GALINA et al., 1994; VECHT et al., 1996).

O aumento de volume do fluido cérebro espinhal que acompanha a meningite causa um aumento na pressão intracraniana, possivelmente danificando neurônios e levando ao aparecimento dos sinais clínicos (SANFORD e HIGGINS, 1992).

As lesões mais encontradas são: congestão das meninges, encefalite, edema e congestão do cérebro, além de septicemia, pneumonia e endocardite (SANFORD, 1987; GOGOLEWSKI et al., 1990; GALINA et al., 1994; KATSUMI et al., 1997; LUQUE et al., 1998).

### **2.4. Identificação do agente**

A identificação da bactéria como agente etiológico é geralmente feita a

partir do seu isolamento de animais doentes, em laboratório. As colônias são pequenas, esverdeadas ou transparentes e levemente mucóides em ágar sangue. Os parâmetros bioquímicos devem ser usados como uma complementação dos testes sorológicos, pois não são critérios satisfatórios para uma identificação clara dos isolados (PAYVANDI et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991b). O comportamento bioquímico mais usado é: catalase negativo, Voges-Proskauer (acetoina) negativo, amilase positivo e não-crescimento em meio com 6,5% de NaCl (DEVRIESE et al., 1991; GOTTSCHALK et al., 1993; VECHT et al., 1996; AMASS et al., 1997; LUQUE et al., 1998).

Outros métodos de diagnóstico têm sido desenvolvidos, como imunohistoquímica, em que se utiliza imunofluorescência direta e peroxidase anti-peroxidase (BOYE et al., 2000). Desenvolveram-se, também, alguns testes ELISA na intenção de agilizar o processo de diagnóstico do agente causador de infecção ou de identificar rebanhos positivos para *S. suis* (KATAOKA et al., 1996; GALINA et al., 1996). Recentemente, testes de reação de polimerase em cadeia (PCR) têm sido desenvolvidos, mostrando alta sensibilidade e alta especificidade (WISSELINK et al., 1999).

A classificação dos diversos sorotipos é realizada por meio de identificação de antígenos capsulares através de reação antígeno-anticorpo. Vários métodos têm sido usados, como aglutinação em lâmina, imunodifusão e coaglutinação (GOTTSCHALK et al., 1989; PAYVANDI et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991b; TARRADAS et al., 1994; AMASS et al., 1997; STAATS et al., 1997; LUQUE et al., 1998).

Na coaglutinação, a imunoglobulina G do soro se liga à proteína A do *Staphylococcus aureus* que é misturado com o isolado a ser identificado. Esta ligação faz com que as porções Fab das imunoglobulinas G fiquem voltadas para fora, o que facilita a ligação destas com o antígeno específico para aquele anticorpo. A reação positiva é caracterizada pela formação distinta de grandes agregados (CHRISTENSEN et al., 1973; GOTTSCHALK et al., 1993).

A coaglutinação foi usada para identificação de grupos de *Streptococcus* por CHRISTENSEN et al. (1973) para facilitar a classificação de amostras isoladas entre os diversos grupos *Lancefield*. Com a identificação dos diversos sorotipos do *S. suis*, este teste passa a ser usado como descrito por CHRISTENSEN et al. (1973), ou com algumas modificações (PAYVANDI et al.,

1989; GOTTSCHALK et al., 1993). Por ser fácil e rapidamente realizada, a coaglutinação tem sido o teste escolhido por vários autores para identificação dos diversos sorotipos desta bactéria em questão (PAYVANDI et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1993; GALINA et al., 1996; AMASS et al., 1997; HIGGINS e GOTTSCHALK, 1999; SANTOS et al., 1999; SANTOS et al., 2000; WISSELINK et al., 2000).

## **2.5. Tratamento e prevenção**

Para animais que apresentam sinais clínicos, as drogas de escolha são penicilina ou ampicilina injetável. Casos de resistência à penicilina têm sido relatados desde 1980, o que impõe cada vez mais a necessidade de fazer antibiogramas para conhecer a sensibilidade de diferentes amostras isoladas (TURGEON et al., 1994). Outros relatos de aumento de resistência a diversos antibióticos são encontrados na literatura (WASTENSON et al., 1994; AARESTRUP et al., 1998a e b). É importante lembrar que animais com comprometimento avançado do sistema nervoso central são difíceis de recuperar. Por isso, o tratamento deve ser feito o mais cedo possível. O uso de medicação estratégica em períodos com maior probabilidade de ocorrência de surtos é o mais indicado. Fatores relacionados ao manejo que levam a um aumento de estresse devem ser minimizados, bem como o controle de outras doenças que podem agravar o quadro também deve ser feito (SANFORD e HIGGINS, 1992).

O uso de vacinas para controle do *S. suis* ainda não alcançou os resultados almejados. Apesar de vários estudos realizados com o intuito de esclarecer quais mecanismos, relacionados à resposta imunológica (celular e humoral), são importantes para a proteção do animal, ainda não se conhecem com clareza os caminhos necessários para a produção de vacinas realmente eficazes (HOLT et al., 1989; JACOBS et al., 1996; SEPÚLVEDA et al., 1996; BUSQUE et al., 1997).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi realizado no laboratório de Microbiologia e no coelhil do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

#### **3.1. Amostras de campo**

As amostras utilizadas neste trabalho, para sorotipagem, foram cedidas pelo laboratório Microvet (Microbiologia Veterinária Especial LTDA, Viçosa, MG, Brasil). Estas amostras, que constituem um total de 323, estavam liofilizadas e foram isoladas a partir de órgãos de animais doentes que foram enviados para diagnóstico laboratorial durante os anos de 1995 a 2001. Os dados referentes a cada amostra isolada também foram cedidos pelo referido laboratório. As informações, que constituíram a base do banco de dados utilizado neste trabalho, consistem em: propriedade, município, estado, data de isolamento, idade do animal, órgão de isolamento, outros agentes bacterianos isolados, sensibilidade ou resistência a amoxicilina, ampicilina, cloranfenicol, lincomicina-espectinomicina, norfloxacina, penicilina, sulfa e trimetoprim e tetraciclina. Vale ressaltar que estes dados, por serem de origem secundária, ou seja, dados oriundos de um banco de dados preexistente, não estavam completos em todas as amostras.

### **3.2. Testes bioquímicos**

As amostras de *S. suis*, cedidas pelo laboratório Microvet, foram submetidas a testes bioquímicos preconizados para identificação do *S. suis*, que consistem em catalase, amilase, crescimento em meio com 6,5 % de NaCl e teste Voges-Proskauer (DEVRIESE et al., 1991; GOTTSCHALK et al., 1993; VECHT et al., 1996; AMASS et al., 1997; LUQUE et al., 1998). Estes testes foram realizados anteriormente à sorotipagem destas amostras.

### **3.3. Questionários**

A partir dos dados cedidos pelo laboratório Microvet, referentes a cada amostra de *S. suis* isolada, elaborou-se um questionário para ser enviado aos proprietários das granjas positivas (Figura 1), com a finalidade de melhorar os dados epidemiológicos referentes ao estudo da infecção por *S. suis*, complementando, assim, os dados contidos nos exames referentes ao isolamento de cada amostra. Enviou-se o questionário, via correio, para 160 propriedades. Não houve possibilidade de envio para todas as propriedades (191) por falta de endereço de algumas delas. O envelope com o questionário continha, ainda, correspondência explicativa e envelope menor selado e subscrito para devolução via correio. Por telefone, manteve-se contato com os proprietários, solicitando o preenchimento e a devolução dos questionários.



6. Existem instalações separadas para cada fase de produção?  
 Sim Não
7. A formação dos lotes ocorre por  
 Leitegada Tamanho  
 Desmame Semana (idade)
8. Qual a granja mais próxima?  
 500m 500-1.000m > 1.000m
9. Quais as doenças existentes na granja?  
 Pneumonia enzoótica Rinite atrófica Pleuropneumonia  
*Haemophilus parasuis* Livre de doenças respiratórias
10. Quais as vacinas utilizadas na propriedade?
- 
- 
11. São utilizadas vacinas autógenas?  
 Sim Não  
 Quais?
- 

### Enfermidade com sintomatologia nervosa

1. Número de animais envolvidos  
 5 5-10 10-20  
 20-40 40-100 >100
2. Quais os sintomas observados na ocasião do surto?  
 Febre Diarréia Prostração  
 Incoordenação motora Cegueira Tremor muscular  
 Posição de cão sentado Ataxia Edemas  
 Olhos tremendo Olhos vermelhos Morte  
 Pedalagem e cabeça voltada para trás (opstotomus)
3. Há outras espécies animais envolvidas?  
 Sim Não
- Quais?  
 Bovinos Caninos  
 Felinos Outras

Figura 1, Cont.

4. Ocorreram surtos prévios de doenças com sintomatologia nervosa?

Sim

Não

5. Houve diagnóstico?

Clínico

Laboratorial

Qual o tipo?

Bacteriológico

Anatomo-patológico

Histopatológico

Resultado: \_\_\_\_\_

6. Houve, anteriormente, algum diagnóstico e, ou isolamento de *Streptococcus suis* na sua propriedade?

Sim

Não

Quando: \_\_\_\_\_

Quem fez o isolamento: \_\_\_\_\_

Quais os sorotipos encontrados: \_\_\_\_\_

7. A que você atribuiu a introdução ou desenvolvimento da doença na sua granja?

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

8. Qual o mês do ano em que mais ocorre?

J F M A M J J A S O N D

Qualquer mês

Todos

9. Qual a idade dos animais atingidos?

Maternidade

Creche

Recria

Terminação

Reprodutores

10. Quais os sintomas predominantes?

Nervosos

Respiratórios

Articulares

11. Quais amostras e, ou, órgãos coletados para diagnóstico?

Swabs de tonsilas

Soro

Tonsilas

Cérebro

Pulmão

Intestino

Articulações

Baço

Outros: \_\_\_\_\_

Figura 1, Cont.

12. Sobre os exames realizados, responda:  
Quais as drogas que pelo antibiograma foram sensíveis?

---

Qual a droga utilizada na sua granja para o controle da meningite streptocócica?

Penicilina

Amoxicilina

Sulfazotrim

Oxitetraciclina

Outras: \_\_\_\_\_

Qual o esquema e dose da medicação?

---

---

Qual foi o resultado da medicação usada?

Controlou o problema

Não controlou

Controlou durante o período de uso

Transferiu para os mais velhos

13. Você usa vacina na sua granja contra *Streptococcus suis*?

Sim

Não

A vacinação:

Controlou o problema

Não controlou

Controlou com o uso simultâneo de antibiótico

A vacina é específica para meningite

A vacina é mista

Qual o esquema de vacinação utilizado?

---

---

Figura 1, Cont.

### 3.4. Produção de soro hiperimune

Para identificação dos sorotipos das amostras utilizadas neste trabalho, produziu-se soro hiperimune. Esta produção foi necessária devido à não existência de soro-padrão suficiente para sorotipar todas as amostras.

#### 3.4.1. Amostra-padrão

Entre as amostras de campo utilizadas neste trabalho, algumas foram selecionadas para servirem de padrão para a produção de soro hiperimune. Estas amostras foram identificadas de acordo com o seu sorotipo, utilizando-se soro-padrão para os sorotipos de 1 a 9 e o ½ Este soro-padrão foi adquirido por meio do Professor Marcelo Gottschalk da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Montreal (Quebec, Canadá). A partir das amostras identificadas por meio do teste de coaglutinação, estas foram utilizadas para a produção do soro hiperimune a ser utilizado para sorotipagem das amostras restantes.

Quadro 1 – Amostra-padrão de *S. suis* e o seu sorotipo correspondente

Amostras de <i>Streptococcus suis</i>	Sorotipo
MV 135	1
MV 261	2
MV 221	3
MV 220	4
MV 036	5
MV 136	6
MV 178	7
MV 123	8
MV 233	9
MV 048	½

### 3.4.2. Preparo do inóculo

A hiperimunização dos coelhos foi adaptada, segundo método sugerido por SANTOS (1997). As amostras de *S. suis*, definidas como padrão, foram incubadas a 37 °C por 18 h em meio Todd Hewitt<sup>1</sup> acrescido de 2% de Ágar-ágar<sup>2</sup> e sangue de carneiro desfibrinado a 10%. As células foram coletadas em 1,5 mL de salina (solução fisiológica) e centrifugadas a 1.500 rpm por 15 min, duas vezes. Ao precipitado, adicionou-se salina formalada a 0,2% e deixado em incubação à temperatura ambiente por 12 a 18 h. Concomitantemente, foi preparado e analisado um esfregaço corado pela coloração de Gram, para verificação da presença de outros microrganismos considerados contaminantes. Também, com a intenção de verificação de contaminantes, as placas utilizadas para coleta de células foram incubadas a 37 °C por mais 24 h para observação de crescimento microbiano. Após o período de incubação, a suspensão de células foi centrifugada e ressuspendida em salina formalada a 0,2%. A sua concentração foi ajustada para o tubo 9 da escala de McFarland, o que corresponde para o *S. suis* a, aproximadamente,  $4,6 \times 10^9$  unidades formadoras de colônia (UFC). Adquiriu-se esta concentração por meio do método de contagem de colônias em placa. Somente as suspensões consideradas livres de qualquer contaminação foram utilizadas nas etapas posteriores.

Para a preparação do inóculo, adicionou-se adjuvante oleoso (Emulsigen®)<sup>3</sup> na concentração de 20%.

