

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

OCORRÊNCIA DE *Streptococcus suis* E *Salmonella* spp
EM CRIAÇÕES DE SUÍNOS NA REGIÃO DE BOTUCATU,
PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS E
IMPLICAÇÕES COM A SAÚDE PÚBLICA

TAÍSSA COOK SIQUEIRA SOARES

Botucatu – SP
Fevereiro / 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

OCORRÊNCIA DE *Streptococcus suis* E *Salmonella* spp
EM CRIAÇÕES DE SUÍNOS NA REGIÃO DE BOTUCATU,
PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS E
IMPLICAÇÕES COM A SAÚDE PÚBLICA

TAÍSSA COOK SIQUEIRA SOARES

Dissertação apresentada junto ao Programa
de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Adj. Dr. Antonio Carlos
Paes.

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação - Campus De Botucatu - UNESP
Bibliotecária responsável: *Sulamita Selma Clemente Colnago* – CRB 8/4716

Soares, Taíssa Cook Siqueira.

Ocorrência de *Streptococcus suis* e *Salmonella* spp em criações de suínos na região de Botucatu, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e implicações com a saúde pública / Taíssa Cook Siqueira Soares. - Botucatu, 2011

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011

Orientador: Antonio Carlos Paes

Capes: 50502000

1. Suíno - Doenças - Diagnóstico. 2. Doenças transmissíveis em animais - Diagnóstico.

Palavras-chave: Antimicrobianos; Epidemiologia; Humanos; Ocorrência; Portadores; *Salmonella* spp; Saúde Pública; Sorotipificação; *Streptococcus suis*; Suínos;

Nome do autor: Taíssa Cook Siqueira Soares

Título: OCORRÊNCIA DE *Streptococcus suis* E *Salmonella* spp EM CRIAÇÕES DE SUÍNOS NA REGIÃO DE BOTUCATU, PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS E IMPLICAÇÕES COM A SAÚDE PÚBLICA

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Adj. Dr. Antonio Carlos Paes

Presidente e orientador

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Tit. Dra. Jane Megid

Membro

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Ass. Dr. Ary Fernandes Junior

Membro

Departamento de Microbiologia e Imunologia

IBB – UNESP – Botucatu

Data da Defesa: 04 de Fevereiro de 2011.

Dedicatória

Aos Animais Irracionais: os seres vivos mais evoluídos do planeta e razão maior de todo estudo, trabalho e dedicação.

Agradecimentos

À “força” superior e inexplicável, mais comumente denominada Deus, por me permitir chegar até aqui sem danos muito sérios.

À minha querida, ímpar e linda família, pelo apoio durante todos esses anos, nos momentos de alegria e tristeza. Em especial à minha tão amada mãe, Denise Guedes Cook Siqueira Soares, pelo amor incondicional e ajuda sem limites, estando eu na mesma cidade, em outro Estado ou país.

Aos meus avós, Ayrton Soares e Neuza Siqueira Soares, e à minha mãe Denise G. Cook S. Soares, pelo auxílio financeiro, o qual tornou possível a finalização deste projeto de pesquisa.

Ao meu inigualável orientador Prof. Adj. Dr. Antonio Carlos Paes, pela idéia do projeto que me permitiu, além do amadurecimento profissional e pessoal, tantas experiências inesquecíveis e pela concessão de liberdade (com disciplina) na realização do meu projeto.

À Dra. Dália dos Prazeres Rodrigues, Pesquisadora Titular e Chefe do Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ, por sua colaboração ao projeto.

Ao Dr. Marcelo Gottschalk, Professor Titular e Chefe do Centre de Recherche en Infectiologie Porcine (CRIIP) da Faculté de Médecine Vétérinaire da Université de Montréal, por sua colaboração ao projeto e pela oportunidade, a mim oferecida, de vivenciar um avançado centro de pesquisa.

Ao Dr. Marcelo Gottschalk, Dra. Mariela Segura, Sonia Lacouture, Claudia Duquette, Geneviève M., Line Vachon, Katerine Aubé e aos pós-graduandos Claude Lachance, Mathieu Houde, Marycruz Dominguez, Marie-Pier Lecours, Cynthia Calzas e Paul Lemire, pela ajuda, calorosa hospitalidade e amizade durante minha estadia no Canadá.

Ao Professor Paulo Eduardo Martins Ribolla, por abrir as portas de seu laboratório, em última hora, para as minhas intermináveis linhagens e aos seus pós-graduandos, por me ensinarem e me orientarem na realização da técnica da PCR.

Aos Professores José Paes de Almeida Nogueira Pinto e Germano Francisco Biondi, por permitirem a utilização de seus laboratórios e equipamentos durante a realização do meu projeto.

Aos Professores Jane Megid, Márcio Garcia Ribeiro, Teruê Sadatsunne, Vera Lúcia Moraes Rall e Sandra Bosco, pela ajuda imprescindível nos momentos de necessidade.

Ao Professor Jesus Aparecido Ferro, Professor Adjunto do Departamento de Tecnologia da UNESP/Jaboticabal, por permitir a realização da liofilização de minhas linhagens em seu laboratório.

Aos residentes e pós-graduandos da Inspeção UNESP/Botucatu, por dividirem comigo seus ambientes e equipamentos de trabalho. Ao residente Daniel Cazaes de Sousa, por sua participação ativa em diversas etapas do projeto.

Em especial, ao Adilson Aparecido Romero (Pardal) e Roberto Martins (Seu Roberto), pela ajuda e amizade durante todo o projeto. Eu jamais teria terminado meu mestrado sem esses dois especiais Seres Humanos.

Em especial também aos caprinos e à Vermelha, a vaca que tantas vezes me forneceu seu sangue para as minhas intermináveis placas de ágar sangue. Lá vinha ela caminhando calmamente ao lado do Pardal ou Seu Roberto, já virando o pescoço gentilmente para que eu terminasse meu trabalho.

A todos que disseram, de forma amigável ou não, que eu jamais terminaria um projeto de tamanha magnitude. Vocês foram uma das importantes fontes de força para a minha persistência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de mestrado.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Ocorrência de *Streptococcus suis* em suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil. Diferença de ocorrência entre as propriedades, faixas etárias (categorias) e sexo dos animais..... 54
- Tabela 2 - Comparação das taxas de isolamento de *Streptococcus suis* a partir das tonsilas e cavidades nasais de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil..... 56
- Tabela 3 - Distribuição dos diferentes sorotipos de *Streptococcus suis*, dentre as 86 linhagens tipificáveis (encapsuladas), isolados de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil..... 57
- Tabela 4 - Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de 260 linhagens de *Streptococcus suis* isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil..... 58
- Tabela 5 - Multirresistência de linhagens de *Streptococcus suis* isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil..... 60
- Tabela 6 - Distribuição geral dos perfis de resistência (*resistotypes*) de 260 linhagens de *Streptococcus suis* isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil..... 61

Tabela 7 -	Distribuição dos perfis de resistência (<i>resistotypes</i>) entre sorotipos importantes de <i>Streptococcus suis</i> isolados de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.....	62
Tabela 8 -	Número e características dos animais positivos; número, sorotipo e sítio e condições de isolamento das linhagens de <i>Salmonella</i> spp isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.....	64
Tabela 9 -	Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das 19 linhagens de <i>Salmonella</i> spp isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.....	66

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

® - marca registrada	FE - fator extracelular
™ - “trademark”	IgG - imunoglobulina classe G
% - porcentagem	DNA - ácido desoxirribonucleico
> - maior que	DNase - desoxirribonuclease
< - menor que	SNC - sistema nervoso central
µg - micrograma	BHE - barreira hematoencefálica
µL - microlitro	CPEC - células epiteliais do plexo coróide
rpm - rotações por minuto	VP - Voges-Proskauer
PBS - salina tamponada com fosfato	PRRS - síndrome reprodutiva e respiratória dos suínos
pH - potencial hidrogeniônico	2+ - duas cruces
H ₂ S - gás sulfídrico	4+ - quatro cruces
L-TD - L-triptofano desaminase	g - grama
°C - graus Celsius	mL - mililitro
RNA _r - ácido ribonucleico ribossomal	PCR - reação em cadeia pela polimerase
RNAse - ribonuclease	U.I. - unidade internacional
kDa - kilodaltons	
MRP - muramidase release protein	

* Em virtude do uso consagrado na literatura técnica, algumas abreviaturas seguem sua grafia no inglês.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 <i>Streptococcus suis</i>	17
2.1.1 O gênero <i>Streptococcus</i>	17
2.1.2 A espécie <i>Streptococcus suis</i>	17
2.1.2.1 Histórico.....	17
2.1.2.2 Etiologia.....	18
2.1.2.3 Epidemiologia.....	22
2.1.2.4 Patogenia da infecção.....	26
2.1.2.5 Manifestações clínicas.....	29
2.1.2.6 Diagnóstico.....	30
2.1.2.7 Tratamento da infecção.....	34
2.1.2.8 Controle e profilaxia da infecção.....	35
2.1.2.9 Aspectos em saúde pública.....	37
2.2 <i>Salmonella</i> spp.....	40
2.2.1 Histórico e etiologia.....	40
2.2.2 Epidemiologia.....	41
2.2.3 Patogenia da infecção.....	42
2.2.4 Manifestações clínicas.....	43
2.2.5 Diagnóstico.....	43
2.2.6 Tratamento da infecção.....	44
2.2.7 Controle e profilaxia da infecção.....	44
2.2.8 Aspectos em saúde pública.....	45
3 OBJETIVOS.....	46
3.1 Gerais.....	46
3.2 Específicos.....	46

4 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1 <i>Streptococcus suis</i>	47
4.1.1 Descrição das propriedades.....	47
4.1.2 Coleta e transporte das amostras.....	47
4.1.3 Processamento microbiológico das amostras.....	48
4.1.4 Identificação genotípica da espécie <i>S. suis</i>	48
4.1.5 Liofilização das linhagens de <i>S. suis</i>	49
4.1.6 Sorotipificação das linhagens de <i>S. suis</i>	49
4.1.7 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos.....	50
4.2 <i>Salmonella</i> spp.....	51
4.2.1 Coleta e transporte das amostras.....	51
4.2.2 Processamento microbiológico das amostras.....	51
4.2.3 Identificação do gênero <i>Salmonella</i>	52
4.2.4 Sorotipificação das linhagens de <i>Salmonella</i> spp.....	53
4.2.5 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos.....	53
4.3 Análise Estatística.....	53
5 RESULTADOS	54
5.1 <i>Streptococcus suis</i>	54
5.1.1 Ocorrência de <i>S. suis</i> em suínos clinicamente sadios.....	54
5.1.2 Isolamento tonsilar <i>versus</i> isolamento nasal.....	56
5.1.3 Distribuição dos diferentes sorotipos de <i>S. suis</i> isolados de suínos clinicamente sadios.....	57
5.1.4 Susceptibilidade aos antimicrobianos.....	58
5.1.4.1 Multiresistência e perfis de resistência (<i>resistotypes</i>).....	59
5.1.5 <i>S. suis</i> em humanos.....	63
5.2 <i>Salmonella</i> spp.....	63
5.2.1 Ocorrência e distribuição dos sorotipos de <i>Salmonella</i> spp.....	63
5.2.2 Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos.....	66
5.2.3 <i>Salmonella</i> spp em humanos.....	67
6 DISCUSSÃO.....	68
6.1 <i>Streptococcus suis</i>	68

6.1.1 Ocorrência de <i>S. suis</i> em suínos clinicamente sadios.....	68
6.1.2 Isolamento tonsilar <i>versus</i> isolamento nasal.....	73
6.1.3 Distribuição dos diferentes sorotipos de <i>S. suis</i> isolados de suínos clinicamente sadios.....	75
6.1.4 Susceptibilidade aos antimicrobianos.....	77
6.1.4.1 Multiresistência e perfis de resistência (<i>resistotypes</i>).....	80
6.1.5 <i>S. suis</i> em humanos.....	81
6.2 <i>Salmonella</i> spp.....	83
6.2.1 Ocorrência e distribuição dos sorotipos de <i>Salmonella</i> spp.....	83
6.2.2 Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos.....	85
6.2.3 <i>Salmonella</i> spp em humanos.....	86
7 CONCLUSÕES.....	88
8 BIBLIOGRAFIA.....	90
APÊNDICES.....	130
APÊNDICE 1.....	131
APÊNDICE 2.....	132
APÊNDICE 3.....	133
ANEXOS.....	134
TRABALHO CIENTÍFICO.....	01
NORMAS DA REVISTA.....	02

SOARES, T.C.S. **Ocorrência de *Streptococcus suis* e *Salmonella* spp em criações de suínos na região de Botucatu, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e implicações com a saúde pública.** Botucatu, 2011. 134p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O presente estudo teve por objetivos determinar a ocorrência de suínos portadores sadios de *Streptococcus suis* e *Salmonella* spp em criações na região de Botucatu-S.P., descrever a distribuição dos diferentes sorotipos dos agentes e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das linhagens isoladas, bem como verificar a transmissão desses agentes zoonóticos para os funcionários das granjas. Suabes de tonsilas e cavidades nasais de 240 suínos clinicamente sadios e suabes de tonsilas de 28 funcionários foram coletados para a detecção de *Streptococcus suis* através de cultivo bacteriano e PCR. Para a detecção de *Salmonella* spp foram coletados suabes de tonsilas e reto de 400 animais e suabes das mãos de 23 funcionários. O gênero *Salmonella* foi identificado através de cultivo bacteriano e provas bioquímicas. *Streptococcus suis* e *Salmonella* spp foram isolados de 80,42% e 2,00% dos animais amostrados, respectivamente. Dentre os 17 sorotipos de *Streptococcus suis* isolados, os sorotipos 22 (18,60%), 30 (15,10%), 21 (11,60%) e 27 (10,40%) foram os mais frequentes. Os três sorotipos de *Salmonella* isolados foram *S. Infantis*, *S. Typhimurium* e *S. Cerro*. Alta ocorrência de *Streptococcus suis* foi observada em todas as faixas etárias amostradas e ampla variedade de sorotipos do agente foi isolada. Multirresistência foi observada na grande maioria das linhagens isoladas de ambos os agentes estudados. O presente estudo descreve, pela primeira vez no Brasil, o isolamento de *Streptococcus suis* a partir de amostra de tonsilas de um indivíduo sadio.