### 3.4.3. Imunização dos coelhos

Coelhos provenientes do setor de Cunicultura da Universidade Federal de Viçosa foram utilizados para a produção do soro hiperimune. Os animais foram alojados com três semanas de antecedência do início das aplicações, para adaptação ao novo ambiente, e mantidos em gaiolas individuais até o final da produção de soro, onde receberam duas aplicações de ivermectina (Ivomec®), na dose de 0,06 mL, com intervalos de 15 dias. Estas aplicações

---

<sup>1</sup> Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA

<sup>2</sup> Grupo Química, Penha, RJ, Brasil

<sup>3</sup> MVP Laboratories, NE, EUA

tiveram a finalidade de prevenção de ectoparasitas durante o processo de imunização dos animais. Para cada sorotipo, utilizaram-se três coelhos.

Em cada animal, realizaram-se três aplicações da suspensão bacteriana adicionada de adjuvante oleoso, por via intramuscular nos membros posteriores. A primeira dose de 2 mL, sendo aplicado 1 mL de cada lado do animal, a segunda de 1 mL e a terceira de 2 mL, aplicada da mesma forma que a primeira, mantendo-se entre as aplicações um intervalo de 15 dias. Com um intervalo de quatro dias, após esta última aplicação intramuscular, foi iniciado o período em que foram realizadas seis aplicações intravenosas, na veia marginal da orelha do animal, de 0,5 mL da suspensão bacteriana inativada, sem a adição do adjuvante. O intervalo entre as aplicações foi de quatro dias, conforme Quadro 2.

Quadro 2 - Esquema de aplicação para a produção do soro hiperimune

Aplicação	Dias
1ª inoculação intramuscular	0
2ª inoculação intramuscular	16
3ª inoculação intramuscular	32
1ª inoculação intravenosa	37
2ª inoculação intravenosa	42
3ª inoculação intravenosa	47
4ª inoculação intravenosa	52
5ª inoculação intravenosa	57
6ª inoculação intravenosa	62
7ª inoculação intravenosa	66
8ª inoculação intravenosa	70

### 3.4.4. Titulação do soro hiperimune

Antes de sacrificar os animais, estes foram testados quanto ao título de anticorpos presentes, a partir da oitava aplicação endovenosa. Para tal, utilizaram-se o teste de aglutinação com 2-mercaptoetanol e o teste de coaglutinação, segundo GOTTSCHALK et al. (1993).

#### 3.4.4.1. Teste de aglutinação com 2-mercaptoetanol

Para o teste de aglutinação com o 2-mercaptoetanol, o soro coletado dos animais foi incubado a 56 °C por 30 min. Após este período, este soro foi diluído em salina adicionada de 2-mercaptoetanol em concentrações de 1:2 a 1:256. As mesmas quantidades de antígeno e soro (400 µL) foram adicionadas em cada tubo e estes incubados a 37 °C por 24 h. Utilizou-se como antígeno a mesma suspensão bacteriana descrita para a produção do inóculo, também ajustada para a concentração do tubo 9 da escala de McFarland.

#### 3.4.4.2. Teste de coaglutinação

Para o teste de coaglutinação, houve primeiramente preparo do reagente de coaglutinação. Faz parte do reagente o soro hiperimune, neste caso o soro dos coelhos que estavam sendo testados. Este reagente foi, então, misturado com antígeno específico, neste caso, suspensão bacteriana de cada sorotipo, e a reação observada em até 60 s.

Preparou-se o reagente, utilizando-se *Staphylococcus aureus* Cowan 1. O *S. aureus* foi cultivado em ágar tripton-soja<sup>1</sup> por 18h a 37 °C. As células foram coletadas em quatro mL de PBS, pH 7,4. Após centrifugar esta suspensão duas vezes (1.500 rpm por 15 min), as células foram ressuspendidas em quatro mL de PBS acrescido de 0,5% formalina e conservadas em temperatura ambiente por 3 h. Ao final deste tempo, a suspensão foi centrifugada novamente e ressuspendida em PBS, pH 7,4. Aqueceu-se a suspensão a 80 °C por 5 min e, rapidamente, resfriada em gelo. A cada um mL desta suspensão, adicionaram-se 50 µL de soro de cada coelho

---

<sup>1</sup> Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA

que estava sendo testado e a suspensão mantida à temperatura ambiente por 60 min. A mistura foi agitada a cada 15 min. Em seguida as suspensões foram centrifugadas duas vezes e ressuspensas em PBS.

Para realização do teste, utilizou-se como antígeno a suspensão bacteriana descrita para a produção do inóculo. Numa placa de vidro, misturou-se uma gota do reagente de coaglutinação com uma gota da suspensão bacteriana. A aglutinação foi observada dentro dos 60 s iniciais. Considerou-se positiva a reação forte e instantânea após a mistura do antígeno com o reagente de coaglutinação.

Os coelhos que foram positivos no teste de coaglutinação e que tiveram o título igual ou superior a 1:32 no teste de aglutinação com 2-mercaptoetanol foram sangrados. A coleta do sangue ocorreu por punção cardíaca.

O soro hiperimune produzido, correspondente ao sorotipo 6, foi submetido ao processo de adsorção, por apresentar reação cruzada com o sorotipo 8. Colocou-se a mesma quantidade de soro e do antígeno a ser adsorvido (inóculo referente ao sorotipo 8) em um tubo. Este foi deixado incubado por 30 min a 37 °C e, em seguida, centrifugado (1.500 rpm) por 15 min. O sobrenadante foi então testado novamente quanto à reatividade tanto com o sorotipo 6 quanto com o 8. Os coelhos que manifestaram esta reação cruzada só foram sacrificados após o teste com o soro adsorvido ter reação de coaglutinação forte com o sorotipo 6, apresentar título igual ou superior a 32 e não reagir com o sorotipo 8.

### **3.5. Sorotipagem das amostras**

A sorotipagem das amostras de *S. suis* foi realizada, segundo GOTTSCHALK et al. (1993). Amostras liofilizadas foram reidratadas e inoculadas em meio Todd Hewitt acrescido de 2% de Ágar-agar e 10% de sangue de carneiro desfibrinado. As placas foram incubadas a 37 °C por 18 h e, ao final deste período, a massa bacteriana foi coletada em 1,5 mL de salina. A suspensão foi centrifugada duas vezes por 15 min (1.500 rpm), ressuspensa em salina acrescida de 0,2% de formalina e deixada à temperatura ambiente por 12 a 18 h. Esta suspensão bacteriana foi utilizada como antígeno para o teste de coaglutinação.

Uma gota desta suspensão bacteriana foi misturada com uma gota do reagente de coaglutinação preparado para cada sorotipo, como descrito acima, e a aglutinação verificada em placas de vidro, no tempo de 30 a 60 s. Como controle negativo, utilizou-se uma amostra de *Escherichia coli* isolada de intestino de leitão de maternidade.

### **3.6. Análise dos dados**

Os dados cedidos pelo laboratório Microvet e aqueles gerados com a sorotipagem foram compilados e analisados no programa Epi Info 6.4 (CDC, Atlanta, EUA).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudaram-se 323 amostras de *S. suis*, cedidas pelo laboratório Microvet, isoladas no período de 1995 a 2001. Estas amostras estavam distribuídas em 191 granjas de suínos que tiveram, em pelo menos um momento, surto de doença causada por *Streptococcus suis*. Do total de 323 amostras, 15 foram enviadas já isoladas, e não continham todos os dados utilizados para caracterização da infecção. Mesmo assim continuaram fazendo parte do banco de dados por serem de um mesmo proprietário, mas de unidades de produção diferentes, o que poderia caracterizar uma contaminação ao longo do tempo com uma mesma amostra, fato importante do ponto de vista epidemiológico para a região.

Este valor é de relevância quando se consideram os dados gerados a partir destas amostras. Contudo, deve-se ter certa cautela ao analisá-los e extrapolá-los para as granjas brasileiras, pois se deve lembrar que estes dados são secundários, utilizados a partir de demanda laboratorial, não sendo coletada qualquer amostra além deste universo.

Segundo dados do último censo agropecuário, realizado entre 1995 e 1996, existem 2.007.945 propriedades rurais que possuem suínos (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE, 1998). Porém, estes dados não representam bem o universo do presente estudo, uma vez que o mesmo seria mais bem representado por propriedades com criação de suínos para comercialização e que tenha como objetivo a criação racional, visando lucratividade. Com isso, a preocupação com o estado sanitário do rebanho. Os números do censo traduzem um universo que compreende os produtores que se encaixam neste estudo, além daqueles que possuem suínos para alimentação ou criação de subsistência, sendo que a venda ocorre apenas com o excesso que não é

consumido pela família. E ainda agrega também qualquer propriedade rural que tenha pelo menos um suíno.

Quando se levam em consideração os dados do censo, observa-se que a amostragem, neste estudo, corresponde a 0,016% das propriedades nacionais, o que torna o valor desta amostragem extremamente subestimado.

De acordo com dados do Instituto Mineiro de Agropecuária<sup>1</sup>, Minas Gerais possui um total de 1.585 granjas cadastradas no projeto de erradicação da Peste Suína Clássica. Este universo pode ser considerado mais adequado para caracterizar a população referente a este estudo, por se tratarem de granjas com criação de suínos para comercialização. A amostragem em relação a este Estado seria de 12,7%. Como será descrito, posteriormente, a quantidade de amostras para outros Estados brasileiros é bem menor do que o número de amostras para Minas Gerais. Por isso, mesmo sem o total de granjas destes Estados, pode-se dizer que a amostragem para Minas Gerais pode ter maior representatividade que para os demais Estados.

Desta forma, os dados referentes às amostras estudadas serão analisados com a ressalva de que podem não representar a realidade nacional, apesar de em Minas Gerais esta amostragem ser alta. Assim, as considerações realizadas, a partir deste item, serão referentes às amostras de estudo.

#### **4.1. Testes bioquímicos**

Observou-se grande variação nos resultados dos testes bioquímicos utilizados, mesmo sendo estes os mais recomendados para tal fim. Para o *S. suis*, os testes e interpretações utilizados são: catalase negativo, amilase positivo, não-crescimento em meio com 6,5% de NaCl e teste de Voges-Proskauer negativo. Amostras, com o sorotipo referente ao *S. suis* já identificado, poderiam ser consideradas negativas, levando-se em consideração apenas estes testes.

Encontraram-se 35 (10,8%) amostras negativas para *S. suis*, a partir dos testes bioquímicos, e destas, 14 tiveram seu sorotipo identificado. Destas amostras negativas, todas foram catalase positivo, 5 amilase negativo e 1 cresceu em meio com 6,5% de NaCl.

Apesar de os testes bioquímicos serem largamente utilizados na microbiologia, para identificação de gêneros e espécies bacterianas, para o

---

<sup>1</sup> Comunicação pessoal, Dra. Cláudia Zuquerato, Instituto Mineiro de Agropecuária.

*Streptococcus suis* ocorre grande variação em relação aos resultados encontrados, quando este processo de identificação é utilizado. Outros relatos de grande variação para *S. suis*, em relação à identificação da espécie por este método, são encontrados na literatura, sendo que a sua utilização nunca deve ser realizada sozinha, e sim, sempre relacionada à identificação dos sorotipos (PAYVANDI et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991b; TARRADAS et al., 1994; STAATS et al., 1997; GOTTSCHALK e SEGURA, 2000).

De acordo com os dados obtidos, observa-se que para este grupo de amostras, estes testes apresentaram uma sensibilidade de 89,2%. Mesmo assim, não foram considerados como únicos para identificação da espécie, mas utilizados juntamente com a sorotipagem.

#### **4.2. Caracterização dos rebanhos por meio do questionário**

A caracterização dos rebanhos suínos foi estudada a partir dos resultados dos questionários recebidos. O período de retorno destes foi de janeiro a agosto de 2001, sendo que houve um retorno de 42, dos 160 questionários enviados (26,2%).

Pode-se observar que, em 71,4% das propriedades, a suinocultura era a principal atividade e o sistema de criação era intensivo convencional para todas as propriedades. Em 90,5% das granjas, a produção era de ciclo completo.

Em 40,5% das propriedades, a suinocultura tem entre 10 e 20 anos de estabelecimento; e, em 26,2%, a suinocultura tem mais de 20 anos de estabelecimento (Quadro 3). Isto caracteriza granjas mais antigas, em que a possibilidade de contaminação é maior que em granjas mais novas.

Em relação ao tamanho da granja, observa-se que 38,1% possuem entre 100 e 500 matrizes, seguido de granjas entre 500 e 1.000, >1.000 e entre 30 e 100 matrizes (23,8; 19,0; 16,7%, respectivamente).

Quadro 3 – Tempo de produção, em anos, de suínos nas propriedades relacionadas aos questionários

Tempo de produção (anos)	Questionários	Frequência
≤ 5	7	16,7
5 – 10	7	16,7
10 – 20	17	40,5
> 20	11	26,2
<b>TOTAL</b>	<b>42</b>	<b>100,0</b>

Um dado importante é a distância entre granjas, isto é, entre a granja estudada e outras granjas da região, o que pode mostrar, além do risco de contaminação entre rebanhos, a densidade de animais na região. Segundo MADEC (2001), em relação à disseminação de doenças numa população, os fatores de maior importância para esta ocorrência são a movimentação de animais e a distância de granjas vizinhas. Quanto à movimentação de animais, a entrada destes numa região pode ser de grande risco, caso sejam portadores de algum patógeno. Ainda de acordo com este autor, esta movimentação pode trazer maior risco de contaminação do que para uma região com menor movimentação de animais. Quando se trata de densidade de animais, também é importante a distância entre granjas vizinhas, pois, além de estar relacionada à densidade de animais numa região, também existem os riscos de contaminação de uma granja para outra por aerossóis, movimentação de pessoas e mesmo de veículos. Observa-se que, das 42 propriedades, 69,0% estão distantes de outra granja em mais de 1.000 m, seguidas de granjas distantes em 500 m e entre 500 e 1.000 m (16,7; 11,9%, respectivamente). MADEC (2001) relata que à distância de 3 km, o risco de disseminação de doenças bacterianas é muito baixo. Para doenças virais esta distância pode chegar a 5 km. Mas este risco, e, conseqüentemente, a distância entre granjas, pode diminuir quando se controla a entrada não só de animais, como também de pessoas e veículos, além da presença de barreiras físicas entre elas.

Na suinocultura intensiva, a fase de creche é um período crítico na produção de leitões, pela ocorrência de problemas de desempenho e de ordem sanitária. Os leitões ao desmame são submetidos a vários fatores estressantes de ordem nutricional (mudança da dieta), social (formação de novas hierarquias), ambiental e de manejo (transferência dos leitões para ambiente desconhecido). Estes fatores estressantes favorecem a proliferação de agentes infecciosos (MORÉS e AMARAL, 2001). A formação de lotes de leitões neste período é de extrema importância, pois, a mistura de animais de idade e tamanhos diferentes nesta etapa pode ter sérias conseqüências, como efeitos mais acentuados do estresse causado por brigas por definição de hierarquia e transmissão de patógenos, para animais com sistema imunológico menos desafiado. Nos casos de suínos das propriedades estudadas, os lotes são formados em 52,4% na época da desmama e 19% por idade (idade com intervalo de até uma semana). Os outros 28,6% das propriedades utilizam mais de um critério para formação de lotes, como idade e tamanho dos animais e época de desmame e idade ou tamanho.

Os sintomas mais reconhecidos, na época do surto da doença na granja, estão indicados no Quadro 4. Observa-se que a sintomatologia nervosa é a mais freqüente, o que está de acordo com os dados da literatura em que esta sintomatologia é a mais característica de processos infecciosos causados pelo *S. suis* (GOGOLEWSKI et al., 1990; SANFORD e HIGGINS, 1992).

Quadro 4 - Sintomas observados nos animais por ocasião do surto por *Streptococcus suis*

Sintomas	Propriedades	Frequência
Articulares	2	4,8
Nervosos	25	59,5
Nervosos e respiratórios	4	9,5
Nervosos e articulares	5	11,9
Nervosos, respiratórios e articulares	2	4,8
Respiratórios	2	4,8
NR <sup>1</sup>	2	4,8
<b>TOTAL</b>	<b>42</b>	<b>100,0</b>

1 - Não respondeu.

#### 4.3. Localização geográfica dos isolamentos

As 323 amostras de *S. suis* se distribuem em 191 propriedades de diferentes regiões do país (Quadro 5). O isolamento do *S. suis* nos diversos Estados do Brasil indica a participação deste agente como importante causador de infecções na suinocultura brasileira, uma vez que todas as amostras foram isoladas a partir de animais doentes.

Pode-se observar que a maior parte dos isolamentos e das propriedades se concentra no Estado de Minas Gerais. Esta grande ocorrência pode ser explicada pelo fato de o Laboratório Microvet estar localizado neste Estado, condição que pode tornar seus serviços de isolamento e diagnóstico mais conhecidos nesta região. Outro fato importante, para o esclarecimento do maior número de isolamentos, é o crescimento, também em Minas Gerais, de uma suinocultura desenvolvida que tem, cada vez mais, empregado alta tecnologia em seu processo de produção. O emprego desta alta tecnologia está geralmente associado a uma maior preocupação com o processo de produção e maior vigilância sanitária dos rebanhos, com o intuito de combater, cada vez mais cedo e com maior eficácia, surtos de doenças na população suína. Diversos estudos têm

mostrado a importância do controle de doenças para uma produção eficiente e para manutenção do produtor no mercado, uma vez que os processos infecciosos causam grandes prejuízos, diminuem a margem de lucro e levam a uma menor competitividade pelo mercado consumidor (DRITZ et al., 1996b; WILLIAMS et al., 1997a, b; CUEVAS, 1998; DALLA COSTA et al., 1999; SAUBER et al., 1999).

Os Estados do Paraná e São Paulo tiveram mais isolamentos do que os demais, mas, proporcionalmente, estes resultados apresentam-se pouco expressivos em relação a Minas Gerais.

Quadro 5 – Distribuição das amostras de *S. suis* e das propriedades referentes aos isolamentos nos Estados da Federação Brasileira

Estado	Número de Propriedades		Isolados	
	Amostras	Frequência	Amostras	Frequência
BA	2	1,0	2	0,6
DF	2	1,0	2	0,6
ES	4	2,0	5	1,5
GO	4	2,0	6	1,8
MG	114	58,5	202	60,1
MS	5	2,6	7	2,1
MT	1	0,5	1	0,3
PE	1	0,5	2	0,6
PR	24	12,3	30	8,9
RJ	4	2,1	4	1,2
RS	2	1,0	6	1,8
SC	6	3,1	21	6,2
SP	22	11,3	35	10,4
<b>TOTAL</b>	<b>191</b>	<b>100,0</b>	<b>323</b>	<b>100,0</b>

#### 4.4. Distribuição dos isolamentos durante mês e ano

Em relação à distribuição dos isolamentos durante o ano, encontrou-se uma frequência parecida em todos os meses, sendo que os meses de abril, maio, setembro e outubro tiveram a frequência um pouco mais elevada em relação aos demais (Figura 2). Os meses de janeiro, fevereiro, março e junho tiveram as menores frequências. Poderia-se esperar uma maior frequência no aparecimento de quadros infecciosos nos meses mais quentes, que, em razão da elevada temperatura, provoca um maior estresse nos animais. A baixa frequência nos meses de janeiro, fevereiro e março pode ser devido à maior quantidade de venda de animais durante o mês de dezembro, por causa dos feriados de fim-de-ano. Isto faz com que nestes meses seqüentes a densidade de animais na granja seja menor e, conseqüentemente, haja menos casos de doença. Quando se analisam os dados dos questionários, observa-se que os produtores relacionam a ocorrência de doença por *S. suis* a qualquer mês do ano em 34,3%.

REAMS et al. (1996) encontraram um discreto aumento dos isolamentos de *S. suis* nos meses das estações de outono e inverno, mas também isolaram este agente em todos os meses do ano.

A distribuição dos isolamentos entre os anos apresentou maior variação e está representada na Figura 3. Vale ressaltar que os anos de 1995 e 2001 não representam todo o ano.

Estes dados, como também os dados de distribuição em meses, devem ser analisados com cautela. Poderia-se esperar que a demanda laboratorial estivesse diretamente ligada com o aparecimento de casos clínicos no campo e com isto haveria uma maior necessidade de diagnóstico. Mas existem outros fatores que podem influenciar, como o fato de o laboratório Microvet ser conhecido em outras regiões do país, e também a participação de assistência técnica local, que pode tratar de casos de doença com antibioticoterapia, sem necessariamente envio de material para diagnóstico preciso. Dessa forma, a variação de envio de amostras para o laboratório, tanto na distribuição em meses quanto na distribuição anual, deve ser interpretada com cuidado para não fazer inferências que não corresponderiam à realidade.

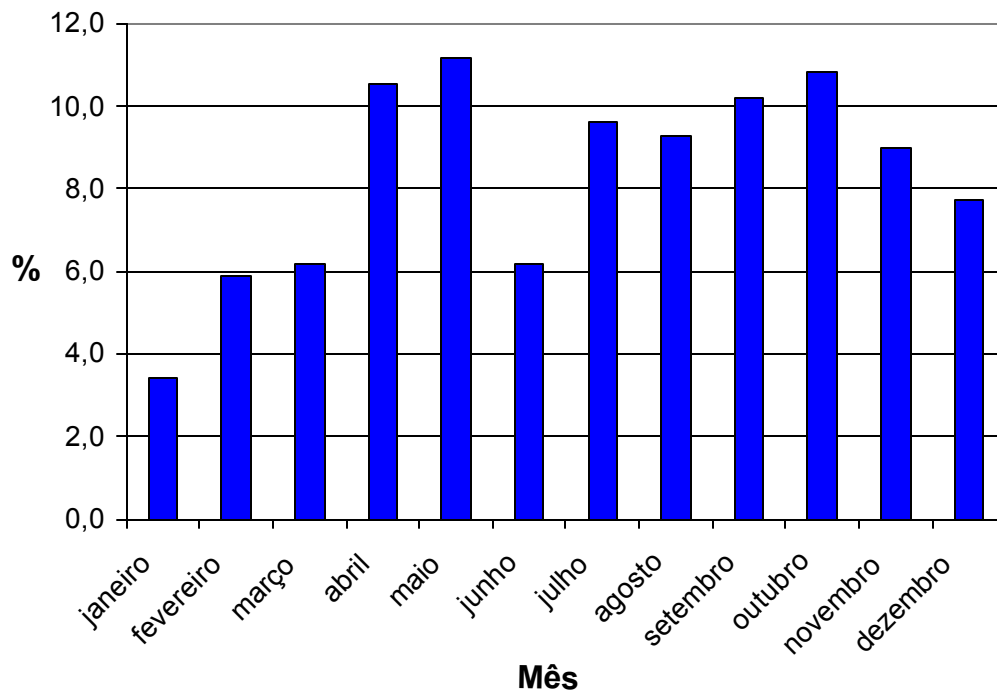


Figura 2 – Porcentagem dos isolamentos de acordo com o mês do ano.

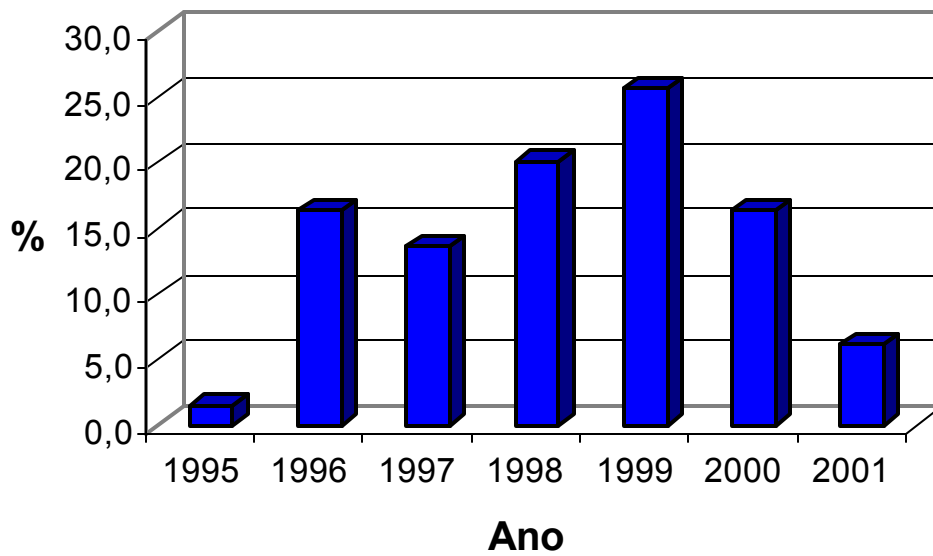


Figura 3 – Porcentagem dos isolamentos de acordo com o ano de ocorrência.

#### 4.5. Idade dos animais

Considerando a idade dos animais doentes, dos quais as amostras foram isoladas, 218 (67,5%) continham dados referentes a esta característica. Das 218 amostras de *S. suis*, 51,4% foram isoladas de animais pertencentes à faixa etária dos 51 aos 100 dias de idade (Figura 4). As faixas etárias com maior número de animais foram de 51 a 60 e 81 a 90 dias de idade, ambas com 11,9%, seguida da faixa etária de 61 a 70 dias de idade (10,6%). De acordo com dados da literatura, esperava-se uma maior ocorrência de infecções causadas pelo *S. suis*, em animais com idade em torno de 42 dias (SANFORD e HIGGINS, 1992; STAATS et al., 1997). A maior ocorrência de casos clínicos de *S. suis* na faixa etária de 81 a 90 dias revela uma diferença em relação aos dados encontrados na literatura. Além disso, observa-se uma maior ocorrência de infecções por *S. suis* em animais com mais de 100 dias de idade, o que não é tido como o mais comumente encontrado em casos de infecções por este agente (SANFORD e HIGGINS, 1992; STAATS et al., 1997). Uma provável causa do aparecimento tardio destas infecções é a utilização da prática de medicação estratégica em suinocultura para controle de agentes infecciosos presentes na granja, que consiste em administrar antimicrobianos na ração pelo período de uma semana antes da idade de maior ocorrência do surto de determinada doença. Esta medicação pode estar controlando o *S. suis* na faixa etária em que ele é relatado como sendo mais freqüentemente encontrado, ou seja, em torno de 42 dias de idade. Mas com o tempo, as bactérias que não foram eliminadas por esta medicação se multiplicam novamente e causam o aparecimento de casos clínicos, neste caso em idades superiores ao controle realizado com a medicação estratégica.

Quando os dados dos questionários são analisados, observa-se que a idade dos animais que os produtores mais relatam a ocorrência de doença por *S. suis* é a referente às categorias de creche e recria (18 a 100 dias de idade), representando 40% do total, e a creche (18 a 50 dias de idade) ou a recria (51 a 100 dias de idade), separadamente (25,7 e 8,6%, respectivamente).