Palavras-chave: *Streptococcus suis*; *Salmonella* spp; Ocorrência; Suínos; Portadores; Epidemiologia; Sorotipificação; Antimicrobianos; Humanos; Saúde Pública.

SOARES, T.C.S. **Occurrence of *Streptococcus suis* and *Salmonella* spp in swine farms of the Botucatu region, antimicrobial susceptibility profile and implications for public health.** Botucatu, 2011. 134p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The aim of the present study was to determine the occurrence of *Streptococcus suis* and *Salmonella* spp healthy carrier pigs in swine farms of the Botucatu region, São Paulo State, to describe the distribution of the different serotypes of both agents and the antimicrobial susceptibility profile of the isolated strains, and to verify the transmission of these zoonotic agents for the farm workers. Swab samples from tonsils and nasal cavities of 240 clinically healthy pigs and tonsil swabs of 28 farm workers were collected for the detection of *Streptococcus suis* by bacterial culture and PCR. Tonsils and rectal swabs were collected from 400 animals for the detection of *Salmonella* spp as well as swabs from the hands of 23 farm workers. The genus *Salmonella* was identified by bacterial culture and biochemical tests. *Streptococcus suis* and *Salmonella* spp were isolated from 80.42% and 2.00% of the sampled animals, respectively. Among the 17 isolated serotypes of *Streptococcus suis*, serotypes 22 (18.60%), 30 (15.10%), 21 (11.60%) and 27 (10.40%) were the most frequently. The three serotypes of *Salmonella* isolated were *S. Infantis*, *S. Typhimurium* and *S. Cerro*. High occurrence of *Streptococcus suis* was observed in all sampled age groups and a wide variety of serotypes of the agent was isolated. Multiresistance was observed in most isolates of both agents studied. The present study describes, for the first time in Brazil, the isolation of *Streptococcus suis* from the tonsils of a healthy human.

Keywords: *Streptococcus suis*; *Salmonella* spp; Occurrence; Swines; Carriers; Serotyping; Antimicrobials; Humans; Public Health.

1 INTRODUÇÃO

As infecções causadas por *Streptococcus suis* e *Salmonella* spp são reconhecidas mundialmente como dois dos maiores problemas da indústria suinícola. Além do impacto sanitário e econômico, as espécies são agentes zoonóticos (CDC, 2004a; MEAD et al., 1999; STAATS et al., 1997; LUN et al., 2007).

A infecção por *S. suis* é considerada uma zoonose ocupacional que ocorre com maior frequência em países com intensa atividade suinícola e alto consumo de carne de porco, sendo o agente potencialmente perigoso para indivíduos que trabalham diretamente com suínos ou no processamento industrial e comercialização de seus produtos e subprodutos (BUNGENER E BIALEK, 1989; WATKINS et al., 2001).

A infecção por *Salmonella* spp ocorre mundialmente em todas as espécies animais, incluindo o homem, geralmente devido a condições precárias de higiene e manejo. A transmissão ao homem pode ocorrer diretamente pelo contato com animais e, mais raramente, pelo contato com outro homem. Porém, diferentemente das infecções por *S. suis*, as infecções humanas por *Salmonella* spp são mais comumente transmitidas pela ingestão de alimentos contaminados (ACHA E SZYFRES, 2003).

Os animais portadores sadios desempenham um importante papel na disseminação e transmissão desses patógenos para os animais susceptíveis, funcionam como fonte de infecção para os funcionários das granjas e magarefes, além de fonte de contaminação das carcaças na linha de abate e, conseqüentemente, do produto alimentício final (ACHA E SZYFRES, 2003; HIGGINS & GOTTSCHALK, 2005; GOTTSCHALK et al., 2007).

No Brasil, desde 1980 até o presente momento, existem menos de 15 trabalhos científicos publicados referentes à espécie *S. suis*, com a grande maioria envolvendo animais doentes, sendo os mais recentes: Madureira Junior e Soncini (1999); Santos et al. (1999); Pagnani et al. (2002); Costa et al. (2005); Del'Arco et al. (2008). Dentro do nosso conhecimento, apenas quatro trabalhos científicos foram desenvolvidos envolvendo animais clinicamente sadios, dois com enfoque na detecção do sorotipo 2 (OLIVEIRA et al., 2008; FARIA et al., 2010) e dois na detecção do biotipo 2 (BOSCO et al., 2000; LARA et al., 2007).

O presente estudo objetivou determinar a ocorrência de suínos portadores sadios de *S. suis* e *Salmonella* spp, a distribuição dos sorotipos e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de ambos os agentes, a ocorrência de funcionários portadores sadios de *S. suis* e a ocorrência de *Salmonella* spp em suaves das mãos dos funcionários, em criações de suínos na região de Botucatu/S.P.

Ressaltamos que o presente projeto é o primeiro estudo epidemiológico mais amplo referente ao patógeno *S. suis*, realizado no Brasil, envolvendo: o primeiro relato de ocorrência de animais clinicamente sadios portadores de *S. suis*; primeiro relato da distribuição dos diferentes sorotipos da espécie *S. suis* entre animais portadores sadios; primeiro relato do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de linhagens de diferentes sorotipos de *S. suis* provenientes de animais portadores sadios; primeiro relato de isolamento de *S. suis* a partir de amostra de tonsilas de um humano.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Streptococcus suis*

2.1.1 O gênero *Streptococcus*

O gênero *Streptococcus* pode causar uma gama de infecções em humanos e diversas espécies animais, incluindo mamíferos e peixes. Diferentes espécies do gênero são frequentemente encontradas como comensais nas membranas mucosas, se comportando como microrganismos oportunistas (QUINN et al., 1994).

O gênero compreende diversas espécies, distintas quanto as suas propriedades biológicas e patogenicidade para os animais e o homem (ACHA E SZYFRES, 2003). A maioria dos estreptococos de interesse veterinário vive como comensais na mucosa do aparelho respiratório e trato urogenital baixo (QUINN et al., 1994). Os microrganismos desse gênero se apresentam como cocos Gram positivos isolados, aos pares ou em cadeias com diferentes comprimentos; catalase e oxidase negativos; imóveis; não formadores de esporos; anaeróbios facultativos; fermentadores da glicose; de crescimento ótimo em temperatura de aproximadamente 37°C e fastidiosos, requerendo meios enriquecidos para seu isolamento em laboratório (QUINN et al., 1994; ACHA E SZYFRES, 2003; MURRAY et al., 2007; WASHINGTON et al., 2008).

2.1.2 A espécie *Streptococcus suis*

2.1.2.1 Histórico

Os primeiros relatos de casos de meningite e artrite em leitões por *Streptococcus* spp deram-se na década de 50, na Inglaterra e Holanda. As espécies de *Streptococcus* alfa-hemolítico foram originalmente classificadas, por De Moor (1963), como pertencentes aos grupos R, S, RS e T de Lancefield. Mais tarde, Elliott et al. (1977), trabalhando com linhagens de *Streptococcus* alfa-hemolítico capsulares, provenientes de casos de meningite em suínos, similares aos dos grupos S e R de Lancefield, perceberam que De Moor havia

trabalhado equivocadamente com antígenos extraídos do material capsular e não da parede celular. Os autores demonstraram a presença do antígeno lipoteicóico do grupo D nesses microrganismos, os classificando como pertencentes ao grupo D de Lancefield. As identificações S, R, RS e T foram então substituídas por *S. suis* tipo 1, 2, 1/2 e 15 respectivamente (ELLIOTT E TAI, 1978; PERCH et al., 1983; GOTTSCHALK et al., 1989). Somente em 1987 (KILPPER-BÄLZ E SCHLEIFER, 1987) a espécie *S. suis* foi oficialmente reconhecida como uma nova espécie pertencente ao gênero *Streptococcus*. Segundo Washington et al. (2008), a sugestão da existência do antígeno lipoteicóico do grupo D não foi confirmada por técnicas moleculares e a reatividade com anti-soros do grupo D é resultado de reações cruzadas entre os grupos D e R. Os autores trazem uma nova classificação do gênero *Streptococcus* baseada na análise da sequência da subunidade menor do RNAr, dividindo o gênero em sete grupos. A espécie *S. suis* estaria inserida no grupo VII.

No Brasil, os primeiros isolamentos de *Streptococcus* alfa-hemolítico de leitões foram realizados por Reis et al. (1980) e Farinha et al. (1981). Outros trabalhos sucederam relatando o isolamento de *S. suis* tipo 1 e 2 em diferentes locais do país como Santa Catarina (BARCELLOS et al., 1984), Rio Grande do Sul (BARCELLOS et al., 1995) e São Paulo / Botucatu (BOSCO et al., 2000). Somente em 1999 (SANTOS et al., 1999) houve a primeira descrição da distribuição dos sorotipos do agente no país. A partir de então, poucos trabalhos têm sido desenvolvidos em relação ao *S. suis*, no Brasil (PAGNANI et al., 2002; SALGADO et al., 2003; CALDERARO et al., 2004; COSTA et al., 2005; LARA et al., 2007; DEL'ARCO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008; RIVA et al., 2008; SALVARANI et al., 2008; FARIA et al., 2010).

2.1.2.2 Etiologia

A espécie, além das características macro e microscópicas típicas do gênero *Streptococcus*, apresenta cápsula e alfa-hemólise em ágar sangue (WASHINGTON et al., 2008). Atualmente, são reconhecidos 35 sorotipos capsulares do agente, denominados de 1 a 34 e 1/2 (PERCH et al., 1983; GOTTSCHALK et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991b; HIGGINS et al., 1995). Hill et al. (2005), através da análise da sequência do RNAr

e do gene *cpn60*, sugerem que os sorotipos 32 e 34 sejam, na verdade, *Streptococcus orisratti*. Porém, os autores afirmam que novos estudos são necessários antes de uma reclassificação oficial.

O conhecimento acerca dos fatores de virulência, patogenicidade e mecanismos de proteção ainda são escassos. A maioria dos estudos tem sido conduzida com linhagens de *S. suis* tipo 2.

O ácido siálico, componente da cápsula do *S. suis*, já identificado como fator de virulência, parece inibir a via alternativa do complemento e auxiliar na proteção do microrganismo contra a fagocitose (CHARLAND et al., 1995; GOTTSCHALK et al., 1991c). Alguns trabalhos demonstraram que linhagens acapsulares são avirulentas e mais susceptíveis a fagocitose, reforçando a função da cápsula na virulência do microrganismo (SALASIA et al., 1995; CHARLAND et al., 1998). Em contrapartida, Charland et al. (1996) demonstraram a existência de linhagens capsulares avirulentas, indicando que outro fator de virulência é também essencial para a proteção do microrganismo contra a fagocitose, uma vez que linhagens virulentas e avirulentas possuem cápsulas de tamanhos similares e concentrações similares de ácido siálico. Estudos continuam sendo realizados na tentativa de elucidar o mecanismo específico pelo qual a capsula protege o agente contra a fagocitose (SEGURA et al., 2004).

Os componentes da parede celular expostos na superfície bacteriana parecem desempenhar um papel importante na liberação de citocinas pró-inflamatórias (GOTTSCHALK E SEGURA, 2000; GOTTSCHALK et al., 2007) assim como a N-desacetilação do peptidoglicano e a D-alanilação do ácido lipoteicóico parecem contribuir para a sobrevivência da bactéria na corrente sanguínea (BAUMS E VALENTIN-WEIGAND, 2009).