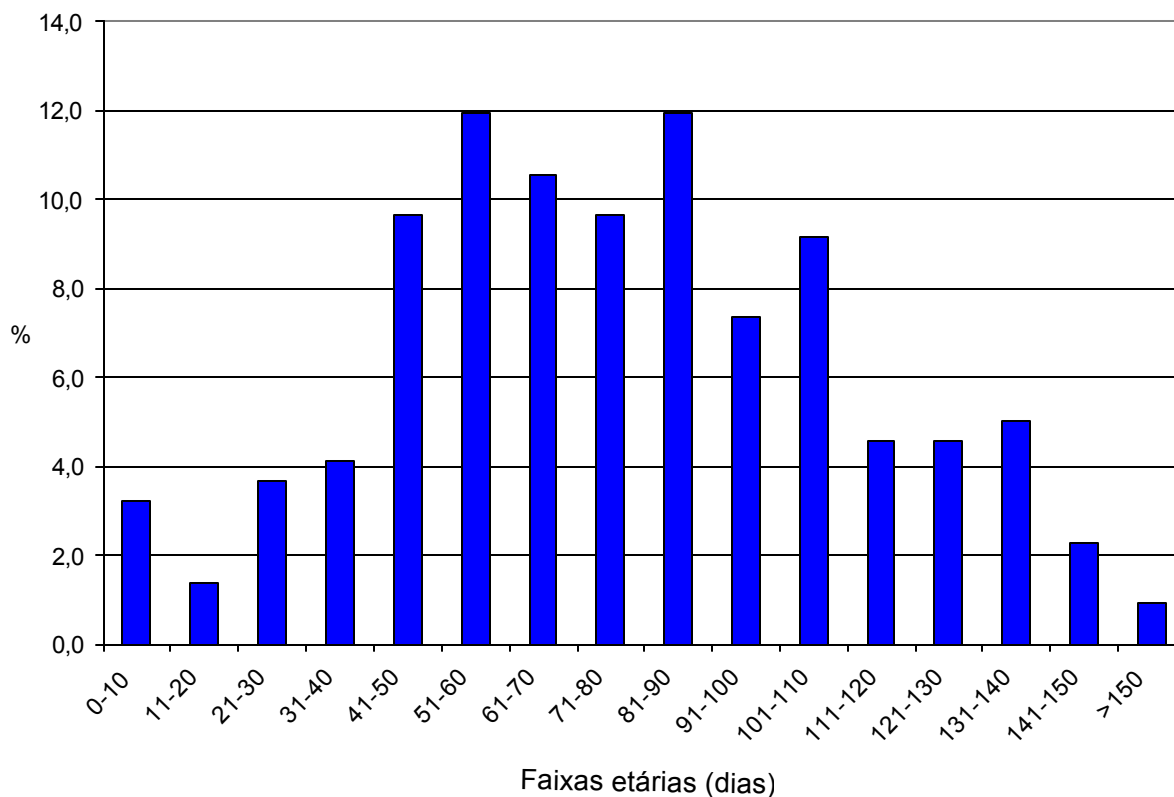


Figura 4 – Gráfico representativo da freqüência das faixas etárias (em dias de idade) dos animais em que foram isoladas as amostras de *S. suis*.

#### 4.6. Órgão de isolamento

Para melhor compreender o processo patogênico do *S. suis*, é importante o conhecimento do órgão de isolamento de cada amostra. Isto irá ajudar a esclarecer em quais processos este agente patogênico realmente estava causando doença.

Do total de 323 amostras, 308 continham dados com relação ao órgão de isolamento do agente estudado (95,3%). O órgão com maior freqüência de isolamento foi o cérebro, 60,1% das amostras, sendo, portanto, o órgão mais relacionado com quadros infecciosos primários causados pelo *S. suis* (SANFORD e HIGGINS, 1992; STAATS et al., 1997). Em seguida, houve maior isolamento no pulmão (10,4%) e em casos de septicemia (9,4%). Estes casos de septicemia foram relacionados com o isolamento do *S. suis* em três ou mais órgãos diferentes em um

mesmo animal ou com isolamento ocorrendo em baço ou sangue cardíaco, o que está de acordo com AARESTRUP et al. (1998a). Mesmo em animais doentes, houve isolamento de *S. suis* no focinho (3,9%), local em que se encontra esta bactéria fazendo parte da flora normal. Em 3,0% dos casos, este isolamento ocorreu no focinho e pulmão, e em 2,7% somente na traquéia (Quadro 6).

Quadro 6 - Órgão de isolamento do *S. suis* de animais clinicamente doentes

Órgão de isolamento	Número de isolados	Frequência
Cérebro	185	60,1
Pulmão	32	10,4
Septicemia	29	9,4
Cérebro e pulmão	20	6,5
Focinho	12	3,2
Pulmão e focinho	10	3,2
Traquéia	10	3,2
Articulação	1	0,3
Outros	9	2,9
<b>Total</b>	<b>308</b>	<b>100,0</b>

Segundo REAMS et al. (1996) e GOTTSCHALK e SEGURA (2000), deve-se ter cuidado ao interpretar isolamentos de *S. suis* no sistema respiratório, pois esta bactéria faz parte da flora normal do trato respiratório superior e tem sido relacionada com isolamento de outros agentes causadores de doença em suínos. Isto leva a crer que a participação desta bactéria em enfermidades deste sistema seja secundária. Mas deve-se atentar que, apesar de secundária, a infecção por *S. suis* tem grande importância por aumentar a morbidade e mortalidade do quadro infeccioso primário, além de aumentar as perdas relacionadas à diminuição de ganho de peso dos animais afetados.

#### 4.7. Distribuição dos sorotipos

A partir da sorotipagem das amostras de *S. suis*, 64 (19,8%) foram classificadas como não sorotipáveis entre os sorotipos 1 a 9. Mas este número pode diminuir se as mesmas forem testadas contra soros referentes aos sorotipos 10 ao 34. MACLENNAN et al. (1996) encontraram o sorotipo 14 com importante participação na distribuição de sorotipos no Reino Unido e LUQUE et al. (1998) também encontraram o mesmo na Espanha, além dos sorotipos 15, 16, 22 e 27 também terem sido isolados de animais doentes.

Mesmo testando as amostras de *S. suis* frente a todos os sorotipos (1 ao 34 e 1/2), HIGGINS e GOTTSCHALK (1999) encontraram, ainda, 14% de amostras não sorotipáveis. Isto leva a crer que a participação dos demais sorotipos dentro do universo de amostras aqui estudadas pode ser pequena, provavelmente não alterando muito o quadro de distribuição de sorotipos aqui proposto.

O Quadro 7 mostra a distribuição de sorotipos encontrada. Verifica-se que o sorotipo 2 foi o mais freqüente (61,9%), fato também encontrado por outros autores que relacionam este sorotipo como o mais comumente ligado aos processos infecciosos causados pelo *S. suis* (STAATS et al., 1997; AARESTRUP et al., 1998a; LUQUE et al., 1998; HIGGINS e GOTTSCHALK, 1999; GOTTSCHALK e SEGURA, 2000). Em seguida, os sorotipos 1 (6,5%) e 3 (3,9%), em freqüências muito menores.

Em contrapartida, GOGOLEWSKI et al. (1990) encontraram uma maior freqüência do sorotipo 9 em rebanhos da Austrália, e WISSELINK et al. (2000), maior participação do mesmo na Holanda, Bélgica e Alemanha.

Quando o isolamento é estratificado por ano, observa-se que em todos os anos ocorreu isolamento do sorotipo 2 em maior quantidade que os demais, sendo que, em quase todos os anos, a freqüência deste isolamento foi em torno de 60% ou mais das amostras (Quadro 8). Esta observação comprova a importância deste sorotipo como causador de infecções, fato observado na suinocultura brasileira desde o início dos isolamentos realizados pelo laboratório Microvet, em 1995.

Quadro 7 - Distribuição dos isolados de *Streptococcus suis* entre os 10 sorotipos testados

Sorotipo	Amostras	Freqüência
1	22	6,8
2	197	61,0
3	13	4,0
4	6	1,9
5	1	0,3
6	2	0,6
7	7	2,2
8	7	2,2
9	1	0,3
½	3	0,9
NS	64	19,8
<b>Total</b>	<b>323</b>	<b>100,0</b>

O Quadro 9 mostra a distribuição de sorotipos nos diversos Estados brasileiros, segundo a origem do seu isolamento. Observa-se que o isolamento de todos os sorotipos ocorreu somente no Estado de Minas Gerais. O sorotipo 2 foi o único a ser isolado em todos os Estados, o que confirma a sua importância em quadros infecciosos causados pelo *S. suis*.

Observa-se também uma maior freqüência do sorotipo 1 no Estado de Santa Catarina, mas este resultado se deve ao fato de ter havido isolamento de várias amostras deste sorotipo referente a um mesmo proprietário, mas em unidades de produção diferentes. Também, em Minas Gerais, houve vários isolamentos, neste caso a maioria pertencendo ao sorotipo 2. Vale ressaltar que em todos estes casos os isolamentos ocorreram em datas diferentes.

TORREMORELL e PIJOAN (1998) encontraram em um estudo realizado ao longo de dois anos caso semelhante, ou seja, vários isolamentos de um mesmo sorotipo. Por meio da técnica de PCR, estes autores verificaram que todas as amostras isoladas a partir de animais doentes eram, geneticamente, similares, o que pode indicar ser uma única amostra a causa de doença em todos os momentos. Então, provavelmente, os fatores que desencadeariam os diferentes surtos podem estar ligados ao manejo do rebanho, provocando, assim, uma queda de imunidade em diferentes momentos.



Quadro 8 – Distribuição da frequência dos sorotipos de acordo com o ano do isolamento das amostras de *S. suis*

SOROTIPO	1995		1996		1997		1998		1999		2000		2001	
	Amostras	Freq. <sup>1</sup>	Amostras	Freq.	Amostras	Freq.	Amostras	Freq.	Amostras	Freq.	Amostras	Freq.	Amostras	Freq.
<b>1</b>	-	-	-	-	2	4,5	2	2,9	15	17,6	3	5,1	-	-
<b>1/2</b>	-	-	1	1,8	-	-	-	-	-	-	1	1,7	1	5,0
<b>2</b>	3	60,0	26	47,3	27	61,4	40	58,8	51	60,0	48	81,4	13	65,0
<b>3</b>	1	20,0	1	1,8	2	4,5	5	7,4	1	1,2	3	5,1	-	-
<b>4</b>	-	-	2	3,6	1	2,3	2	2,9	1	1,2	1	1,7	-	-
<b>5</b>	-	-	1	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>6</b>	-	-	-	-	1	2,3	-	-	1	1,2	-	-	-	-
<b>7</b>	-	-	-	-	3	6,8	2	2,9	1	1,2	1	1,7	-	-
<b>8</b>	-	-	4	7,3	2	4,5	-	-	1	1,2	-	-	-	-
<b>9</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,2	-	-	-	-
<b>NS</b>	1	20,0	20	36,4	6	13,6	17	25,0	13	15,3	2	3,4	6	30,0
<b>TOTAL</b>	5	100,0	55	100,0	44	100,0	68	100,0	85	100,0	59	100,0	20	100,0

1 - Frequência em porcentagem

Quadro 9 – Distribuição dos sorotipos de *S. suis* de acordo com os Estados da Federação Brasileira

<b>SOROTIPO</b>	<b>BA</b>	<b>DF</b>	<b>ES</b>	<b>GO</b>	<b>MG</b>	<b>MS</b>	<b>MT</b>	<b>PE</b>	<b>PR</b>	<b>RJ</b>	<b>RS</b>	<b>SC</b>	<b>SP</b>	<b>TOTAL</b>
<b>1</b>	-	-	1	-	5	-	-	-	1	-	-	13	2	22
<b>1/2</b>	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	-	3
<b>2</b>	2	1	3	3	131	5	1	1	24	2	5	4	15	197
<b>3</b>	-	-	-	1	9	1	-	-	-	1	-	-	1	13
<b>4</b>	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	1	6
<b>5</b>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<b>6</b>	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<b>7</b>	-	-	-	-	6	-	-	-	1	-	-	-	-	7
<b>8</b>	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	1	3	7
<b>9</b>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<b>NS</b>	-	1	1	2	37	1	-	1	3	1	1	3	13	64
<b>TOTAL</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>202</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>30</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>21</b>	<b>35</b>	<b>323</b>

#### 4.8. Outros agentes microbianos presentes

Analisaram-se os isolamentos de outros agentes bacterianos, juntamente com o isolamento de *S. suis* no mesmo animal doente. Estes isolamentos ocorreram concomitantemente, com a finalidade de diagnóstico do agente causador de enfermidade que levou o animal a ser enviado para o laboratório Microvet. A importância destes dados refere-se à causa primária da infecção. Este fato ajuda a elucidar quais amostras podem ser ou não de alta virulência. REAMS et al. (1996) relatam que em todos os casos de isolamentos, realizados no cérebro, não houve participação de outros agentes no quadro infeccioso, mostrando que neste local são isoladas amostras virulentas, capazes de promover infecções. Ao contrário, nos casos de isolamento ocorrido no pulmão, em 71,4% houve isolamento de outros agentes e estes poderiam ser considerados primários na infecção pulmonar.