Vecht et al. (1991) demonstraram que linhagens virulentas de *S. suis* tipo 2 produzem duas proteínas, a 136 kDa muramidase-released protein (MRP) e o Fator Extracelular (FE), de 110 kDa, as identificando como fatores de virulência da espécie. Pouco se sabe acerca do mecanismo de ação do FE, proteína secretada pela bactéria. Acredita-se que a proteína estrutural MRP, presente na parede celular do *S. suis*, atue como adesina se ligando a fibronectina presente na matriz extracelular, auxiliando na resistência à fagocitose (QUESSY et al., 1995; STAATS et al., 1999). Estudos posteriores demonstraram linhagens

virulentas que não expressavam uma ou ambas as proteínas (SMITH et al., 1996; GOTTSCHALK et al., 1998; STAATS et al., 1998; STAATS et al., 1999; GOTTSCHALK E SEGURA, 2000). Segundo Gottschalk e Segura (2000), certamente existe uma associação entre essas duas proteínas e a virulência do *S. suis*, uma vez que a maioria das linhagens MRP+ FE+ são virulentas e levantam a possibilidade de linhagens MRP+ e FE+ serem mais virulentas que linhagens MRP- FE-.

Dentre os fatores secretados pelo *S. suis*, a suilisina é o mais importante (GOTTSCHALK E SEGURA, 2000; GOTTSCHALK et al., 2007). Esta hemolisina pertence à família das toxinas conhecidas como antigenicamente relacionadas a toxinas ligadoras de colesterol, as quais se ligam ao colesterol das membranas celulares, formando poros transmembrana (GOTTSCHALK et al., 1995). Além do caráter tóxico para diversos tipos celulares, autores demonstraram ainda sua interferência na fagocitose e morte mediada por complemento (CHARLAND et al., 2000; LALONDE et al., 2000; GOTTSCHALK E SEGURA, 2000; SEGURA E GOTTSCHALK, 2002; CHABOT-ROY et al., 2006; BENGA et al., 2008). Assim como os demais fatores de virulência, linhagens virulentas não produtoras de suilisina já foram identificadas (GOTTSCHALK et al., 1998; STAATS et al., 1999).

A produção de MRP, FE e suilisina por diversos sorotipos de *S. suis* isolados de casos clínicos e de animais sadios já foi descrita assim como a transferência de genes de virulência entre linhagens de *S. suis*, ressaltando a importância epidemiológica dos animais portadores sadios na manutenção, transmissão e distribuição de linhagens virulentas dentro e entre granjas suínolas. Autores demonstraram ainda uma diversidade de fenótipos dentro de um mesmo sorotipo e de acordo com a região geográfica (GOTTSCHALK et al., 1998; LUQUE et al., 1998b; SEGERS et al., 1998; BERTHELOT-HÉRAULT et al., 2000; KING et al., 2001; TARRADAS et al., 2001; TAKAMATSU et al., 2002; BLUME et al., 2009). Enquanto que na Europa e Ásia, a maioria das linhagens isoladas de casos clínicos produz os três fatores de virulência, a maioria das linhagens da América do Norte não os produz, sendo inclusive sugerido que linhagens de *S. suis* sorotipo 2 provenientes da Europa e Ásia sejam mais virulentas que linhagens provenientes da América do Norte (GOTTSCHALK et al., 2007). No Brasil, Calderaro et al. (2004) demonstraram a existência de oito genótipos diferentes entre linhagens de *S. suis* tipo 2, isoladas de animais

doentes provenientes de diversas regiões do país. O genótipo MRP+/FE+/suilisina+ foi o mais prevalente, porém, a produção dessas proteínas não foi avaliada, não havendo, portanto, a determinação dos fenótipos.

Diversas proteínas constituintes da matriz extracelular servem como potenciais receptores para patógenos, participando assim do processo infeccioso. Além disso, a ligação desses patógenos a proteínas plasmáticas como a fibronectina e o fibrinogênio pode mascarar epítomos, impedindo o reconhecimento do agente pelo sistema imunológico do hospedeiro (DINKLA et al., 2003). A ligação de bactérias patogênicas aos tecidos do hospedeiro é o primeiro passo para a colonização e posterior invasão, processos que podem culminar com bacteremia e sepse (TAMURA et al., 1994).

Recentemente, Greeff et al. (2002) identificaram a proteína ligadora de fibronectina e fibrinogênio, uma proteína com alta capacidade de ligação com os referidos compostos. Essa proteína parece atuar na colonização dos órgãos específicos envolvidos na infecção por *S. suis*, porém, parece não estar relacionada à colonização primária das tonsilas. Os autores demonstraram a presença do gene *fbps* na maioria dos sorotipos, mas a expressão da proteína pelos diferentes sorotipos não foi investigada. Esgleas et al. (2005), através de estudo realizado com a bactéria inteira, confirmaram a capacidade do *S. suis* de se ligar a fibronectina e a outras proteínas da matriz extracelular. A alfa-enolase, outra proteína capaz de se ligar a fibronectina e fibrinogênio, que talvez tenha um papel importante na invasão de células endoteliais do hospedeiro, foi recentemente identificada por Esgleas et al. (2008).

Diversas outras adesinas têm sido descritas para o *S. suis* na última década incluindo a adesina ligadora da galactosil- α 1-4 galactose, presente em diversos sorotipos, a proteína ligadora de IgG e a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, que se liga a diversas proteínas do hospedeiro como plasminogênio e albumina (SERHIR et al., 1995; TIKKANEN et al., 1996; QUESSY et al., 1997; JOBIN et al., 2004).

Outros potenciais fatores de virulência descritos na literatura mundial incluem o fator de opacidade (BAUMS et al., 2006) e algumas enzimas como proteases (JOBIN E GRENIER, 2003); glutamato desidrogenase (OKWUMABUA et al., 2001); DNase (FONTAINE et al., 2004); arginina desaminase, fator relacionado com a sobrevivência em condições de estresse (GRUENING et al., 2006) e a hialuronidase, relacionada com a

invasão do agente nos tecidos hospedeiros pela degradação e redução da viscosidade da matriz extracelular (ALLEN et al., 2004).

Segundo Donlan e Costerton (2002), a formação de biofilme por microrganismos os permite se tornarem colonizadores persistentes, resistirem à eliminação pelo sistema imune do hospedeiro, aumentar sua resistência aos antimicrobianos assim como a troca de material genético, contribuindo para sua virulência. Grenier et al. (2009) caracterizaram a formação de biofilme por quatro linhagens de *S. suis* sorotipo 2 e uma linhagem de *S. suis* sorotipo 5. Os autores demonstraram ainda que, quando em formação de biofilme, houve um aumento significativo na resistência à penicilina G e ampicilina.

É importante ressaltar que a maioria dos potenciais fatores de virulência citados é encontrada tanto em linhagens virulentas como em linhagens avirulentas. Segundo Smith et al. (1997), a virulência do *S. suis* é um processo multifatorial. Apesar da falta de evidência concreta do papel crítico dos fatores citados na virulência do agente, eles podem servir como marcadores de virulência e/ou para comparação de fenótipos entre as linhagens, o que parece ser o caso das proteínas MRP, EP e suilisina (VECHT et al., 1991; JACOBS et al., 1994; GOTTSCHALK et al., 1995)

2.1.2.3 Epidemiologia

O *S. suis* é um patógeno primário de suínos que, ocasionalmente, pode ser isolado de outras espécies de hospedeiros, incluindo o homem (ARENDS E ZANEN, 1988; MURRAY et al., 2007). Infecções pelo agente já foram descritas em ruminantes, equinos, cães, gatos e pássaros (KEYMER et al., 1983; HOMMEZ et al., 1988; DEVRIESE E HAESBROUCK, 1992; SANFORD E HIGGNIS, 1992; DEVRIESE et al., 1994; WILSON E GRIFFITH, 2000).

A infecção pelo *S. suis* é cosmopolita, ocorrendo com maior frequência na espécie suína. Animais de todas as idades podem ser acometidos. No entanto, a maioria dos casos sintomáticos ocorre nas primeiras semanas após o desmame, quando animais susceptíveis, sob condições de estresse, são expostos ao agente eliminado por suínos portadores saudáveis. A doença tem maior incidência em granjas de produção intensiva, com animais totalmente confinados e alta densidade populacional. Os principais fatores predisponentes são: idade

dos animais; patogenicidade e virulência do microrganismo; movimentação dos animais desmamados; mistura de suínos procedentes de diferentes rebanhos; superlotação com suínos criados em confinamento; flutuação excessiva da temperatura ambiental; alojamento de suínos na mesma sala com mais de duas semanas de diferença de idade; umidade relativa do ar superior a 70,00%; ventilação inadequada; uso de fluxo contínuo de produção sem vazão sanitário; histórico de ocorrência de outras doenças infecciosas como Síndrome Reprodutiva e Respiratória dos Suínos, doença de Aujeszky, salmonelose e pleuropneumonia suína (DEE et al., 1993; SOBESTIANSKI et al., 2001).

O agente é introduzido no rebanho através de suínos portadores, clinicamente sadios, os quais podem albergar mais de um sorotipo do agente (BRISEBOIS et al., 1990; FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1996a). Hoje, a taxa de portadores assintomáticos de um rebanho é considerada próximo de 100,00% (GOTTSCHALK, 2008 - comunicação pessoal). Estudos demonstram que uma mesma linhagem pode sobreviver por longos períodos em uma população de suínos assim como o estado de portador dos animais pode ser duradouro (CLIFTON-HADLEY et al., 1984; TORREMORELL E PIJOAN, 1998). Na verdade, é muito difícil sabermos se, uma vez infectado, o suíno permanece infectado como portador assintomático, ou se o animal está constantemente sendo reinfectado (GOTTSCHALK, 2008* - comunicação pessoal).

S. suis tem como habitat natural o trato respiratório, particularmente as tonsilas palatinas e cavidades nasais; trato genital, especificamente a vagina e trato digestivo dos suínos, caracterizando a espécie como principal reservatório e fonte de infecção desse agente para outros animais e o homem. No entanto, acredita-se que a espécie *S. suis* seja também um habitante normal do intestino de ruminantes (STAATS et al., 1997). Autores relatam ainda o isolamento ocasional do agente a partir do sangue, leite, pulmões, linfonodos, fígado, rins e prepúcio de suínos sadios (ERICKSON, 1987; SIHVONEN et al., 1988; ROBERTSON et al., 1991; SANFORD E HIGGINS, 1992). Esses dados sugerem padrões epidemiológicos complexos, uma vez que, ocasionalmente, diversas espécies animais podem ser a fonte de infecção do patógeno (DEVRIESE et al., 1990; DEVRIESE E HAESBROUCK, 1992; DEVRIESE et al., 1994).

* M. Gottschalk (e-mail, 2008).

Embora a taxa de portadores assintomáticos possa ser elevada nos rebanhos, a ocorrência da doença clínica, geralmente, é inferior a 5,00%, podendo chegar a 50,00%. As taxas de mortalidade devem variar entre 4,00% a 14,00%, sendo maiores em rebanhos de terminação que compram e misturam leitões de diferentes origens (WILLIAMS et al., 1973; CLIFTON-HADLEY E ALEXANDER, 1980; ARENDS et al., 1984; BRISEBOIS et al., 1990; TORREMORELL et al., 1998; SOBESTIANSKI et al., 2001; WASHINGTON et al., 2008). Cloutier et al. (2003) relatam taxa de mortalidade de 20,00% na ausência de tratamento.

A via de infecção mais comum é a respiratória, podendo ocorrer também infecção pela via digestiva (ACHA E SZYFRES, 2003). Matrizes podem transmitir o agente aos leitões por ocasião do parto, durante a passagem pelo canal vaginal (AMASS et al., 1996a; AMASS et al., 1997). A mosca doméstica e os roedores podem se constituir como importantes transmissores do agente. A mosca doméstica pode carrear o agente por cinco dias e migrar entre duas granjas (ENRIGHT et al., 1987). Roedores de laboratório podem ser experimentalmente infectados tanto por via oral como nasal, além de transmitir o agente a outros roedores. Autores acreditam que haja transmissão do agente entre roedores e suínos (WILLIAMS et al., 1988; ROBERTSON E BLACKMORE, 1990). *S. suis* pode ainda ser transmitido facilmente por fômites (SOBESTIANSKY et al., 2001). Roels et al. (2009) relataram o óbito de um gato por infecção por *S. suis*, sem contato prévio com suínos infectados ou produtos derivados de suínos.

As vias de eliminação são as secreções oronasais (principalmente) e uterina, conteúdo vaginal e fezes. A espécie pode sobreviver em tecidos ou fluidos de suínos por dez dias a 4°C; nas fezes por 104 dias a 0°C, dez dias a 9°C e oito dias a 25°C; na poeira por 54 dias a 0°C e 25 dias a 9°C. O agente é destruído pela maioria dos desinfetantes, embora resista ao álcool 70,00% (CLIFTON-HADLEY E ENRIGHT, 1984; SOBESTIANSKI et al., 2001).