O Quadro 10 mostra os diversos agentes bacterianos isolados. Das 323 amostras, 116 (35,9%) foram isolamentos sem a presença de outro agente concomitante. Os isolamentos denominados múltiplos referem-se a isolamento de três ou mais agentes em um mesmo animal, e aqueles denominados “Outras combinações” são isolamentos de dois agentes em um mesmo animal que não foram denominados na tabela pela baixa ocorrência de cada um. Observa-se que 20,1% das amostras tiveram isolamento de *Escherichia coli*  $\alpha$  hemolítica e 13,0% de *Haemophilus parasuis*. Em 7,1%, houve isolamento destas duas bactérias.

O isolamento do *H. parasuis* é um dado de extrema importância, já que ela é responsável por uma doença que pode levar a sinais clínicos nervosos. Desta forma, poderia haver diagnóstico equivocado na determinação do agente primário, já que os dois agentes podem afetar animais de mesma idade.

O isolamento da *E. coli*  $\alpha$  hemolítica já não traz equívoco de diagnóstico, já que ela é responsável por quadros de diarreia e sua participação, então, pode ser secundária. Em compensação, os casos de isolamento de *E. coli*  $\beta$  hemolítica são importantes por este agente ser responsável pelo quadro infeccioso conhecido como Doença do Edema, que também leva a sinais clínicos nervosos e pode afetar animais de mesma idade, como o *S. suis*. Mas, no Quadro 10, pode-se observar que a frequência do seu isolamento foi pequena.

Quadro 10 – Distribuição de outros agentes bacterianos isolados dos mesmos animais dos isolamentos referentes ao *S. suis*

<b>Outros Agentes</b>	<b>Amostras</b>	<b>Frequência</b>
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	3	0,9
<i>Actinobacillus suis</i>	1	0,3
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	3	0,9
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>Haemophilus parasuis</i>	7	2,2
<i>Escherichia coli</i> $\alpha$ hemolítica	65	20,1
<i>Escherichia coli</i> $\beta$ hemolítica	3	0,9
<i>Escherichia coli</i> $\alpha$ e $\beta$ hemolítica	7	2,2
<i>E. coli</i> hemolítica $\alpha$ e <i>H. parasuis</i>	23	7,1
<i>Haemophilus parasuis</i>	42	13,0
<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	8	2,5
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	2	0,6
Múltiplos agentes	17	5,3
Outras combinações	26	8,0
Sem isolamento	116	35,9
<b>Total</b>	<b>323</b>	<b>100,0</b>

#### **4.9. Relação entre sorotipo de *S. suis*, órgão de seu isolamento e outros agentes microbianos isolados**

Nem todos os sorotipos e nem todas as amostras de um mesmo sorotipo são virulentos e capazes de promover um quadro infeccioso (OKWUMABUA et al., 1995; STAATS et al., 1998). Os fatores relacionados a esta virulência ainda continuam a ser estudados para melhor entendimento deste processo. Uma forma de tentar entender em que processo o *S. suis* está efetivamente causando doença é o local de isolamento de cada amostra. O *S. suis* faz parte da flora normal do trato respiratório superior dos suínos (DEVRIESE et al., 1994) e pode ser encontrado mesmo em casos em que não esteja causando doença. Em compensação, amostras isoladas do cérebro, geralmente, estão associadas ao quadro infeccioso primário (SANFORD e HIGGINS, 1992). Além disso, a relação do órgão de isolamento com o sorotipo de *S. suis* e a presença de outros agentes microbianos podem ajudar a elucidar em quais casos o *S. suis* estaria realmente atuando como agente primário. Vale lembrar que, mesmo como agente secundário, a participação deste agente é importante por aumentar a morbidade e mortalidade do quadro infeccioso primário, além de aumentar as perdas relacionadas à diminuição de ganho de peso dos animais afetados.

Nos casos em que não ocorreu isolamento de outro agente, o *S. suis* estaria sozinho como causador do quadro infeccioso que levou o animal a ser utilizado para diagnóstico. Assim, pode-se observar, por menos provável que seja, o *S. suis* em órgãos como pulmão e fcinho, causando doença. Por isso deve-se ter muito cuidado em não fazer afirmativas concretas sobre o agente primário das infecções destacadas acima.

##### **4.9.1. Isolamentos de *S. suis* no cérebro**

O cérebro foi o local em que ocorreu o isolamento de amostras de quase todos os sorotipos de *S. suis* testados, somente o sorotipo 6 não foi isolado neste local (Quadro 11). Este sorotipo teve isolamento em um pulmão e em um caso de septicemia.

Dentro dos 185 isolamentos ocorridos no cérebro, 142 (76,8%) foram amostras do sorotipo 2, o qual é relatado como sendo o mais patogênico e, por

isto, tem sido o mais estudado nos últimos anos (MWANIKI et al., 1994; STAATS et al., 1997; CHARLAND et al., 1998; CHARLAND et al., 2000). Juntamente com o isolamento destas amostras de *S. suis* sorotipo 2, observou-se que em 41 casos (28,9%) houve também isolamento de *E. coli*  $\alpha$  hemolítica, em 10 (7,0%), isolamento de *Haemophilus parasuis*, e em 53 amostras (37,3%) não houve isolamento de nenhum outro agente. Como os isolamentos, nestes casos, ocorreram no cérebro e, ainda, pertencem ao sorotipo 2, provavelmente este seja o agente da infecção primária. Mas o *H. parasuis* também é um agente patogênico importante e a possibilidade da infecção primária ter sido causada por ele não pode ser descartada. O esclarecimento só poderá ser realizado com o entendimento da patogenia do *S. suis*.

Dentro das amostras consideradas não sorotipáveis, houve isolamento no cérebro de 23 amostras e, dentre estas, 5 (21,7%) não tiveram outro isolamento concomitante, 6 (26,1%) foram isoladas juntamente com *E. coli*  $\alpha$  hemolítica e outras 6 (26,1%), com *E. coli*  $\alpha$  hemolítica e *H. parasuis*.

Nos casos de isolamento de *Escherichia coli*  $\alpha$  hemolítica, observa-se um maior isolamento do *S. suis* no cérebro (51 amostras ou 78,5% do total de amostras isoladas de *E. coli*  $\alpha$  hemolítica). Isso pode indicar que estas amostras realmente sejam virulentas e responsáveis pelo quadro infeccioso que levou o animal a ser utilizado para diagnóstico, independente do seu sorotipo. Este resultado está de acordo com dados na literatura que relatam amostras virulentas de *S. suis* de sorotipos considerados, até então, de menor virulência (GOTTSCHALK et al., 1993; MACLENNAN et al., 1996; LUQUE et al., 1998; WISSELINK et al., 2000).

#### **4.9.2. Isolamentos de *S. suis* no pulmão**

Como se observa no Quadro 11, dos 32 isolamentos de *S. suis* no pulmão, 9 (28,1%) tiveram isolamento de *H. parasuis* concomitantemente e 8 (25,0%) tiveram isolamento somente de *S. suis*. Mas quando se observam todos os agentes que podem causar infecções respiratórias (*Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *H. parasuis*, *Pasteurella multocida A* e *Pasteurella multocida D*), o total de amostras com isolamento junto com o *S. suis* sobe para 17 (53,1%).

Destas amostras de *S. suis*, isoladas no pulmão, 10 não foram sorotipadas. Dentre estas, quatro tiveram isolamento juntamente com *H. parasuis*, uma com *B. bronchiseptica* e outra com *A. pleuropneumoniae*. Outras 10 amostras pertencem ao sorotipo 2 e, dentre estas, duas tiveram isolamento de

*Pasteurella multocida A*, duas de *H. parasuis* e uma de *Pasteurella multocida D*.

Dos seis isolamentos do sorotipo 3, houve isolamento também de *H. parasuis* (duas amostras) e *Pasteurella multocida A* (uma amostra).

Segundo REAMS et al. (1996) e GOTTSCHALK e SEGURA (2000), deve-se ter cuidado ao interpretar isolamentos de *S. suis* no sistema respiratório, pois esta bactéria faz parte da flora normal do trato respiratório superior. Além disso, ela tem sido relacionada com isolamento de outros agentes causadores de doença em suínos nestes casos. Por isso, parece que nestas situações a participação desta bactéria em enfermidades deste sistema seja secundária.

Nos casos de isolamento em cérebro e pulmão (um total de 20 amostras), 14 amostras (70,0%) pertencem ao sorotipo 2 (Quadro 11). Destas, seis foram isolamentos sem outro agente e cinco tiveram isolamento de *H. parasuis*. Como as amostras de *S. suis* foram isoladas também no cérebro, pode-se esperar que estas sejam causadoras da infecção primária.

#### **4.9.3. Isolamentos de *S. suis* no focinho e traquéia**

No focinho, 7 das 12 amostras (58,3%) isoladas pertencem àquelas não sorotipáveis. Além disso, em todos os sete casos, houve isolamento de *H. parasuis*, caso típico de enfermidade causada pelo *H. parasuis*, cujas amostras de *S. suis* pertencentes à flora normal do trato respiratório superior se multiplicaram demasiadamente, por debilitação do sistema imunológico, em razão da infecção que já estava ocorrendo. Podem-se fazer estas inferências por o *S. suis* não ter sido isolado em nenhum outro local que não o focinho.

Nos demais isolamentos no focinho, houve isolamento de outros agentes como mostra o Quadro 11.

Ocorreram, ainda, 10 isolamentos de *S. suis* no focinho e pulmão (Quadro 11). Destes, 7 (70,0%) pertencem ao sorotipo 2, mas somente uma destas amostras foi isolada sozinha e as demais tiveram isolamento de outros agentes.

Quando se observam os dados de isolamento na traquéia, dos 10 isolamentos, 9 não tiveram isolamento de outros agentes (Quadro 11). Destes 9, seis amostras são do sorotipo 2, duas são não sorotipáveis e uma do sorotipo 4. Pode ser que todas estas amostras sejam realmente virulentas por

terem sido isoladas sozinhas de animais doentes.

#### **4.9.4. Isolamentos de *S. suis* em casos de septicemia**

Em 13, dos 29 isolamentos de casos de septicemia, observaram-se amostras do sorotipo 2, e em 11, amostras não sorotipáveis (Quadro 11). Em contrapartida, AARESTRUP et al. (1998a) encontraram maior prevalência do sorotipo 7 relacionado a casos de septicemia.

Das amostras do sorotipo 2, cinco tiveram isolamento de *Escherichia coli*  $\alpha$  hemolítica e quatro não tiveram isolamento de outros agentes. Em 10, dos 29 casos de septicemia, não houve isolamento de outros agentes.

Parece que os outros agentes isolados, nestes casos, são secundários na infecção, por o sorotipo do *S. suis* ser o 2, e por ter sido isolado em casos de infecção generalizada (septicemia).

Quadro 11 – Distribuição de sorotipos de *S. suis* relacionados com outros agentes bacterianos isolados no cérebro, pulmão, focinho, traquéia e casos de septicemia dos mesmos animais

Cérebro												
	NS <sup>1</sup>	1/2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Tot al
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Actinobacillus suis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>P. multocida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>H. parasuis</i>	1	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>Escherichia coli</i> α hemolítica	6	1	2	41	-	-	-	-	1	-	-	51
<i>Escherichia coli</i> β hemolítica	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Escherichia coli</i> α e β hemolítica	-	-	1	3	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>E. coli</i> α hemolítica e <i>H. parasuis</i>	6	-	1	9	-	-	-	-	-	-	-	16
<i>Haemophilus parasuis</i>	3	-	-	10	1	-	-	-	-	1	-	15
<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	-	1	-	3	1	-	-	-	-	1	-	6
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Múltiplos agentes	-	-	1	8	1	-	-	-	-	-	1	11
Outras combinações	2	-	1	7	-	2	-	-	1	1	-	14
Sem isolamento	5	-	-	53	-	-	1	-	-	-	-	59
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>142</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>185</b>

Pulmão												
	NS <sup>1</sup>	1/2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Tot al
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Actinobacillus suis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>P. multocida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> α hemolítica	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Escherichia coli</i> β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> α e β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> α hemolítica e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	2
<i>Haemophilus parasuis</i>	4	-	1	2	1	-	-	-	1	-	-	9
<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	3
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Múltiplos agentes	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Outras combinações	1	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	4

Sem isolamento	3	-	-	2	1	-	-	1	1	-	-	8
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>32</b>

1 – NS: não sorotipável

Quadro 11, Cont.

Cérebro e pulmão												
	NS <sup>1</sup>	1/2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Actinobacillus suis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>P. multocida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> α hemolítica	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Escherichia coli</i> β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> α e β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> α hemolítica e <i>H. parasuis</i>	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
<i>Haemophilus parasuis</i>	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Múltiplos agentes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Outras combinações	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Sem isolamento	-	-	-	6	1	1	-	-	-	-	-	8
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>14</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>20</b>

Focinho												
	NS <sup>1</sup>	1/2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Actinobacillus suis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>P. multocida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	2
<i>Escherichia coli</i> α hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Escherichia coli</i> α e β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> α hemolítica e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Haemophilus parasuis</i>	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7

<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Múltiplos agentes	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	2
Outras combinações	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sem isolamento	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>12</b>

Quadro 11, Cont.