Os sorotipos de 1 a 8 são os mais prevalentes em casos clínicos. O sorotipo 2 tem sido, ao longo dos anos, o mais frequentemente isolado de animais doentes na grande maioria dos países e considerado o sorotipo de maior caráter zoonótico, sendo o mais comumente descrito como causador de doença sistêmica em humanos (TOUIL et al., 1988; HIGGINS et al., 1990; GALINA et al., 1992; HIGGINS et al., 1992; HIGGINS E GOTTSCHALK, 1993; KATAOKA et al., 1993; SALASIA E LAMMLER, 1995; KATSUMI et al., 1997,

MESSIER et al., 2008; WEI et al., 2009). Somente os países escandinavos, mais precisamente a Finlândia, descrevem uma maior prevalência do sorotipo 7 em relação ao sorotipo 2. Esses dois sorotipos constituem 75,00% dos isolados da Dinamarca (BOETNER et al., 1987; SIHVONEN et al., 1988; AARESTRUP et al., 1998a). Embora o sorotipo 2 predomine na maioria dos países, sua prevalência varia de acordo com a região geográfica. A prevalência do sorotipo 2, na Europa e Ásia, é de até duas vezes sua prevalência no Canadá e Estados Unidos (WISSELINK et al., 2000; MESSIER et al., 2008; FITTIPALDI et al., 2009; WEI et al., 2009). Estudos recentes sugerem uma queda na prevalência do sorotipo 2 (HIGGINS E GOTTSCHALK, 2001), ao longo dos anos, e o surgimento de outros sorotipos como os mais prevalentes em alguns países: sorotipo 9 na Bélgica, Alemanha, Holanda e Espanha (WISSELINK et al., 2000; VELA et al., 2003); sorotipos 1 e 14 no Reino Unido (WISSELINK et al., 2000); sorotipo 3 nos Estados Unidos (FITTIALDI et al., 2009). Outros sorotipos menos frequentes já foram também relacionados a quadros clínicos infecciosos em diversos países: sorotipos 1/2, 3, 4, 8, 17, 19 e 21 no Canadá (GOTTSCHALK et al., 1993a); sorotipos 1/2, 1, 3, 4, 7, 8 e 9 na Itália (SALA et al., 1996); 1/2, 3, 4, 7, 8 e 14 no Reino Unido (MACLENNAM et al., 1996); sorotipos 1/2, 3, 8, 9 e 14 na Espanha (LUQUE et al., 1998a); sorotipos 3, 4, 7 e 9 na Alemanha (WISSELINK et al., 2000) e sorotipo 9 na Holanda e França (JACOBS et al., 1995). Quadros severos de infecção foram associados aos sorotipos 5, 7, 9 e 14 (HEATH et al., 1996; CLOUTIER et al., 2003; TIAN et al., 2004; HIGGINS E GOTTSCHALK, 2005).

No Brasil, o *S. suis* já foi identificado em 13 Estados: Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul, Pernambuco, Distrito Federal, Espírito Santo e Goiás (DEL'ARCO et al., 2008). O sorotipo 2 provou ser o mais prevalente em todos os estudos realizados envolvendo animais doentes (MADUREIRA JÚNIOR E SONCINI, 1999; SANTOS et al., 1999; PAGNANI et al., 2002; DEL'ARCO et al., 2008). No país, os sorotipos 1/2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 14 também já foram isolados de amostras provenientes de casos clínicos (PAGNANI et al., 2002; COSTA et al., 2005; DEL'ARCO et al., 2008). O isolamento dos sorotipos 1, 4 e 14 torna-se importante uma vez que esses sorotipos já foram descritos como agentes etiológicos de meningite e outras infecções em humanos (ARENDS E ZANEN, 1988; VILAICHONE et al., 2000; HALESIS et al., 2009).

A distribuição de sorotipos parece ser diferente entre animais doentes e portadores assintomáticos. Os sorotipos 17, 18, 19, 21 e 22 parecem ser frequentemente recuperados de animais sadios (GOTTSCHALK et al., 1991a; FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1998; MAROIS et al., 2007) enquanto diversos estudos demonstram que o sorotipo 2 é bem menos frequente nesses animais, muitas vezes, apresentando uma prevalência de 0,00% (GOTTSCHALK et al., 1991a; FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1996a; AMASS et al., 1998; BAELE et al., 2001; HAN et al., 2001; MAROIS et al., 2007; XIONG et al., 2007; ZHANG et al., 2009).

2.1.2.4 Patogenia da infecção

A patogenia da infecção causada pelo *S. suis* é extremamente complexa e está longe de ser completamente elucidada. Conforme mencionado anteriormente, as possíveis portas de entrada do microrganismo são a via respiratória e a digestiva, ocorrendo colonização e multiplicação primária nas tonsilas palatinas e/ou faríngeas e linfonodos mesentéricos, respectivamente. A disseminação pode ocorrer através da corrente sanguínea ou sistema linfático (MADSEN et al., 2002).

A patogenicidade do agente varia de acordo com o sorotipo e entre as linhagens de um mesmo sorotipo (GOTTSCHALK et al., 2007). Norton et al. (1999) demonstraram que linhagens suilisina positivas são citotóxicas para as células epiteliais humanas, característica confirmada por Lalonde et al. (2000). Portanto, os autores sugerem que as linhagens hemolisina positivas produzam a suilisina, a qual é tóxica para as células epiteliais das tonsilas e dos linfonodos mesentéricos, levando à lise celular e alcançando a circulação sanguínea. As linhagens hemolisina negativas parecem alcançar a corrente sanguínea através de um processo denominado de “uptake por macrófagos”, no qual os macrófagos fagocitam o microrganismo e o levam para a corrente sanguínea em seu interior (WILLIAMS E BLACKMORE, 1990; BUSQUE et al., 1998).

Uma vez alcançada a circulação sanguínea, a evolução mais comum em animais jovens é uma septicemia aguda terminal e fatal. Nos animais mais velhos, o microrganismo pode se instalar nas articulações, endocárdio, olhos, meninges e outros tecidos (SOBESTIANSKI et al., 2001). A primeira teoria desenvolvida sugere que o *S. suis* seja carregado para o

sistema nervoso central (SNC), articulações e cavidades serosas, dentro de células mononucleares (SANFORD E HIGGINS, 1992). Algumas linhagens parecem se comportar como bactérias extracelulares e caminhar de forma livre na circulação sanguínea (GOTTSCHALK E SEGURA, 2000). Segura et al. (1999) sugerem ainda a possibilidade de disseminação do microrganismo através de sua aderência a fagócitos sem que ocorra fagocitose.

Estudos recentes (CHABOT-ROY et al., 2006; BENGA et al., 2008) confirmam que o *S. suis* se dissemina preferencialmente de forma extracelular, livre na corrente sanguínea ou aderido aos fagócitos. Embora linhagens acapsulares e capsulares sejam fagocitadas, o índice de internalização de linhagens capsulares é muito menor, não sendo suficiente para impedir a infecção. Os autores confirmam ainda que tanto a capsula quanto a suilisina são fatores de resistência a fagocitose, mesmo após opsonização por mediadores do complemento.

Segundo Charland et al. (2000), o *S. suis* é capaz de se aderir às células endoteliais humanas da BHE e causar danos as mesmas através da liberação de citotoxinas, assim como demonstrado anteriormente em células epiteliais (NORTON et al., 1999; LALONDE et al., 2000). Portanto, as linhagens suilisina positivas parecem ultrapassar a BHE através da liberação da suilisina e consequente lise das células endoteliais da BHE. A liberação desse fator citotóxico parece promover o aumento da permeabilidade da BHE, com consequente edema cerebral, aumento da pressão intracraniana e bloqueio do fluxo sanguíneo; alterações características de meningite (GOTTSCHALK E SEGURA, 2000).

A capacidade do *S. suis* em estimular a liberação de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias por células mononucleares e células endoteliais da BHE já foi previamente demonstrada (SEGURA et al., 1999; SEGURA et al., 2002; VADEBONCOEUR et al., 2003). Gottschalk e Segura (2000) sugerem diferentes mecanismos possíveis para que linhagens suilisina negativas consigam ultrapassar a BHE, dependendo da sua forma de disseminação pela circulação sanguínea. As linhagens disseminadas livres como bactérias extracelulares e hemolisina negativas parecem ultrapassar a BHE através de dois mecanismos: (1) aderência as células endoteliais da BHE com consequente alteração das junções intercelulares; (2) aderência as células endoteliais da BHE com consequente indução da liberação de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias pelas próprias células da

BHE. Essas substâncias regulariam positivamente a expressão de moléculas de adesão, às quais os leucócitos se aderem para penetrarem na BHE, abrindo as portas para passagem do microrganismo para o SNC. As linhagens disseminadas no interior ou aderidas à superfície dos monócitos, estimulariam a liberação das citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias pelos próprios monócitos, os quais se ligariam as moléculas de adesão positivamente reguladas para penetrar na BHE carreando consigo o *S. suis* em seu interior ou aderido à sua superfície, processos denominados de *Trojan Horse* e *Modified Trojan Horse*, respectivamente.

Vanier et al. (2009) sugerem que o *S. suis* possa induzir uma exacerbada liberação de mediadores inflamatórios por células endoteliais suínas promovendo um elevado recrutamento de leucócitos e subsequente quebra da BHE. Os autores sugerem ainda que o *S. suis* possa modular essa resposta através da degradação da interleucina-8, a qual deve reduzir o recrutamento dos neutrófilos para o sítio de inflamação, permitindo ao agente sobreviver no SNC.

Estudos investigando a capacidade do *S. suis* de invadir células epiteliais e endoteliais vêm sendo maciçamente conduzidos, porém, com resultados contraditórios. Em relação às células epiteliais, Norton et al. (1999) demonstraram que linhagens de *S. suis* produtoras de suilisina são capazes de invadir células epiteliais humanas, independentemente da produção de suilisina, enquanto que Lalonde et al. (2000) relataram que o agente, através das linhagens testadas, foi capaz somente de se aderir e não de invadir diversas linhagens de células epiteliais humana e de diferentes espécies animais. Linhagens de *S. suis* falharam quanto à invasão de células endoteliais humanas, em estudo conduzido por Charland et al. (2000). O primeiro experimento realizado com células endoteliais derivadas de suínos foi conduzido por Vanier et al. (2004). Os autores, pela primeira vez, demonstraram que linhagens capsulares, acapsulares, produtoras e não produtoras de suilisina foram capazes de invadir células endoteliais. Contraditoriamente, Benga et al. (2005), em estudo também realizado com células suínas, obtiveram resultado negativo quanto à invasão de células endoteliais por linhagens de *S. suis*. Os autores relataram apenas uma pequena invasão de uma única linhagem, dentre todas testadas, pertencente ao grupo não sorotipável.

A regulação da produção da cápsula bacteriana de acordo com o estágio da infecção já foi sugerida anteriormente para outros patógenos (ST. GEME E CUTTER, 1996). A

presença da cápsula parece contribuir para a sobrevivência extracelular do *S. suis* (BENGA et al., 2008) e esconder parcialmente suas adesinas, estruturas necessárias para a colonização e posterior invasão do patógeno (TIKKANEN et al., 1996). Uma vez demonstrado que a expressão da cápsula pode variar de acordo com as condições de crescimento (GOTTSCHALK et al., 1993b), autores sugerem que a produção do material capsular possa ser negativamente regulada durante a etapa de colonização e positivamente regulada durante a disseminação do agente pela corrente sanguínea, o protegendo contra o sistema imune do hospedeiro (GOTTSCHALK E SEGURA, 2000). Porém, até o presente momento, não há evidências diretas da regulação da produção de material capsular pelo *S. suis* em relação ao estágio da infecção.

A multiplicação do *S. suis* livre no sistema nervoso central associada ao aumento da migração de leucócitos e a co-migração do microrganismo acarreta uma inflamação local, levando ao quadro clínico característico de meningite (GOTTSCHALK E SEGURA, 2000). Dominguez-Punaro et al. (2010) relatam que a inflamação sistêmica e cerebral provocada por linhagens de *S. suis* tipo 2 é bem severa.

Recentemente, foi demonstrado que o *S. suis* afeta também a integridade das células epiteliais do plexo coróide (CPEC), outro constituinte da BHE, facilitando sua invasão ao SNC. Embora a apoptose possa estar envolvida no processo de morte das CPEC, a necrose parece ser o mecanismo predominante (TENENBAUM et al., 2006).

2.1.2.5 Manifestações clínicas

O *S. suis* provoca um amplo espectro de doenças graves nos animais. Septicemia e artrite são as manifestações mais comuns em animais lactentes, enquanto que a meningite é a manifestação clínica mais comum em animais desmamados. A infecção, nos suínos, caracteriza-se ainda por pneumonia, endocardite e, ocasionalmente, endometrite, abortamento, rinite e vaginite. Na verdade, a importância do *S. suis* como agente primário de pneumonia é controversa. Diversos estudos demonstraram préexistência ou coexistência de outros patógenos pulmonares nos casos de pneumonia estudados (GALINA et al., 1992; HIGGINS et al., 1992; REAMS et al., 1994; REAMS et al., 1995). Os animais infectados apresentam, inicialmente, apatia, anorexia, febre, hiperemia de pele, cerdas arrepiadas,

orelhas constantemente retraídas junto à cabeça, curto período de diarreia e ocasionalmente vômito (HIGGINS et al., 1990; SANFORD E HIGGINS, 1992; LUQUE et al., 1998a; SOBESTIANSKI et al., 2001). Os casos de meningite progridem com tremores musculares, incordenação motora, perda de equilíbrio, decúbito lateral com movimento de pedalagem, opistótono, convulsões e morte. Os animais apresentam frequentemente otite interna como sequela dos casos de meningite que não evoluem ao óbito (MADSEN et al., 2001). Os casos de artrite cursam com dor à palpação, claudicação e aumento de volume na articulação afetada, enquanto que os casos de septicemia neonatal e endocardite levam, geralmente, à morte súbita (HIGGINS et al., 1990; SANFORD E HIGGINS, 1992; LUQUE et al., 1998a; SOBESTIANSKI et al., 2001).

Diversos estudos foram conduzidos no sentido de tentar relacionar a infecção pelos diversos sorotipos e fenótipos dentro de um mesmo sorotipo com os sinais clínicos apresentados e a idade dos animais acometidos. No entanto, os resultados são inconclusivos. Vela et al. (2003) conseguiram relacionar estatisticamente os sorotipos 7 e 9 a casos de meningite e o sorotipo 3 a casos de pneumonia. O sorotipo 3 também foi relacionado a casos de pneumonia em estudo conduzido por Wei et al. (2009). Os autores relacionaram ainda o sorotipo 2 a casos de infecções sistêmicas. Contraditoriamente, Aarestrup et al. (1998a) obtiveram um isolamento significativamente maior do sorotipo 7 a partir de casos de pneumonia e do sorotipo 2 a partir de animais acometidos com menos de quatro semanas de idade. Wisselink et al. (2000) obtiveram animais de três semanas de idade prioritariamente infectados pelo sorotipo 1 e animais de seis a oito semanas de idade infectados pelos sorotipos 2, 7, 9 e 14. No entanto, outros estudos semelhantes não conseguiram obter uma relação estatisticamente significativa entre os sorotipos e/ou fenótipos, doença clínica e idade dos animais acometidos (GALINA et al., 1992; REAMS et al., 1994)

2.1.2.6 Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo pode ser baseado no histórico, sintomatologia e achados necroscópicos macroscópicos. O diagnóstico definitivo se baseia no isolamento e identificação do agente e lesões microscópicas dos tecidos (SOBESTIANSKI et al., 2001).

O isolamento do agente dos pulmões deve ser interpretado com cautela uma vez que o organismo está constantemente presente no trato respiratório superior dos animais (HIGGINS E GOTTSCHALK, 2005).

A identificação de linhagens recuperadas de animais doentes é possível através de poucas provas bioquímicas: presença de alfa hemólise em ágar sangue, ausência de crescimento em caldo contendo 6,50% de cloreto de sódio, teste VP (Voges-Proskauer) negativo e produção de amilase positiva (LUQUE et al., 1998a).

Diversos laboratórios sugerem o uso de kits comerciais multi-testes como o API Strep System Test (Bio Mérieux, França) tanto para a identificação da espécie *S. suis* quanto para a diferenciação do biotipo 1 e biotipo 2, com base na fermentação de alguns açúcares. No entanto, linhagens podem ser erroneamente diagnosticadas quando da utilização desses kits comerciais, assim como, a classificação de *S. suis* biotipo 1 e 2 com base nesses kits é inapropriada (GOTTSCHALK et al., 1991a). Gottschalk et al. (1991a) relataram que 46,00% das linhagens estudadas pertencentes aos sorotipos 1 a 22 não puderam ser corretamente identificadas como *S. suis* através desses kits. Além disso, biotipo não é o mesmo que sorotipo e, até hoje, nenhum padrão bioquímico pôde ser associado a um sorotipo específico (PERCH et al., 1983; GOTTSCHALK et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991b; HIGGINS et al., 1995).

Múltiplos sorotipos podem ser isolados de animais doentes dentro de um mesmo rebanho (HIGGINS E GOTTSCHALK, 2005). Técnicas de isolamento sorotipo específicas foram desenvolvidas, como a utilização de meios seletivos e diferenciais (KATAOKA et al., 1991) e isolamento imunomagnético (GOTTSCHALK et al., 1999). No entanto, essas técnicas se limitam ao isolamento do sorotipo 2 e 1/2, não havendo diferenciação entre os dois sorotipos. Até o presente momento, não existem provas sorológicas de confiança. As principais desvantagens apresentadas por essas técnicas são a capacidade de detecção de um número muito reduzido de sorotipos e a incapacidade de diferenciação entre os sorotipos 2 e 1/2, uma vez que esses sorotipos compartilham antígenos comuns (ELLIOTT E TAI, 1978; PERCH et al., 1983; SERHIR et al., 1993; SEPÚLVEDA et al., 1996; YANG et al., 2007; JU et al., 2010).

Recentemente, técnicas de biologia molecular foram desenvolvidas. A PCR é uma técnica rápida, sensível e específica capaz de detectar linhagens de *S. suis* e identificar

especificamente alguns sorotipos provenientes de animais doentes, animais portadores sadios e humanos, com objetivo de diagnóstico clínico ou estudos epidemiológicos. Técnicas de monoplex PCR, baseadas na sequência dos genes capsulares tipo específicos, foram desenvolvidas para detectar especificamente os sorotipos 2 (e 1/2), 1 (e 14), 7 e 9 (SMITH et al., 1999a; SMITH et al., 1999b). Mais tarde, Wisselink et al. (2002a) desenvolveram um protocolo de multiplex PCR para a detecção simultânea dos sorotipos anteriormente citados. A possibilidade de detecção de linhagens patogênicas de *S. suis* sorotipo 2 e sorotipo 1, através da técnica de PCR, baseada no gene *epf* codificador da proteína fator extracelular, já foi também descrita (WISSELINK et al., 1999). Okwumabua et al. (2003) desenvolveram um multiplex PCR baseado no gene *gdh* codificador da enzima glutamato desidrogenase, permitindo a amplificação de todos os sorotipos da espécie *S. suis* e baseado também nos genes *cps* específicos para o sorotipo 2 (e 1/2), 1 (e 14), 7 e 9, permitindo a detecção direta de linhagens pertencentes a esses sorotipos. No entanto, esse método foi aplicado para detectar linhagens de *S. suis* provenientes de culturas puras. Multiplex PCR capaz de amplificar linhagens de todos os sorotipos e detectar simultaneamente linhagens sorotipo 2 (e 1/2) a partir de amostras de tonsilas de animais vivos ou mortos, sem a necessidade de cultura prévia, foi desenvolvido por Marois et al. (2004). Outros métodos de biologia molecular têm sido utilizados para o estudo da diversidade genética do *S. suis*, da relação genética entre linhagens isoladas de animais e humanos e patogenicidade de clones particulares (LUN et al., 2007).

Mesmo com todo o avanço dos métodos diagnósticos com o surgimento da biologia molecular, a sorotipificação das linhagens de *S. suis* continua sendo uma etapa fundamental do diagnóstico de rotina, uma vez que as técnicas de sorotipificação são as únicas capazes de distinguir todos os sorotipos já identificados do agente. Apesar da existência de diferentes técnicas, a técnica de coaglutinação é a mais difundida técnica de sorotipificação das linhagens de *S. suis*. A utilização de reagentes polivalentes, seguida pela utilização de reagentes monovalentes, torna a técnica mais rápida, permitindo a sorotipificação de um grande número de linhagens em um curto período de tempo (FLORES et al., 1993; GOTTSCHALK et al., 1993a). No entanto, estudos já demonstraram reação cruzada entre alguns sorotipos e a existência de reações inespecíficas (GOTTSCHALK et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991a). Gottschalk et al. (1989) sugerem que reações fracamente

positivas e múltiplas reações positivas de uma mesma linhagem devam ser confirmadas através do teste de reação capsular ou do teste de precipitação capilar. Além disso, o preparo dos reagentes e as condições de cultura são pontos críticos para a realização da tipificação capsular (HIGGINS E GOTTSCHALK, 1990). Higgins et al. (1995) sugerem, portanto, que os laboratórios de diagnóstico devam realizar a sorotipificação do agente através da utilização de reagentes para a identificação dos sorotipos de 1 a 8 e que as linhagens não sorotipáveis devam ser enviadas a um laboratório de referência.

O isolamento e identificação de linhagens provenientes de animais portadores sadios é uma tarefa mais complicada. A maioria dos animais alberga *S. suis* em suas tonsilas e cavidades nasais. Múltiplos sorotipos e linhagens não sorotipáveis podem estar presentes no mesmo animal (FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1996a). O maior empecilho com a utilização de técnicas bacteriológicas é a dificuldade de isolar e localizar as possíveis colônias de *S. suis* em amostras naturalmente multi-infectadas como as tonsilas e cavidades nasais. No caso de amostras provenientes de animais doentes, a linhagem patogênica geralmente cresce de forma abundante nos meios de cultivo, facilitando seu isolamento e identificação. Portanto, a detecção de suínos portadores sadios requer a utilização de técnicas de biologia molecular, como a PCR (OKWUMABUA et al., 2003; MAROIS et al., 2007).

A infecção por *S. suis* em humanos provavelmente é sub-diagnosticada, sendo o agente erroneamente identificado como outro agente de aparência colonial similar. Embora a espécie *S. suis* se desenvolva nos meios de cultura normalmente utilizados para o cultivo bacteriano nos casos de meningite, diversos laboratórios de diagnóstico humano não possuem conhecimento sobre o *S. suis*, o qual é frequentemente diagnosticado como enterococos, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus bovis*, estreptococos do grupo *viridans* ou mesmo *Listeria monocytogenes* (LÜTTICKEN et al., 1986; MICHAUD et al., 1996).

Segundo Sobestianski et al. (2001) deve-se realizar diagnóstico diferencial para Doença de Teschem-Talfan (Paresia Enzoótica Benigna); Doença de Aujeszky; Doença do Edema; Listeriose; Doença do coração em amora; infecções por *Haemophilus parasuis*; infecções por *Erysipelothrix rhusiopathiae*; infecções por *Actinobacillus suis*; intoxicação por cloreto de sódio; infecções por *Mycoplasma hyosynoviae* e *Mycoplasma hyorhinis*.

2.1.2.7 Tratamento da infecção

O tratamento antimicrobiano, geralmente, tem efeito quando instituído no início dos sintomas. Durante anos, o tratamento de escolha para animais apresentando sintomatologia foi penicilina e ampicilina injetáveis (SANFORD E ROSS, 1986). Outros agentes antimicrobianos muito utilizados para o tratamento e prevenção das infecções por *S. suis* são amoxicilina, cefalosporinas, florfenicol, quinolonas e a combinação sulfa-trimetoprim. Estudos sugerem fortemente que a inflamação desempenhe um papel significativo na patogenia da infecção (DOMÍNGUEZ-PUNARO et al., 2007; GOTTSCHALK et al., 2007). Recomenda-se, portanto, a administração de analgésico e anti-inflamatório juntamente com o antimicrobiano e a medicação dos companheiros de baia ou mesmo do lote inteiro (SOBESTIANSKI et al., 2001). Tenenbaum et al (2008) demonstraram, *in vitro*, que a dexametasona previne a degradação das células epiteliais do plexo coróide, dificultando a invasão do *S. suis* no SNC.

Casos de resistência a diversos antimicrobianos têm sido relatados (TURGEON et al., 1994; WASTESON et al., 1994; AARESTRUP et al., 1998a; AARESTRUP et al., 1998b). Diferença no grau de resistência tem sido observada entre diferentes países, sorotipos e ao longo dos anos (AARESTRUP et al., 1998a; AARESTRUP et al., 1998b; Marie et al., 2002).

Em estudo realizado por Wisselink et al. (2006), a respeito da susceptibilidade a antimicrobianos de linhagens de *S. suis* isoladas de suínos doentes provenientes de sete países europeus, todas as linhagens mostraram-se sensíveis ao ceftiofur, enrofloxacino, florfenicol e penicilina; poucas linhagens (1,30%) mostraram-se resistentes à gentamicina e os índices de resistência à tetraciclina variaram de 25,00% a 85,00% dependendo do sorotipo da linhagem. Outros estudos, no entanto, demonstraram altas taxas de resistência à penicilina (TARRADAS et al., 1994; SEOL et al., 1996). Vela et al. (2005), em estudo conduzido com linhagens de *S. suis* provenientes de suínos doentes na Espanha, obtiveram 87,00% das linhagens resistentes a quatro ou mais antimicrobianos, além de mais de 87,00% de resistência à tetraciclina.