Pulmão e focinho												
	NS <sup>1</sup>	1/2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Tota l
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Actinobacillus suis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>P. multocida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> α hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> α e β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> α hemolítica e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Haemophilus parasuis</i>	-	-	-	3	-	-	-	-	-	1	-	4
<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Múltiplos agentes	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Outras combinações	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Sem isolamento	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	3
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>10</b>

Traquéia												
	NS <sup>1</sup>	1/2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Tota l
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Actinobacillus suis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>P. multocida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> α hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> α e β hemolítica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>E. coli</i> $\alpha$ hemolítica e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Haemophilus parasuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Múltiplos agentes	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Outras combinações	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sem isolamento	2	-	-	6	-	1	-	-	-	-	-	9
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>10</b>

Quadro 11, Cont.

	Septicemia										Total	
	NS <sup>1</sup>	1/2	1	2	3	4	5	6	7	8		9
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Actinobacillus suis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>P. multocida</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. bronchiseptica</i> e <i>H. parasuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> $\alpha$ hemolítica	-	-	-	5	-	-	-	1	-	-	-	6
<i>Escherichia coli</i> $\beta$ hemolítica	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Escherichia coli</i> $\alpha$ e $\beta$ hemolítica	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>E. coli</i> $\alpha$ hemolítica e <i>H. parasuis</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2
<i>Haemophilus parasuis</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Pasteurella multocida</i> tipo A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pasteurella multocida</i> tipo D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Múltiplos agentes	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Outras combinações	1	-	1	2	-	-	-	-	-	1	-	5
Sem isolamento	5	-	-	4	1	-	-	-	-	-	-	10
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>13</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>29</b>

#### 4.10. Sensibilidade e resistência das amostras a diversos antibióticos e quimioterápicos

As amostras isoladas foram testadas frente a diversos antibióticos e o resultado encontrado faz parte do banco de dados usado neste trabalho. As drogas usadas foram: amoxicilina, ampicilina, cloranfenicol, lincomicina e espectinomicina (Lincospectin®), norfloxacina, penicilina, sulfa e trimetoprim e tetraciclina, que não foram usadas em todas as amostras. Os resultados aqui apresentados referem-se somente àquelas testadas. Por isso observa-se uma diferença no total de amostras para cada droga.

De acordo com o resultado dos antibiogramas, observou-se que as drogas que mostraram maior eficácia frente às amostras testadas foram, em ordem decrescente: amoxicilina (96,4%), lincomicina e espectinomicina (90,9%), ampicilina (87,2%), cloranfenicol (79,1%), penicilina (71,0%), sulfa/trimetoprim (49,5%), norfloxacina (23,7%), tetraciclina (7,4%). Os resultados dos antibiogramas estão representados pelas Figuras 5 e 6.

AARESTRUP et al. (1998a) encontraram também uma maior resistência de amostras de *S. suis* à tetraciclina e TURGEON et al. (1994), maior resistência à penicilina.

De acordo com os dados obtidos por meio dos questionários, 45,7% dos proprietários usaram penicilina para controle da infecção por *S. suis* e 14,3%, amoxicilina. O uso destes antibióticos pelos proprietários controla a infecção, confirmando sua eficácia para este agente.

Apesar de ocorrer diferença entre os resultados dos antibiogramas, quando estes são estratificados por ano, não é possível visualizar tendência a aumento ou diminuição da sensibilidade ou resistência com o passar dos anos. Talvez, porque o número de amostras por ano seja pequeno, o que dificulta esta visualização (Quadro 12). Estes resultados poderiam ser esperados em razão do uso de alguns destes antibióticos como promotores de crescimento, ou mesmo para controle de outras infecções presentes no rebanho. Além disso, ainda, há casos de uso indiscriminado de antibióticos, o que também vem contribuindo para o aumento da resistência das bactérias.

AARESTRUP et al. (1998b), estudando a sensibilidade contra diversos antibióticos, observaram um aumento da resistência à tetraciclina ao longo dos anos na Dinamarca, e constataram ainda uma diferença na resistência a este antibiótico em

amostras da Dinamarca e da Suécia. Neste, a sensibilidade era muito maior, o que foi explicado pela proibição do uso de promotores de crescimento desde o ano de 1986. Dessa forma, países que utilizam antimicrobianos como promotores de crescimento podem esperar um aumento de resistência bacteriana destes. Como no Brasil esta prática é comum, poderia-se esperar um quadro de aumento de resistência ao longo dos anos.

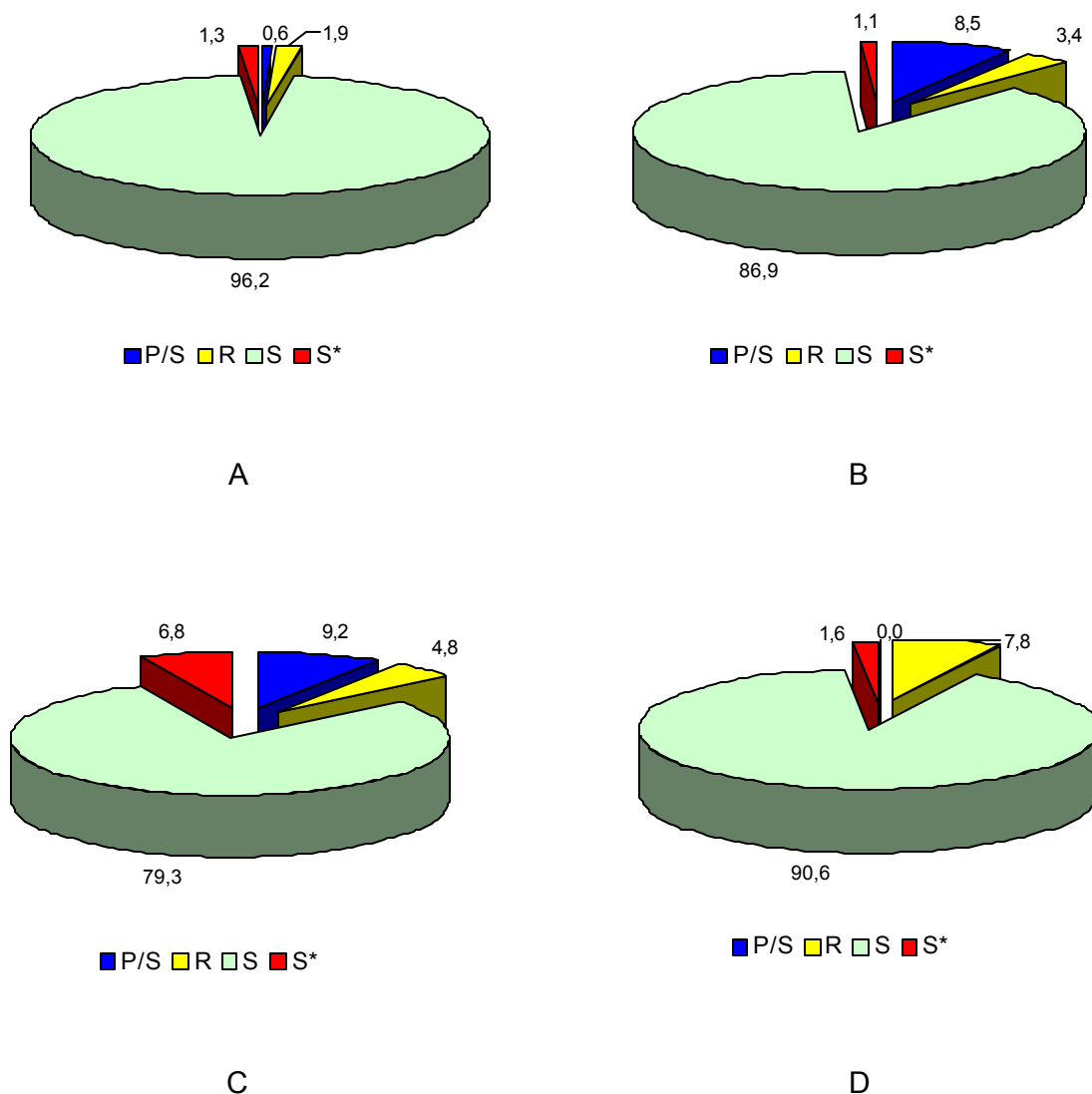


Figura 5 – Dados de antibiograma para amoxicilina (A), ampicilina (B), cloranfenicol (C) e lincomicina e espectinomicina (D), em porcentagem. (P/S: parcialmente sensível; R: resistente; S: sensível; S\*: sensível no limite).

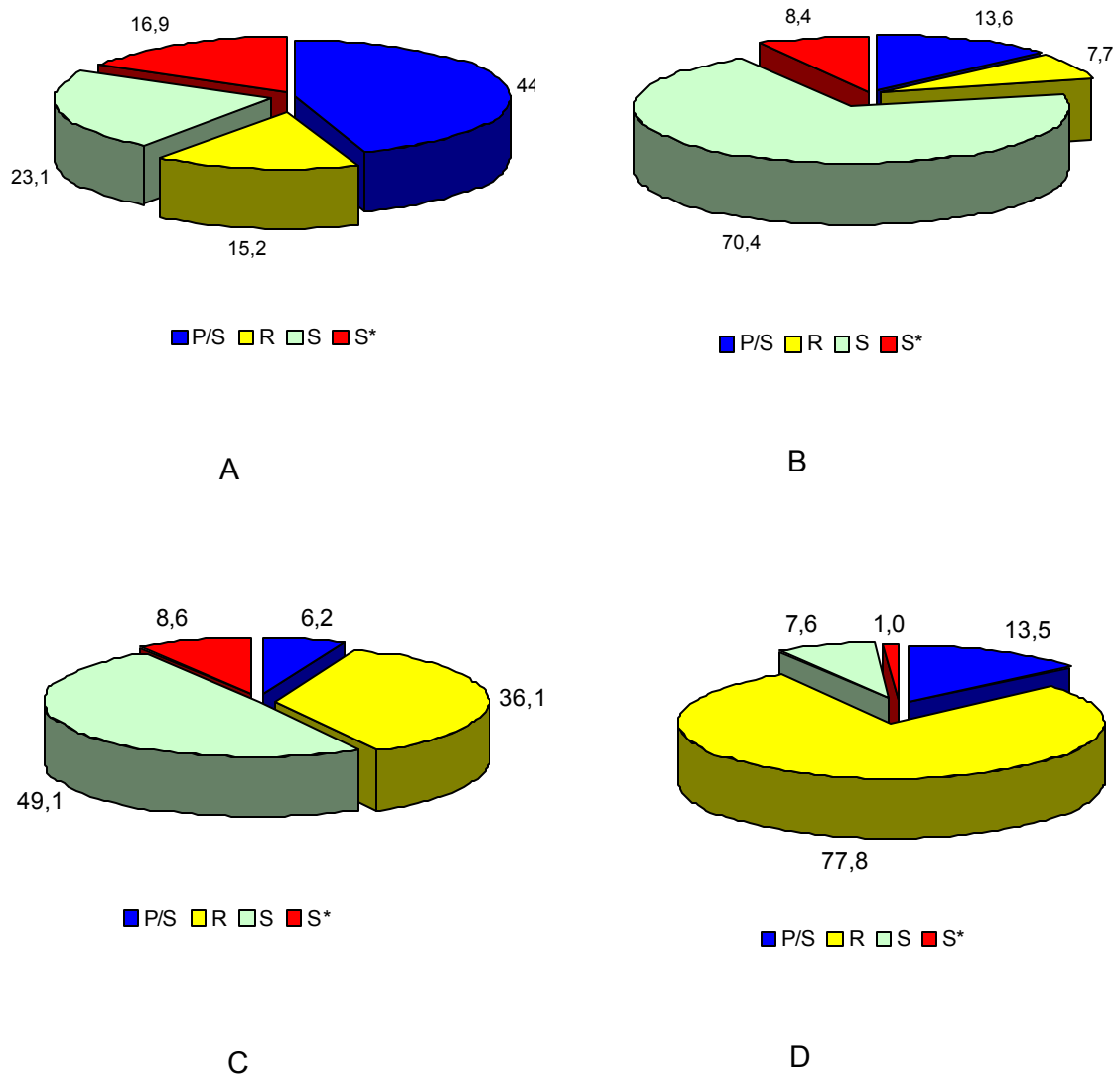


Figura 6 – Dados de antibiograma para norfloxacina (A), penicilina (B), sulfa e trimetoprim (C) e tetraciclina (D), em porcentagem. (P/S: parcialmente sensível; R: resistente; S: sensível; S\*: sensível no limite).

Quadro 12 – Distribuição dos resultados de antibiograma em relação à amoxicilina, ampicilina, cloranfenicol, licomicina e espectinomicina, norfloxacin, penicilina, sulfa/trimetoprim e tetraciclina, estratificado por ano

Antibiótico		AMOXICILINA						
Anos	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	
P/S <sup>1</sup>	-	33,3	-	-	-	-	-	
R <sup>2</sup>	-	-	-	10,5	-	1,9	-	
S <sup>3</sup>	100,0	66,7	100,0	89,5	98,2	96,3	100,0	
S* <sup>4</sup>	-	-	-	-	1,8	1,9	-	
<b>Total Testado</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	
Antibiótico		AMPICILINA						
P/S	-	26,7	10,0	5,0	-	7,5	-	
R	-	13,3	10,0	10,0	-	1,9	-	
S	100,0	60,0	80,0	80,0	100,0	90,6	100,0	
S*	-	-	-	5,0	-	-	-	
<b>Total Testado</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	
Antibiótico		CLORANFENICOL						
P/S	20,0	11,8	10,0	10,9	8,2	3,8	10,0	
R	-	19,6	2,5	1,6	-	3,8	-	
S	80,0	62,7	77,5	79,7	91,8	79,2	85,0	
S*	-	5,9	10,0	7,8	-	13,2	5,0	
<b>Total Testado</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	
Antibiótico		LINCOMICINA E ESPECTINOMICINA						
P/S	-	-	-	-	-	-	-	
R	-	13,7	10,0	7,8	6,5	-	5,0	
S	100,0	86,3	90,0	87,5	93,5	97,1	95,0	
S*	-	-	-	4,7	-	2,9	-	
<b>Total Testado</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	
Antibiótico		NORFLOXACINA						
P/S	60,0	23,5	45,0	45,3	34,5	67,9	63,2	
R	20,0	17,6	22,5	9,4	6,9	17,0	31,6	
S	-	47,1	17,5	25,0	29,3	3,8	5,3	
S*	20,0	11,8	15,0	20,3	29,3	11,3	-	
<b>Total Testado</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	

(P/S: parcialmente sensível; R: resistente; S: sensível; S\*: sensível no limite).