Recentemente no Brasil, Salvarani et al. (2008), avaliando a susceptibilidade de 75 linhagens de *S. suis* provenientes de animais com sintomatologia de meningoencefalite

contra oito antimicrobianos, demonstraram altos índices de resistência à ampicilina (24,00%), penicilina (21,30%), tetraciclina (14,70%), lincomicina (10,70%) e ao ceftiofur (20,00%).

Estudos a respeito da susceptibilidade aos antimicrobianos de linhagens de *S. suis* provenientes de animais sadios também têm sido realizados (BOSCO et al., 2000; HAN et al., 2001; MARIE et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2008; ZHANG et al., 2008; ZHANH et al., 2009).

O crescente aumento na resistência dos patógenos aos antimicrobianos e a ausência de vacinas realmente eficazes fazem com que a terapia antiadesão seja uma ferramenta promissora na luta contra esses agentes. Toivanen et al. (2010) relatam que a amora silvestre (*Vaccinium oxycoccos* L.) inibe efetivamente a hemaglutinação induzida por linhagens de *S. suis*.

2.1.2.8 Controle e profilaxia da infecção

As medidas de controle visam reduzir a prevalência do agente nos animais e nas granjas e, conseqüentemente, proteger os próprios animais e os seres humanos da infecção pelo *S. suis*. Em relação aos animais, a medicação em massa em períodos estratégicos, de maior probabilidade de ocorrência de surtos é o mais indicado para o controle das infecções. Medidas de manejo que minimizem os fatores predisponentes devem ser também estabelecidas assim como medidas de controle dos vetores (ACHA E SZYFRES, 2003).

A erradicação do *S. suis* de uma granja e a eliminação do estado de portador dos animais são consideradas, pela grande maioria dos autores, como medidas impossíveis. Tentativas de eliminar o agente dos animais através do desmame precoce falharam, uma vez que os leitões podem ser colonizados logo após o nascimento ou mesmo durante o parto (AMASS et al., 1996a; AMASS et al., 1997). Segundo Amass et al. (1996c), a antimicrobianoterapia preventiva, sozinha ou em associação com o desmame precoce, é eficaz para impedir ou minimizar os sinais clínicos, porém não elimina o estado de portador dos animais. Contraditoriamente, em estudo recente, Swildens et al. (2007) sugerem que o *S. suis* possa ser eliminado das tonsilas de matrizes portadoras, através de medicação combinada com vacinação, permitindo o desmame de leitões livres do agente. A cesariana é

outro método capaz de produzir leitões livres do agente, porém, não economicamente viável (AMASS et al., 1996b). No entanto, a obtenção de leitões livres do agente não é sinônimo de um rebanho livre do agente, uma vez que o *S. suis* pode estar presente no ambiente e colonizar os leitões livres, após a cesariana ou o desmame (ROBERTSON et al., 1991; MAROIS et al., 2007). Swildens et al. (2005) descreveram uma técnica de PCR capaz de detectar linhagens sorotipo 2 FE-positivas a partir de amostras de suabes de tonsilas de animais vivos portadores sadios. Segundo os autores, através da utilização dessa técnica, programas de erradicação e certificação de granjas livres de linhagens *S. suis* sorotipo 2 FE-positivas podem ser implantados.

O controle da doença através do uso de vacinas tem sido, geralmente, ineficaz. A diversidade de sorotipos virulentos, a diferença de virulência entre os sorotipos e entre linhagens de um mesmo sorotipo, a ausência de proteção cruzada entre os sorotipos e o pouco conhecimento acerca dos fatores de virulência e fisiopatologia do agente são fatores que dificultam o desenvolvimento de vacinas contra o *S. suis* (GOTTSCHALK E SEGURA, 2000).

Diversos estudos vêm sendo conduzidos sobre o uso de vacinas vivas atenuadas, vacinas inativadas, vacinas de subunidade, vacinas autógenas e imunização passiva. Autores relatam proteção incompleta com vacinas inativadas, vacinas vivas atenuadas, as vacinas comerciais disponíveis e vacinas autógenas, com a necessidade de repetidas imunizações e/ou com eficácia sorotipo ou linhagem dependente (HOLT et al., 1989; BROWN et al., 1997; BUSQUE et al., 1997; WISSELINK et al., 2002b). Torremorell et al. (1999) demonstraram redução da sintomatologia clínica causada pela infecção por *S. suis* com a exposição de suínos jovens a linhagens vivas virulentas. As vacinas baseadas em material capsular não promoveram resultados satisfatórios, uma vez que os polissacarídeos capsulares são pouco imunogênicos (ELLIOTT et al., 1980). Diversos experimentos têm se baseado no desenvolvimento de vacinas de subunidade, utilizando antígenos protéicos do *S. suis*, como a suilisina (JACOBS et al., 1996) e as proteínas MRP e FE (WISSELINK et al., 2001). No entanto, a utilização dessas vacinas é dificultada devido a um substancial número de linhagens virulentas, em algumas regiões geográficas, não expressarem essas proteínas (GALINA et al., 1996; GOTTSCHALK et al., 1998; OKWUMABUA et al., 1999). No momento, há uma busca incessante por outros antígenos do agente capazes de promover

real proteção aos animais (LI et al., 2006; LI et al., 2007; GENG et al., 2008; FENG et al., 2009. ZHANG et al., 2009; CHEN et al., 2010; GARIBALDI et al., 2010). No Brasil, um único experimento foi desenvolvido por Salgado et al. (2003). Os autores, ao avaliarem uma bacterina autógena contra a meningite estreptocócica em suínos, demonstraram uma eficácia de 87,50%.

Schmitt et al. (2001) analisaram a influência do tratamento antimicrobiano e vacinal na redução da mortalidade em casos de coinfeção pelo vírus da Síndrome Reprodutiva e Respiratória dos Suínos (PRRS) e pelo *S. suis*. Os autores utilizaram, em grupos diferentes de animais, como tratamento antimicrobiano, as substâncias ceftiofur e ampicilina, além de vacina comercial viva atenuada contra o vírus da PRRS e exposição dos animais à dose controlada de *S. suis*. Os tratamentos com ceftiofur e exposição dos animais à dose controlada de *S. suis* foram os únicos capazes de reduzir significativamente a mortalidade dos animais. Resultados semelhantes foram obtidos por Halbur et al. (2000).

2.1.2.9 Aspectos em saúde pública

As infecções por *S. suis* em seres humanos vêm sendo consideradas como casos esporádicos, ao longo dos anos. No entanto, atualmente, a espécie é considerada a causa mais frequente de meningite bacteriana entre adultos, no Vietnã (MAI et al., 2008). A doença é uma zoonose ocupacional que corre com maior frequência em países com intensa atividade suinícola e alto consumo de carne de porco, sendo o agente potencialmente perigoso para indivíduos que trabalham diretamente com suínos ou no processamento industrial e comercialização de seus produtos e subprodutos (BUNGNER E BIALEK, 1989; WATKINS et al., 2001).

Os primeiros casos de infecção por *S. suis* em seres humanos foram descritos em 1968, na Dinamarca (PERCH et al., 1968). A partir de então, casos vêm sendo descritos ao redor do mundo (SHNEERSON et al., 1980; ROBERTSON E BLACKMORE, 1989; TARRADAS et al., 2001; KOPIC et al., 2002; MARIE et al., 2002; STRANGMANN et al., 2002; HEIDT et al., 2005; MAZOKOPAKIS et al., 2005; YANG et al., 2005; CHANG et al., 2006; WANGKAEW et al., 2006; CAMPORESE et al., 2007; MARGARET et al., 2007; KENNEDY et al., 2008; LEE et al., 2008; MANZIN et al., 2008; NAGEL et al.,

2008; NGHIA et al., 2008; POGGENBORG et al., 2008; RAO et al., 2008; TAIPA et al., 2008; TRAMONTANA, 2008; VAN DE BEEK et al., 2008; YE et al., 2008; HALEISIS et al., 2009). Em julho de 2005, ocorreu o terceiro surto de infecção humana por *S. suis* tipo 2 na China. Nesse país, nos últimos oito anos, pelo menos 237 pessoas foram infectadas por esse agente, das quais 53 vieram a óbito (LUN et al., 2007).

Funcionários de granjas e abatedouros, pessoas que transportam suínos e carne de porco, açougueiros, veterinários, donas de casa e caçadores de javali constituem os principais grupos de risco (WALSH et al., 1992; HUANG et al., 2005; TANG et al., 2006; MA et al., 2008; RAO et al., 2008). Strangmann et al. (2002), em estudo conduzido na Alemanha, obtiveram 5,30% dos magarefes portadores de *S. suis* tipo 2 enquanto que o agente não foi identificado em amostras de tonsilas de indivíduos sem contato prévio com suínos ou carne de porco. Outros estudos confirmaram o isolamento de *S. suis* a partir de amostras de tonsilas de magarefes (SALA et al., 1989; ROJAS et al., 2001). Estudo sorológico recente nos Estados Unidos demonstrou títulos mais elevados de anticorpos contra *S. suis* em indivíduos previamente expostos a suínos (SMITH et al., 2008). Resultados semelhantes já haviam sido relatados por Robertson e Blackmore (1989). Baums et al. (2007) demonstraram que a prevalência de *S. suis* tipo 2 em javalis (11,00%) é semelhante à encontrada em suínos domésticos (14,00%), confirmando a importância dos javalis como fonte de infecção para caçadores (ROSENKRANZ et al., 2003).

Como citado anteriormente, a epidemiologia das infecções por *S. suis* é complexa. Autores relatam casos de infecção por *S. suis* em indivíduos sem ocupação ou contato ocasional com suínos ou outros animais e sem histórico de alimentação por carne de porco crua ou mal cozida (HIDALGO et al., 2007; MANZIN et al., 2008). Ishigaki et al. (2009) descreveram um caso de endocardite provavelmente transmitida por um bovino.

Acredita-se que a infecção, no homem, ocorra pelas vias percutânea, através de cortes, arranhaduras e abrasões, respiratória e digestiva (ARENDS E ZANEN, 1988). O período de incubação varia de horas a dois dias (FONGCOM et al., 2001) e a taxa de mortalidade de menos de 3,00% a 26,00% (LUN et al., 2007; WERTHEIM et al., 2009). A última via de infecção parece ser a mais importante para os indivíduos sem contato com a cadeia produtiva de suínos. Cheung et al. (2008) demonstraram a presença de *S. suis* em 78 das 79

amostras de carne de porco analisadas provenientes de três diferentes estabelecimentos comerciais em Hong Kong.

A principal manifestação clínica da infecção por *S. suis* em humanos é uma meningite purulenta, podendo ocorrer ainda endocardite, peritonite, rabdomiólise, artrite, espondilodiscite, pneumonia, uveíte, endoftalmite e síndrome do choque tóxico (MCLENDON et al., 1978; CHENG et al., 1987; PEETERMANS et al., 1989; HO et al., 1990; TROTTIER et al., 1991; WALSH et al., 1992; AREND et al., 1995; VILAICHONE et al., 2002; SUANKRATAY et al., 2004; HEIDT et al., 2005; HUANG et al., 2005; GOTTSCHALK et al., 2007; LUN et al., 2007; WERTHEIM et al., 2009). Estudos revelam que a esplenectomia e o alcoolismo são os dois principais fatores predisponentes para o desenvolvimento de doença grave em seres humanos (KOPIC et al., 2002; DE LA HOZ ADAME et al., 2005). Embora os fatores predisponentes tenham certa importância, não parecem ser essenciais para o desenvolvimento da doença, uma vez que diversos casos já foram relatados em indivíduos sem doença prévia que os predispussem a imunodepressão (CHANG et al., 2006; BAHLOUL et al., 2008; MA et al., 2008; NAGEL et al., 2008; RUSMEECHAN E SRIBUSARA, 2008; VAN DE BEEK et al., 2008).

O sorotipo 2 é mundialmente considerado como o de maior caráter zoonótico, sendo responsável pela grande maioria dos casos de meningite em humanos, além de diversas outras manifestações clínicas. O desenvolvimento de bacteremia e meningite, após a infecção, é rápido (ARENDS E ZANEN, 1988; DONSAKUL et al., 2003), embora possa ocorrer bacteremia maciça sem o desenvolvimento de meningite (BUNGNER E BIALEK, 1989).

As sequelas mais comuns da infecção meníngea são o comprometimento coclear-vestibular, resultando em ataxia e tontura (DONSAKUL et al., 2003) e comprometimento do oitavo nervo craniano com consequente perda auditiva unilateral ou bilateral (SHNEERSON et al., 1980). Recentemente, Tan et al. (2010) descreveram o caso de uma chinesa de 70 anos de idade que desenvolveu perda auditiva bilateral como sequela de meningite por *S. suis*.

O sorotipo 14 tem sido descrito como o segundo maior causador de doenças em humanos, já tendo sido isolado de casos de meningite (HALESIS et al., 2009), espondilodiscite e bacteremia (POGGENBORG et al., 2008). Casos esporádicos por outros sorotipos foram relatados, como o sorotipo 1 (VILAICHONE et al., 2002), o sorotipo 4,

causando meningite (ARENDS E ZANEN, 1988) e o sorotipo 16, isolado de um paciente vietnamita com quadro de anorexia, dor abdominal, hepatoesplenomegalia, ascite e dificuldade respiratória (NGHIA et al., 2008). O sorotipo 27 foi isolado, pela primeira vez, de um humano sadio (ROJAS et al., 2001).

A inspeção veterinária de carcaças e da pasteurização do leite, o controle microbiológico dos alimentos e a educação em Saúde Pública dos manipuladores de alimentos, além do controle do agente nas granjas, são medidas importantes para prevenir a infecção humana. Como medidas gerais de controle e profilaxia: higiene pessoal e ambiental; cuidados com cortes, arranhaduras e abrasões na pele; evitar contato direto com animais, suas secreções e excrementos; uso de máscaras, luvas e roupas de proteção ao lidar com animais, seus produtos e subprodutos; não comprar carne de origem desconhecida; guardar separadamente alimentos crus e cozidos; tratar alimentos crus e cozidos com diferentes utensílios e cozimento adequado dos alimentos.

2.2 *Salmonella* spp

2.2.1 Histórico e etiologia

Salmonella spp pertence à família *Enterobacteriaceae* e tem como habitat natural o intestino de humanos e animais de sangue quente e frio, podendo sobreviver por longos períodos, até mesmo anos, no ambiente; solo, água e vegetais (EWING, 1986; LE MINOR, 1972). O gênero compreende bacilos Gram negativos à microscopia; geralmente móveis; anaeróbios facultativos; não formadores de esporos; catalase positivos; oxidase negativos; fermentadores da glicose geralmente com produção de gás e com crescimento favorecido por meios de enriquecimento seletivo (EWING, 1986; BRENNER, 1992; QUINN et al., 1994). Esses microrganismos conseguem se desenvolver a temperaturas entre 8°C e 45°C e pH na faixa de quatro a oito; resistem à desidratação por períodos prolongados tanto nas fezes como em alimentos e suportam bem o congelamento. No entanto, são bastante sensíveis à luz e à maioria dos desinfetantes (SOBESTIANSKI et al., 2001).

O gênero *Salmonella* é o mais complexo de toda a família, compreendendo mais de 2.400 sorotipos descritos no atual esquema de Kauffmann-White (POPOFF et al., 1998).

Os primeiros isolamentos de microrganismos pertencentes ao gênero foram realizados em 1884, por Gaffki (*Bacterium typhosum*) e em 1886, por Salmon e Smith (*S. choleraesuis*).

A nomenclatura e classificação do gênero sempre foi assunto de intensa discussão. Atualmente, este gênero é composto por duas espécies; *S. enterica* e *S. bongori* (subsp V) (REEVES et al., 1989). *S. enterica*, por sua vez, é subdividida em seis subespécies: *S. enterica* subsp *enterica* (subsp I); *S. enterica* subsp *salamae* (subsp II); *S. enterica* subsp *arizonae* (subsp IIIa); *S. enterica* subsp *diarizonae* (subsp IIIb); *S. enterica* subsp *houtenae* (subsp IV) e *S. enterica* subsp *indica* (subsp VI) (TINDALL et al., 2005). Cepas de *S. enterica* subsp *enterica* são as mais comumente isoladas de humanos e animais de sangue quente (CDC, 2004a). Essa espécie, finalmente reconhecida como uma legítima espécie do gênero *Salmonella*, em 2005 (TINDALL et al., 2005), compreende a maioria dos mais importantes sorotipos.

2.2.2 Epidemiologia

Os suínos podem sofrer infecção por uma grande variedade de sorotipos. Os sorotipos *S. Choleraesuis*, do qual os suínos são o principal reservatório, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Typhisuis* e *S. Dublin* são os mais frequentemente encontrados causando doença clínica nestes animais. Os sorotipos que não são espécie-específicos se difundem com facilidade entre as espécies animais e ao homem (SOBESTIANSKI et al., 2001; ACHA E SZYFRES, 2003).

A infecção por *Salmonella* spp ocorre mundialmente em todas as espécies animais, incluindo o homem, geralmente devido a condições precárias de higiene e manejo. A doença, nos suínos, acomete principalmente animais jovens de dois a quatro meses de idade, atingindo índices de morbidade e mortalidade de 13,00% a 15,00% e 4,00% a 6,00%, respectivamente. A taxa de mortalidade depende do sorotipo e espécie animal afetada, podendo chegar a 100,00%, em alguns casos. Os animais infectados são a fonte de infecção e a transmissão pode ocorrer de forma direta, de animal para animal, ou indireta, por meio de alimentos, água ou ambiente contaminados. Os insetos, particularmente as moscas, podem atuar como vetores em ambientes muito contaminados. Diversos fatores de risco relacionados ao animal, ao patógeno, ambiente e manejo predisõem a ocorrência da

salmonelose. Muitos desses fatores predisponentes são semelhantes aos descritos para infecções por *S. suis*, incluindo estresse; idade e estado imunológico dos animais; mistura de animais provenientes de diferentes propriedades; superlotação em sistema de confinamento e ocorrência de doenças intercorrentes como Peste Suína Clássica, infecção por *Ascaris suum* e deficiências nutricionais (SOBESTIANSKI et al., 2001; ACHA E SZYFRES, 2003).

As salmonelas são microrganismos intracelulares facultativos que sobrevivem no interior do fagolisossomo dos macrófagos, escapando da ação dos anticorpos e do sistema complemento, induzindo o estado de portador dos animais, importante característica da salmonelose. Existem três tipos de animais portadores: portador ativo, o qual elimina os microrganismos nas fezes de forma constante ou intermitente; portador latente, o qual não elimina os microrganismos nas fezes, porém, tem a infecção persistindo nos linfonodos e tonsilas e portador passivo, aquele que adquire constantemente a infecção do ambiente. A importância dos portadores latentes é a possibilidade de se tornarem portadores ativos ou mesmo casos clínicos, além de não serem prontamente identificados pela cultura fecal ou métodos sorológicos de diagnóstico (SOBESTIANSKI et al., 2001; ACHA E SZYFRES, 2003). A quantidade de microrganismos eliminada e a persistência da infecção dependem da dose infectante. O animal é capaz de eliminar facilmente baixas doses de *S. Choleraesuis*, por exemplo, porém, doses moderadas podem persistir, no mínimo, por dois meses no organismo do animal, enquanto altas doses podem resultar em um longo estado de portador (GRAY et al., 1996). A longa persistência do microrganismo geralmente é limitada às tonsilas palatinas, trato intestinal caudal ao jejuno médio e seus linfonodos (WOOD E ROSE, 1992).

2.2.3 Patogenia da infecção

As salmonelas possuem diversos fatores de virulência importantes para o desencadeamento da salmonelose. O lipopolissacarídeo da parede externa, pili, flagelos, citotoxinas e enterotoxinas são alguns desses fatores (MURRAY, 1986). Após a infecção oral, ocorre invasão da parede intestinal principalmente na região do íleo, evoluindo até os linfonodos mesentéricos. A partir desse ponto, o desencadeamento da doença depende de

fatores relacionados ao estado do animal, manejo e virulência das linhagens. A inflamação e necrose da mucosa intestinal provocam má absorção e aumento da permeabilidade intestinal, desenvolvendo quadro de diarreia. As lesões e sintomas de septicemia são consequentes à endotoxemia, que ocorre durante a disseminação bacteriana (SOBESTIANSKI et al., 2001).

2.2.4 Manifestações clínicas

A salmonelose, basicamente, pode ser descrita como três entidades clínicas: enterite aguda, enterite crônica e septicemia. A enterite aguda, caracterizada, principalmente, por febre alta e diarreia, é mais comumente observada em animais infectados por *S. Typhimurium*. Pneumonia e, ocasionalmente, encefalite podem acompanhar essa forma da doença. A forma septicêmica é geralmente observada em animais infectados por *S. Choleraesuis*. Os suínos acometidos por esse sorotipo apresentam manchas vermelho-escuras e roxas na pele, principalmente no abdome e orelhas, e hemorragias petequiais subcutâneas. Os sinais nervosos como tremor, fraqueza, paralisia e convulsão podem estar presentes. A proporção caso-fatalidade nessa forma clínica da doença geralmente é de 100,00%. A *S. Choleraesuis* pode ainda provocar uma broncopneumonia semelhante à pasteurelose e uma pleuropneumonia semelhante à infecção pelo *Actinobacillus pleuropneumoniae* (SOBESTIANSKI et al., 2001).

2.2.5 Diagnóstico

O isolamento e identificação do agente são necessários para um diagnóstico definitivo. Testes sorológicos, quando disponíveis, podem e devem ser usados em conjunto com o cultivo bacteriológico para aumentar a eficácia do diagnóstico (SOBESTIANSKI et al., 2001; ACHA E SZYFRES, 2003). A sorotipificação é realizada em todo o mundo e tem sido útil na identificação de casos e no reconhecimento de surtos, inclusive internacionais. Baseia-se em três estruturas de superfície do patógeno: antígeno somático (O), flagelar (H) e capsular (Vi) (MURRAY et al., 2007).

2.2.6 Tratamento da infecção

O tratamento da salmonelose consiste em terapia antimicrobiana e terapia de suporte. O uso de antimicrobianos é controverso. Alguns profissionais sugerem que a terapia antimicrobiana precoce reduz a mortalidade dos animais, enquanto outros profissionais acreditam que o uso de antimicrobianos possa prolongar o estado portador dos animais após a recuperação clínica, contribuindo para a disseminação da doença. No tratamento dos suínos, tetraciclina, estreptomicina, ampicilina, amoxicilina, sulfa-trimetoprim e enrofloxacina têm sido usados com sucesso (SOBESTIANSKI et al., 2001). Segundo Murray et al. (2007), a terapia antimicrobiana não é recomendada em casos de gastroenterites não complicadas e o teste de sensibilidade a antimicrobianos não é justificado para a finalidade de tratamento, sendo frequentemente válido para a finalidade de vigilância e monitoramento do desenvolvimento de resistência antimicrobiana entre isolados de *Salmonella* spp.

Multiresistência antimicrobiana tem sido relatada em diversos sorotipos de *Salmonella* spp (CLOECKAER et al., 2000; GUPTA et al., 2003; BERGE et al., 2004). Graziani et al. (2008), em estudo da resistência antimicrobiana de linhagens de *S. Typhimurium*, provenientes de animais e humanos, demonstraram maiores índices de resistência das linhagens contra os antimicrobianos ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamidas e tetraciclina. Resultados semelhantes foram observados no experimento de Little et al. (2008). No Brasil, estudo conduzido por Castagna et al. (2001) demonstrou resistência de amostras de *Salmonella* spp aos antimicrobianos sulfonamida, tetraciclina, clotrimoxazol, ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, ácido nalidíxico, tobramicina, neomicina, amicacina, cefaclor, gentamicina e ciprofloxacina. Castagna et al. (2001) relataram ainda que o sorotipo *S. Typhimurium* foi o que apresentou maior resistência aos antimicrobianos em comparação com os demais sorotipos testados.

2.2.7 Controle e profilaxia da infecção

As medidas de controle se assemelham às adotadas para as infecções por *S. suis*. A eficiência da vacinação também é discutida. As vacinas disponíveis parecem prevenir a

forma grave da doença, porém, não impedem a infecção e o estado de portador dos animais (SOBESTIANSKI et al., 2001; ACHA E SZYFRES, 2003).

2.2.8 Aspectos em saúde pública

A salmonelose constitui uma importante causa de doença entérica também em humanos. Nos Estados Unidos, estima-se que, a cada ano, ocorram um milhão e 400 mil casos de salmonelose, dos quais 16.000 resultam em hospitalizações e 600 em mortes (MEAD et al., 1999). Historicamente, os sorotipos *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. Newport* têm sido os mais frequentemente isolados e notificados (CDC, 2004a).

Todas as salmonelas podem ser consideradas zoonoses, com exceção da *S. Typhi* e *S. Paratyphi* (A e C) que são espécie-específicas para o homem. O reservatório das salmoneloses zoonóticas são os animais. A transmissão ao homem pode ocorrer diretamente pelo contato com animais e, mais raramente, pelo contato com outro homem. Porém, as infecções humanas são mais comumente causadas pela ingestão de alimentos, água ou leite contaminados. Praticamente qualquer alimento de origem animal pode ser via de infecção para o homem. Os veículos mais comuns são a carne de aves, suínos e bovinos, e leite (ACHA E SZYFRES, 2003).