Quadro 12, Cont.

<b>Antibiótico</b>		<b>PENICILINA</b>					
<b>Anos</b>	<b>1995</b>	<b>1996</b>	<b>1997</b>	<b>1998</b>	<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>
<b>P/S</b>	-	23,5	22,5	15,6	5,2	1,9	23,5
<b>R</b>	20,0	31,4	5,0	4,7	-	-	-
<b>S</b>	80,0	43,1	57,5	64,1	93,1	88,5	70,6
<b>S*</b>	-	2,0	15,0	15,6	1,7	9,6	5,9
<b>Total Testado</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Antibiótico</b>		<b>SULFA/TRIMETOPRIM</b>					
<b>P/S</b>	-	6,0	-	10,9	5,1	3,8	15,0
<b>R</b>	60,0	64,0	65,0	43,8	18,6	9,4	-
<b>S</b>	40,0	26,0	22,5	35,9	64,4	77,4	85,0
<b>S*</b>	-	4,0	12,5	9,4	11,9	9,4	-
<b>Total Testado</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Antibiótico</b>		<b>TETRACICLINA</b>					
<b>P/S</b>	-	16,0	12,5	14,3	13,6	9,8	20,0
<b>R</b>	80,0	68,0	77,5	73,0	84,7	86,3	75,0
<b>S</b>	20,0	16,0	10,0	9,5	1,7	2,0	5,0
<b>S*</b>	-	-	-	3,2	-	2,0	-
<b>Total Testado</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

(P/S: parcialmente sensível; R: resistente; S: sensível; S\*: sensível no limite).

## 5 - RESUMO E CONCLUSÕES

O *Streptococcus suis* é uma bactéria responsável por uma grande variedade de infecções em suínos como: meningite, pneumonia, septicemia e artrite. Já foram identificados 35 sorotipos desta bactéria, sendo que o sorotipo 2 é o mais freqüentemente associado a quadros infecciosos. A patogenia das infecções ainda não está completamente esclarecida, e vários fatores de virulência têm sido estudados para seu melhor entendimento. Os objetivos do presente trabalho foram determinar a freqüência dos sorotipos de *Streptococcus suis* do 1 a 9 e ½, e estudar a epidemiologia das infecções causadas por esta bactéria. Utilizaram-se 323 amostras de *S. suis*, isoladas a partir de animais doentes. Estas amostras foram sorotipadas, por meio da técnica de coaglutinação e os dados de cada amostra foram compilados e analisados. Além disso, foram utilizados dados gerados a partir de questionários enviados para os proprietários das granjas positivas. Todos que responderam ao questionário têm sistema de criação de ciclo completo, 40,5% possuem entre 10 e 20 anos de existência e 38,1% possuem entre 100 e 500 matrizes. A partir dos dados das amostras utilizadas, observou-se que o *S. suis* está presente em vários estados brasileiros e o sorotipo 2 foi o mais freqüente (61,0%). Além disso, o órgão de maior isolamento foi o cérebro (60,1%), seguido do pulmão (10,4%) e casos de septicemia (9,4%). As faixas etárias mais relacionadas com a ocorrência de doenças foram de 51 a 60 dias e 81 a 90 dias, ambas com 11,9%. Observou-se também um maior número de

animais afetados com mais de 100 dias de idade. Em relação à sensibilidade e resistência a antibióticos e quimioterápicos, as amostras de *S. suis* foram mais sensíveis a amoxicilina (96,4%), seguida de lincomicina e espectinomicina (90,9%), ampicilina (87,2%), cloranfenicol (79,1%), penicilina (71,0%), sulfato/trimetoprim (49,5%), norfloxacina (23,7%) e tetraciclina (7,4%).

Dessa forma, pode-se concluir que o *S. suis* é uma bactéria que está presente na suinocultura de vários estados brasileiros, sendo um dado importante para o desenvolvimento de práticas de controle deste agente. Além disso, o sorotipo 2 foi o mais freqüentemente associado a processos infecciosos, confirmando a tendência mundial da participação deste como o sorotipo mais importante do *S. suis*. Mas outros sorotipos podem estar relacionados a processos infecciosos, o que pode ser alvo de futuras investigações. Segundo dados de faixa etária mais afetada pelo *S. suis*, observou-se que os animais afetados são mais velhos do que é relatado pela literatura, outro fator importante para desenvolvimento de práticas de manejo mais eficientes no controle do *S. suis*.

Tudo isso faz com que o quadro nacional relacionado com infecções causadas pelo *S. suis* seja mudado daqui para frente, dado o conhecimento da distribuição dos sorotipos mais relacionados com estes processos e também com maior conhecimento da epidemiologia das infecções, o que irá contribuir para o desenvolvimento de práticas de controle mais eficazes para este agente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F. M.; JORSAL, S. E.; JENSEN, N. E. Serological characterization and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolates from diagnostic samples in Denmark during 1995 and 1996. *Vet. Microbiology*, v. 60, n. 1, p. 59-66, 1998a.

AARESTRUP, F. M.; RASMUSSEN, S. R.; ARTUSSON, K.; JENSEN, N. E. Trends in the resistance to antimicrobial agents of *Streptococcus suis* isolates from Denmark and Sweden. *Vet. Microbiology*, v. 63, n. 1, p. 71-80, 1998b.

AMASS, S. F.; SANMIGUEL, P.; CLARK, L.K. Demonstration of vertical transmission of *Streptococcus suis* in Swine by genomic fingerprinting. *J. Clinical Microbiology*, v. 35, n. 6, p. 1595-1596, 1997.

BARCELLOS, D. E. S. N.; OLIVEIRA, S. J.; BOROWSKI, S. M. Infecção de suínos pelo *Streptococcus suis* tipo II em Santa Catarina. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v. 6, n. 4, p. 128-129, 1984.

BARCELLOS, D. E. S. N.; BOROWSKI, S. M.; OLIVEIRA, S.J. Infecção de suínos pelo *Streptococcus suis* tipo II no Rio Grande do Sul: pesquisa de portadores pelo exame bacteriológico de amígdalas coletadas em frigoríficos. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v. 23, p. 101-107, 1995.

BOYE, M.; FEENSTRA, A. A.; TEGMEIER, C.; ANDRESEN, L. O.; RASMUSSEN, S. R.; BILLE-HANSEN, V. Detection of *Streptococcus suis* by in situ hybridization, indirect immunofluorescence, and peroxidase-antiperoxidase assays in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections from pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 12, n. 3, p. 224-232, 2000.

BUSQUE, P.; HIGGINS, R.; CAYA, F.; QUESSY, S. Immunization of pigs against *Streptococcus suis* serotype 2 infection using a live avirulent strain. *Can. J. Vet. Res.*, v. 61, n. 4, p. 275-279, 1997.

CHARLAND, N.; KELLENS, J. T. C.; CAYA, F.; GOTTSCHALK, M. Agglutination of *Streptococcus suis* by sialic acid-binding lectins. *J. Clinical Microbiology*, v. 33, n. 8, p. 2220-2221, 1995.

CHARLAND, N.; JACQUES, M.; LACOUTURE, S.; GOTTSCHALK, M. Characterization and protective activity of a monoclonal antibody against a capsular epitope shared by *Streptococcus suis* serotypes 1, 2 and 1/2. *Microbiology*, v. 143, n. 11, p. 3607-3614, 1997.

CHARLAND, N.; HAREL, J.; KOBISH, M.; LACASSE, S.; GOTTSCHALK, M. *Streptococcus suis* serotype 2 mutants deficient in capsular expression. *Microbiology*, v. 144, n. 2, p. 325-332, 1998.

CHARLAND, N.; NIZET, V.; RUBENS, C. E.; KIM, K. S.; LACOUTURE, S.; GOTTSCHALK, M. *Streptococcus suis* serotype 2 interactions with human brain microvascular endothelial cells. *Infection and Immunity*, v. 68, n. 2, p. 637-643, 2000.

CHATELLIER, S.; HAREL, J.; ZHANG, Y.; GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; DEVRIESE, L. A.; BROUSSEAU, R. Phylogenetic diversity of *Streptococcus suis* strains of various serotypes as revealed by 16S rRNA gene sequence comparison. *Int. J. Syst. Bacteriology*, v. 48, n. 2, p. 581-589, 1998.

CHRISTENSEN, P.; KAHLMETER, G.; JONSSON, S.; KRONVALL, G. New method for the serological grouping of Streptococci with specific antibodies adsorbed to protein A-containing Staphylococci. *Infection and Immunity*, v. 7, n. 6, p. 881-885, 1973.

CUEVAS, L. The epidemiology of pig diseases In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 15, 1998, Birmingham. *Proceedings...* Birmingham: IPVS, 1998. v. 1, p. 87-93.

DALLA COSTA, O. A.; MORES, N.; SOBESTIANSKY, J.; BARIONI, W. J.; PIFFER, I. A.; PEDROSO DE PAIVA, D.; GUZZO, R.; LIMA, G. J. M. M.; PERDOMO, C. C. Estudo ecopatológico nas fases de crescimento e terminação: fatores de risco associados à rinite atrófica progressiva e a pneumonias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 9, 1999, Belo Horizonte. *Anais...*, Belo Horizonte: ABRAVES, 1999, p. 169-170.

DEE, S. A.; CARLSON, A. R.; WINKELMAN, N. L.; COREY, M. M. Effect of management practices on the *Streptococcus suis* carrier rate in nursery swine. *JAVMA*, v. 2003, n. 2, p. 295-299, 1993.

DEVRIESE, L. A.; CEYSSENS, K.; HOMMEZ, J.; KILPPER-BALZ, R.; SHLEIFER, K. H. Characteristics of different *Streptococcus suis* ecovars and description of a simplified identification method. *Veterinary Microbiology*, v. 105, p. 1-10, 2005.

26, n. 1-2, p. 141-150, 1991.

DEVRIESE, L. A.; HOMMEZ, J.; POT, B.; HAESEBROUCK, F. Identification and composition of the streptococcal and enterococcal flora of tonsils, intestines and faeces of pigs. *J. Applied Bacteriology*, v. 77, n. 1, p. 31-36, 1994.

DRITZ, S. S.; CHENGAPPA, M. M.; NELSSSEN, J. L.; TOKACH, M. D.; GOODBAND, R. D.; NIETFELD, J. C.; STAATS, J. J. Growth and microbial flora of nonmedicated segregated, early weaned pigs, from a commercial swine operation. *JAVMA*, v. 208, n. 5, p. 711-715, 1996a.

DRITZ, S. S.; OWEN, K. Q.; GOODBAND, R. D.; NELSSSEN, J. L.; TOKACH, M. D.; CHENGAPPA, M. M.; BLECHA, F. Influence of lipopolysaccharide-induced immune challenge and diet complexity on growth performance and acute-phase protein production in segregated early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.*, v.74, n. 7, p. 1620-1628, 1996b.

FARINHA, F. B. N.; BERSANO, J. G.; RODRIGUES, F. M.; GENICOLO, L.; REITER, S. C. Meningite em suínos causada por *Streptococcus suis* tipo R. *Arq. Inst. Biol.*, v. 48, p. 91-95, 1981.

FEDER, I.; CHENGAPPA, M. M.; FENWICK, B.; RIDER, M.; STAATS, J. Partial characterization of *Streptococcus suis* type 2 hemolysin. *J. Clinical Microbiology*, v. 32, n. 5, p. 1256-1260, 1994.

FIELD, H. I.; BUTAIN, D.; DONE, J. T. studies on piglet mortality I. Streptococcal meningitis and arthritis. *Vet Rec*, v.66, p. 453-455, 1954.

FRANÇOIS, B.; GISSOT, V.; PLOY, M. C.; VIGNON, V. Recurrent septic shock due to *Streptococcus suis*. *J. Clinical Microbiology*, v. 36, n. 8, p. 2395, 1998.

GALINA, L.; PIJOAN, C.; SITJAR, M.; CHRISTIANSON, W. T.; ROSSOW, K.; COLLINS, J. E. Interaction between *Streptococcus suis* serotype 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in specific pathogen-free piglets. *The Vet. Record*, v. 134, n. 3, p. 60-64, 1994.

GALINA, L.; VECHT, U.; WISSELINK, H. J.; PIJOAN, C. Prevalence of various phenotypes of *Streptococcus suis* isolated from swine in the U. S. A. based on the presence of muramidase-released protein and extracellular factor. *Can. J. Vet. Res.*, v. 60, n. 1, p. 72-74, 1996.

GARCIA, R. G. F. e SCHONHOFEN, C. A. Meningoencefalite em suínos por *Streptococcus suis* tipo II. *Rev. Set. Ciênc. Agr.*, v. 10, n. 1-2, p.207-209, 1988.

GIMENES, S. M.; PEZERICO, S.; LANGONI, H.; CABRAL, K.G.; CARREIRA, R. C. Pesquisa de suínos portadores de *Streptococcus suis*, na região de Botucatu -São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 8, 1997, Foz do Iguaçu. *Anais...*, Foz do Iguaçu: ABRAVES, 1997. p. 235-236.

- GOGOLEWSKI, R. P.; COOK, R. W.; O'CONNELL, C. J. *Streptococcus suis* serotypes associated with disease in weaned pigs. *Aus. Vet. J.*, v. 67, n. 6, p. 202-204, 1990.
- GOTTSCHALK M.; HIGGINS, R.; JACQUES, M.; MITTAL, K. R.; HENRICHSEN, J. Description of 14 new capsular types of *Streptococcus suis*. *J. C. Microbiology*, v. 27, n. 12, p. 2633-2636, 1989.
- GOTTSCHALK, M.; PETITBOIS, S.; HIGGINS, R.; JACQUES, M. Adherence of *Streptococcus suis* capsular type 2 to porcine lung sections. *Can. J. Vet. Res.*, v. 55, n. 3, p. 302-304, 1991a.
- GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; JACQUES, M.; BEAUDOIN, M.; HENRICHSEN, J. Characterization of six new capsular types (23 through 28) of *Streptococcus suis*. *J. C. Microbiology*, v. 29, n. 11, p. 2590-2594, 1991b.
- GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; JACQUES, M.; DUBEUIL, D. Production and characterization of two *Streptococcus suis* capsular type 2 mutants. *Veterinary Microbiology*. v. 30, n. 1, p. 59-71, 1992.
- GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; BOUDREAU, M. Use of polyvalent reagents for serotyping of *Streptococcus suis*. *J. Clinical Microbiology*, v. 32, n. 8, p. 2192 - 2194, 1993.
- GOTTSCHALK, M.; LACOUTURE, S.; DUBREUIL, J. D. Characterization of *Streptococcus suis* capsular type 2 haemolysin. *Microbiology*, v. 141, n. 1, p. 189-195, 1995.
- GOTTSCHALK, M.; LEBRUN, A.; WISSELINK, H.; DUBREUIL, D.; SMITH, H.; VECHT, U. Production of virulence-related proteins by Canadian strains of *Streptococcus suis* capsular type 2. *Can. J. Vet. Res.*, v. 62, n. 1, p. 75-79, 1998.
- GOTTSCHALK, M.; SEGURA, M.; The pathogenesis of meningitis caused by *Streptococcus suis*: the unresolved questions. *Vet. Microbiology*, v. 76, n. 3, p. 259-272, 2000.
- HIGGINS, R.; GOTTSCHALK M. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types in 1998. *Can. Vet. J.*, v. 40, n. 4, p. 277, 1999.
- HOLT, M E.; EMRIGHT, M. R.; ALEXANDER, T. J. L. Studies of the protective effect of different fractions of sera from pigs immune to *Streptococcus suis* type 2 infection. *J. Comp. Path.*, v. 100, n. 4, p. 435-442, 1989.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). *Censo Agropecuário, 1995-1996*. Rio de Janeiro, 1998. n. 1.
- JACOBS, A. A. C.; VAN DEN BERG, A. J. G.; LOEFFEN, P. L. W. Protection of experimentally infected pigs by sulisin, the thiol-activated haemolysin of *Streptococcus suis*. *Veterinary Record*, v. 7, n. 139, p. 225-228, 1996.
- KATAKOA, Y.; YAMASHITA, T.; SUNAGA, S.; IMADA, Y.; ISHIKAWA, H.; KISHIMA, M.; NAKASAWA, M. An Enzyme-linked immunosorbent

assay (ELISA) for detection of antibody against *Streptococcus suis* type 2 in infected pigs. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 58, n. 4, p. 369-372, 1996.

KATSUMI, M.; KATAKOA, Y.; TAKASHI, T.; KIKUCHI, N.; HIRAMUNE, T. Bacterial isolation from slaughtered pigs associated with endocarditis, especially the isolation of *Streptococcus suis*. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 59, n. 1, p. 75-78, 1997.

LUQUE, I.; TARRADAS, C.; ARENAS, A.; MALDONADO, A.; ASTORGA, R.; PEREA, A. *Streptococcus suis* serotypes associated with different disease conditions in pigs. *The Veterinary Record*, v. 27, n. 142, p. 726-727, 1998.

MACLENNAN, M.; FOSTER, G.; DICK, K.; SMITH, W. J.; NIELSEN, B. *Streptococcus suis* serotypes 7, 8 and 14 from diseased pigs in Scotland. *The Veterinary Record*, v. 26, n. 139, p. 423-424, 1996.

MADEC, F. Biosecurity of pig units: a major issue for herd health maintenance. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10, 2001, Porto Alegre. *Anais...*, Porto Alegre, 2001. CD-ROM

MORES, N.; AMARAL, A. L. Patologias associadas ao desmame. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10, 2001, Porto Alegre. *Anais...*, Porto Alegre, 2001. CD-ROM

MWANIKI, C. G.; ROBERTSON, I. D.; HAMPSON, D. J. The prevalence of *Streptococcus suis* type 2 in Western Australian piggeries. *Australian Vet. J.*, v. 71, n. 11, p. 385-386, 1994.

OKWUMABUA, O.; STAATS, J.; CHENGAPPA, M. M. Detection of genomic heterogeneity in *Streptococcus suis* isolates by DNA restriction fragment length polymorphisms of rRNA genes (ribotyping). *J. Clin. Microbiology*, v. 33, n. 4, p. 968-972, 1995.

PAYVANDI, F.; SRKUMARAN, S.; SHIELDS, T. R.; ERICKSON, E. D. Monoclonal antibodies for coagglutination of *Streptococcus suis* type 1. *Veterinary Microbiology*, n. 20, p. 349-356, 1989.

QUESSY, S.; DUBREUIL, D.; CAYA, M.; HIGGINS, R. Discrimination of virulent and avirulent *Streptococcus suis* capsular type 2 isolates from different geographical origins. *Infection and Immunity*, v. 63, n. 5, p. 1975-1979, 1995.

REAMS, R. Y.; HARRINGTON, D. D.; GLICKMAN, L. T.; THACKER, H. L.; TERRY, L. B. Multiple serotypes and strains of *Streptococcus suis* in naturally infected swine herds. *J. Vet. Diagn. Invest.*, vol. 8, n. 1, p. 119-121, 1996.

REIS, R.; NASCIMENTO, E. F.; COELHO, A. M. B.; LEITE, R. C.; NOGUEIRA, R. H. G. Doenças de suínos no Estado de Minas Gerais. V. Meningoencefalite estreptocócica em leitões desmamados. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, v. 32, n. 3, p. 375-381, 1980.

SALASIA, S. I. O.; LAMMLER, C.; HERMANN, G. Properties of a *Streptococcus suis* isolate of serotype 2 and two capsular mutants. *Vet.*

*Microbiology*, v. 45, n. 2-3, p. 151-156, 1995.

SANFORD, S. E. Gross and histopathological findings in unusual lesions caused by *Streptococcus suis* in pigs I. Cardiac lesions. *Can. J. Vet. Res.*, v. 51, n. 4, p. 481-485, 1987.

SANFORD, S. E.; HIGGINS, R. Streptococcal diseases. In: L, A. D.; STRAW, B. E.; MENGELING, W. L.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. *Diseases of Swine*. Ames, Iowa, 1992, p. 588-590.

SANTOS, J.L. *Epidemiologia e controle da infecção por Haemophilus parasuis*. Belo Horizonte: UFMG, 1997. 139f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

SANTOS, J. L.; DEL'ARCO, A. E.; RIBEIRO, M. C. E.; GUIMARÃES, W. V. Distribuição de sorotipos de *Streptococcus suis* em suínos clinicamente doentes no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 9, 1999, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: ABRAVES, 1999, p. 239-240.

SANTOS, J. L.; DEL'ARCO, A. E.; RIBEIRO, M. C. E.; GUIMARÃES, W. Occurrence of *Streptococcus suis* serotypes in pigs in Brazil. In: THE INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 16, 2000, Melbourne. *Proceedings...* Melbourne: IPVS, 2000, p. 536.

SAUBER, T. E.; STAHLY, T. S.; NONNECKE, B. J. Effect of level of chronic immune system activation on the lactational performance of sows. *J. Anim. Sci.*, v. 77, n. 8, p. 1985-1993, 1999.

SEPULVEDA, E. M. C.; ALTMAN, E.; KOBISCH, M.; ALLAIRE, S. D.; GOTTSCHALK, M. Detection of antibodies against *Streptococcus suis* capsular type 2 using a purified polysaccharide antigen-based indirect ELISA. *Vet. Microbiology*, v. 52, n. 1-2, p. 113-125, 1996.

SMITH, H. E.; VECHT, U.; WISSELINK, H. J.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; BIERMANN, Y.; SMITS, M. A. Mutants of *Streptococcus suis* types 1 and 2 impaired in expression of muramidase-released protein and extracellular protein induce disease in newborn germfree pigs. *Infection and Immunity*, v. 64, n. 10, p. 4409-4412, 1996.

SMITH, H. E.; WISSELINK, H. J.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; VECHT, U.; SMITS, M. M. Virulence markers of *Streptococcus suis* type 1 and 2. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 418, p. 651-655, 1997.

STAATS, J. J.; FEDER, I.; OKWUMABUA, O.; CHENGAPPA, M. M. *Streptococcus suis*: past and present. *Veterinary Research Communications*, v. 21, n. 6, p. 381-407, 1997.

STAATS, J. J.; PLATTNER, B. L.; NIETFELD, J.; DRITZ, S.; CHENGAPPA, M. M. Use of ribotyping and hemolysin activity to identify highly virulent *Streptococcus suis* type 2 isolates. *J. Clinical Microbiology*, v. 36, n. 1, p. 15-19, 1998.

- STAATS, J. J.; PLATTNER, B. L.; STEWART, G. C.; CHENGAPPA, M. M. Presence of the *Streptococcus suis* suilysin gene and expression of MRP and EF correlates with high virulence in *Streptococcus suis* type 2 isolates, *Vet. Microbiology*, v. 70, n. 3-4, p. 201-211, 1999.
- TARRADAS, C.; ARENAS, A.; MALDONADO, A.; LUQUE, I.; MIRANDA, A.; PEREA, A. Identification of *Streptococcus suis* isolated from swine: proposal for biochemical parameters. *J. Clinical Microbiology*, v. 32, n. 2, p. 578-580, 1994.
- TORREMORELL, M.; CALSAMIGLIA, M.; PIJOAN, C. Colonization of suckling pigs by *Streptococcus suis* with particular reference to pathogenic serotype 2 strains. *Can. J. Vet. Res.*, v. 62, n. 1, p. 21-26, 1998.
- TORREMORELL, M.; PIJOAN, C. Prolonged persistence of an epidemic *Streptococcus suis* strain in a closed pig population. *Veterinary Record*, v. 143, n. 14, p. 394-395, 1998.
- TURGEON, P. I.; HIGGINS, R.; GOTTSALK, M.; BEAUDOIN, M. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolates. *Br. Vet. J.*, v. 150, n. 3, p. 263-269, 1994.
- VAZ, A. K. Relatório da reunião final . In: SIMPÓSIO SOBRE MENINGITE ESTREPTOCÓCCICA SUÍNA E PLEUROPNEUMONIA SUÍNA. 1999, Lages. *Anais...* Lages: ABRAVES, 1999, p. 42-44.
- VECHT, U.; WISSELINK, H. J.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; SMITH, H. E. Characterization of virulence of the *Streptococcus suis* serotype 2 reference strain Henrichsen S 735 in newborn gnotobiotic pigs. *Vet. Microbiology*, v. 51, n.1-2, p. 125-136, 1996.
- WASTESON, Y.; HOIE, S.; OBERTS, M. C. Characterization of antibiotic resistance in *Streptococcus suis*. *Vet. Microbiology*, v. 41, n. 1-2, p. 41-49, 1994.
- WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on body nitrogen retention, partial efficiency of lysine utilization, and lysine needs of pigs. *J. Anim. Science*, v. 75, n. 9, p. 2472-2480, 1997a.
- WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of level of chronic immune system activation on the growth and dietary lysine needs of pigs fed from 6 to 112 kg. *J. Anim. Science*, v. 75, n. 9, p. 2481-2496, 1997b.
- WINDSOR, R. S.; ELLIOT, S. D. Streptococcal infection in young pigs IV. An outbreak of streptococcal meningitis in weaned pigs. *J. Hyg.*, v. 75, n. 1, p. 69-78, 1975.
- WISSELINK, H. J.; REEK, F. H.; VECHT, U.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; SMITS, M. A. ; SMITH, H. E. Detection of virulent strains of *Streptococcus suis* type 2 and highly virulent strains of *Streptococcus suis* type 1 in tonsillar specimens of pigs by PCR. *Vet. Microbiology*, v. 67, n. 2, p. 143-157, 1999.
- WISSELINK, H. J.; SMITH, H. E.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; PEPPERKAMP, K.; VECHT, U. Distribution of capsular  $\alpha$  types and production of muramidase

released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries. *Vet. Microbiology*, v. 74, n. 3, p. 237-248, 2000.