No homem, a salmonelose pode ocorrer esporadicamente ou em forma de surtos. Indivíduos de qualquer idade podem ser acometidos, porém, a incidência é maior em crianças e idosos. A infecção intestinal caracteriza-se, principalmente, por febre, diarreia, dores abdominais, náusea e vômito, após um período de incubação de seis a 72 horas. A salmonelose entérica geralmente possui um curso benigno com recuperação clínica em dois a quatro dias. O portador convalescente pode eliminar o agente durante semanas e, mais raramente, durante meses. A infecção em crianças, idosos e pacientes debilitados pode evoluir para uma bacteremia resultando em complicações pela disseminação bacteriana para os pulmões, pleura, articulações e endocárdio. A doença extra-intestinal por salmonelas zoonóticas é relativamente pouco frequente. Destaque para *S. Choleraesuis*, responsável por quadro grave de septicemia com febre alta, esplenomegalia e letalidade de 20,00% (ACHA E SZYFRES, 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Gerais

- A. Determinar a ocorrência de suínos portadores sadios de *S. suis* em criações da região de Botucatu/S.P.;
- B. Determinar a ocorrência de funcionários portadores sadios de *S. suis* em criações de suínos da região de Botucatu/S.P.;
- C. Determinar a ocorrência de suínos portadores e/ou excretadores sadios de *Salmonella* spp em criações da região de Botucatu/S.P.;
- D. Avaliar a ocorrência de *Salmonella* spp em suabes das mãos dos funcionários de criações de suínos da região de Botucatu/S.P.

3.2 Específicos

- A. Determinar a ocorrência de suínos portadores sadios de *S. suis* nas diferentes categorias (faixas etárias) em criações da região de Botucatu/S.P.;
- B. Determinar a ocorrência de suínos portadores sadios de *S. suis* em suas tonsilas e cavidades nasais em criações da região de Botucatu/S.P.;
- C. Descrever a distribuição de sorotipos de *S. suis* isolados de suínos portadores sadios em criações da região de Botucatu/S.P.;
- D. Descrever o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de linhagens de *S. suis* isoladas de suínos portadores sadios em criações da região de Botucatu/S.P.;
- E. Determinar a ocorrência de suínos portadores e/ou excretadores sadios de *Salmonella* spp nas diferentes categorias (faixas etárias) em criações da região de Botucatu/S.P.;
- F. Descrever a distribuição de sorotipos de *Salmonella* spp isolados de suínos portadores sadios em criações da região de Botucatu/S.P.;
- G. Descrever o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de linhagens de *Salmonella* spp isoladas de suínos portadores sadios em criações da região de Botucatu/S.P.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 *Streptococcus suis*

4.1.1 Descrição das propriedades

As coletas foram realizadas em três propriedades suinícolas de ciclo completo e rebanhos variando de 1.000 a 1.500 matrizes, localizadas na região de Botucatu, São Paulo, Brasil, designadas A, B e C. Nas granjas A e C, a antimicrobianoterapia é instituída para prevenção e controle de doenças bacterianas comuns na suinocultura moderna, inclusive doenças causadas pelo *S. suis*. Nenhuma informação a esse respeito nos foi fornecida em relação à granja B. Na granja A, a doxiciclina é administrada aos leitões na primeira e terceira semana da fase de creche e na primeira e segunda semana da fase de terminação. Na granja C, os leitões recebem amoxicilina do 24° ao 35° dia de vida (fase de creche). A granja B é a única que realiza imunização contra o agente.

4.1.2 Coleta e transporte das amostras

Todos os animais amostrados se encontravam clinicamente sadios nos dias de coleta.

Em cada uma das três granjas visitadas (A, B e C), com o auxílio de suabes estéreis, foram coletadas amostras de tonsilas palatinas e cavidades nasais de oito matrizes no setor de maternidade, 32 leitões de maternidade, 20 leitões de creche e 20 leitões de terminação, além de suabes vaginais das oito matrizes e de tonsilas de 17, oito e três funcionários, respectivamente. No total, 28 funcionários e 240 animais foram amostrados, sendo 24 matrizes no setor de maternidade, 96 leitões de maternidade, 60 leitões de creche e 60 leitões de terminação.

Todas as amostras foram transportadas ao Laboratório em tubos estéreis contendo meio de transporte de *Stuart* (OXOID), sob refrigeração, imediatamente após a coleta.

4.1.3 Processamento microbiológico das amostras

As amostras foram processadas no Laboratório de Microbiologia da Disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais, sob responsabilidade do Prof. Adj. Dr. Antonio Carlos Paes, no Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Botucatu/S.P.

O isolamento primário das amostras foi realizado em ágar sangue ovino a 5,00% (OXOID) e ágar MacConkey (OXOID), incubados em estufa de cultura bacteriológica (FANEM A 502) a 37°C, em condições de aerobiose, com leituras diárias por 72 horas.

Após o isolamento primário, três colônias suspeitas de *S. suis* (QUINN et al., 1994), de cada sítio de isolamento de cada animal amostrado, foram repicadas individualmente para outra placa de ágar sangue para a obtenção de um crescimento puro e exuberante de cada linhagem. Essas novas placas de ágar sangue foram estocadas em geladeira e as linhagens novamente repicadas, de quatro em quatro dias, para placas de BHI Agar (OXOID), até o resultado da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

4.1.4 Identificação genotípica da espécie *S. suis*

A técnica de PCR foi realizada no Laboratório PANGENE, de responsabilidade do Prof. Adj. Paulo Eduardo Martins Ribolla, no Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências de Botucatu / S.P.

O protocolo utilizado para a identificação genotípica da espécie *S. suis* está adaptado do artigo de Okwumabua et al. (2003). Os autores desenvolveram uma técnica de PCR específica para *S. suis*, baseada no gene codificador da enzima glutamato desidrogenase, produzindo fragmentos de 688 pb.

A extração do DNA (Apêndice 1) foi conduzida utilizando-se a resina chelex-100 (Bio-rad). A amplificação foi realizada num volume total de 20 µL utilizando-se, por amostra: 7µL de água milli-Q autoclavada; 10 µL de Go Taq® Colorless Master Mix (Promega); 1 µL do primer JP4 (5'-GCAGCGTATTCTGTCAAACG-3'); 1 µL do primer JP5 (5'-CCATGGACAGATAAAGATGG-3') e 1 µL do DNA extraído, empregando-se os

parâmetros: cinco minutos iniciais de desnaturação a 94°C seguidos de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por um minuto, anelamento dos primers a 55°C por um minuto e extensão a 72°C por um minuto. Após completar os 35 ciclos, os microtubos foram incubados a 72°C por sete minutos para uma etapa final de extensão.

O DNA extraído de linhagem de referência de *S. suis* sorotipo 2, cedida pelo Prof. Dr. Marcelo Gottschalk, foi utilizado como controle positivo. Como controle negativo, utilizou-se água milli-Q autoclavada.

A detecção dos produtos amplificados foi realizada através da eletroforese em gel de agarose 1,00%, corado com GelRed (2 µL / 40 mL). Os fragmentos foram identificados com base na utilização do marcador de peso molecular O'GeneRuler™ 1 Kb Plus DNA Ladder (FERMENTAS).

4.1.5 Liofilização das linhagens de *S. suis*

As linhagens geneticamente identificadas como *S. suis* foram novamente repicadas para placas de ágar sangue para verificação de pureza e suspensão para liofilização, utilizando-se 2 mL de meio próprio para liofilização, cuja formulação (5g de Dextran T-40 SIGMA + 7g de sacarose SYNTH + 1g de L-glutamato de sódio VETEC / 100 mL de água milli-Q) nos foi fornecida pelo Prof. Dr. Marcelo Gottschalk.

Alíquotas de 0,5 mL da suspensão de cada linhagem foram transferidas assepticamente para três frascos tipo penicilina estéreis. As linhagens foram então congeladas a -80°C por 24 horas e transportadas em isopor contendo gelo seco até o Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, de responsabilidade do Prof. Adj. Jesus Aparecido Ferro, no Departamento de Tecnologia da UNESP / Jaboticabal, onde foram liofilizadas.

4.1.6 Sorotipificação das linhagens de *S. suis*

A sorotipificação das linhagens de *S. suis* foi realizada no *Laboratoire de Recherche sur Streptococcus suis* do Prof. Dr. Marcelo Gottschalk, na *Faculté de Médecine*

Vétérinaire da Université de Montréal, através da técnica de coaglutinação, segundo metodologia descrita por Gottschalk et al. (1993a).

As linhagens (n = 262) foram testadas contra os 34 reagentes monoclonais produzidos, os quais identificam os 35 sorotipos da espécie, atualmente reconhecidos. Volumes iguais do reagente e da suspensão bacteriana foram misturados numa placa de vidro e homogeneizados com movimentos circulares manuais durante 30 segundos. A placa foi observada contra um fundo escuro e a reação positiva caracterizada pela ocorrência de aglutinação. Somente reações de 2+ a 4+ que ocorreram até 30 segundos foram consideradas positivas.

O preparo dos reagentes e das linhagens para a realização da técnica de coaglutinação encontra-se descrito nos Apêndices 2 e 3, respectivamente.

As linhagens que apresentaram múltiplas reações positivas foram novamente preparadas e submetidas à nova sorotipificação. Após a segunda sorotipificação, as linhagens que continuaram apresentando múltiplas reações positivas foram classificadas como linhagens x,y ou x,y,z de acordo com o número dos múltiplos sorotipos identificados para a linhagem em questão.

Foram consideradas linhagens não sorotipáveis (NS) as linhagens que não aglutinaram quando em contato com todos os reagentes (anti-soros) preparados contra todos os sorotipos hoje já identificados e linhagens autoaglutinantes, as quais aglutinam sozinhas e com todos os reagentes, impossibilitando a determinação de um sorotipo específico.

4.1.7 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

O perfil de susceptibilidade das linhagens de *S. suis* aos antimicrobianos foi determinado através do método de difusão pelo sistema de discos, segundo a metodologia descrita por Bauer et al. (1966).

As linhagens de *S. suis* foram testadas frente aos antimicrobianos: ampicilina (10 µg); ceftiofur (30 µg); ciprofloxacino (5 µg); florfenicol (30 µg); enrofloxacino (5 µg); cloranfenicol (30 µg); norfloxacino (10 µg); sulfa-trimetoprim (25 µg); tetraciclina (30 µg); amoxicilina-ácido clavulânico (30 µg); levofloxacino (5 µg); doxiciclina (30 µg); penicilina

(10 UI), eritromicina (15 µg), cefalexina (30 µg), azitromicina (15 µg) e clindamicina (2 µg).

A leitura do Teste de Susceptibilidade aos Antimicrobianos foi realizada após 18 - 24 horas de incubação das placas a 37°C. A determinação do diâmetro do halo de inibição e sua interpretação foram realizadas seguindo as instruções do fabricante dos discos de antimicrobianos (CEFAR) e de acordo com as normas do *National Committee for Clinical Laboratory Standards / Clinical and Laboratory Standards Institute* (2010).

4.2 *Salmonella* spp

4.2.1 Coleta e transporte das amostras

Todos os animais amostrados se encontravam clinicamente sadios nos dias de coleta.

Amostras de tonsilas palatinas e reto, com o auxílio de suabes estéreis, foram coletadas de 40 matrizes no setor de maternidade, 160 leitões de maternidade, 100 leitões de creche e 100 leitões de terminação, perfazendo 400 animais, distribuídos em três diferentes granjas (A, B, C) localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil. Suabes das mãos de 23 tratadores de suínos foram também coletados. No entanto, nenhum tratador se dispôs a nos fornecer suas fezes para análise.

Na granja A, foram coletadas amostras de tonsilas palatinas e reto de oito matrizes no setor de maternidade, 32 leitões de maternidade, 20 leitões de creche e 20 leitões de terminação, além de suabes das mãos de 13 tratadores. Nas granjas B e C, foram coletadas amostras de tonsilas palatinas e reto de 16 matrizes no setor de maternidade, 64 leitões de maternidade, 40 leitões de creche e 40 leitões de terminação, além de suabes das mãos de sete e três tratadores, respectivamente.

O transporte das amostras foi realizado como descrito anteriormente no item 4.1.2.

4.2.2 Processamento microbiológico das amostras

As amostras foram processadas no mesmo Laboratório descrito anteriormente no item 4.1.3.

O isolamento primário das amostras foi realizado em ágar sangue ovino a 5,00% (OXOID) e ágar MacConkey (OXOID), incubados em estufa de cultura bacteriológica (FANEM A 502) a 37°C, em condições de aerobiose, com leituras diárias por 72 horas.

Concomitantemente à semeadura nos meios de isolamento primário, as amostras foram semeadas nos caldos de enriquecimento seletivo Rappaport Vassiliadis (OXOID) e caldo Tetrionato (OXOID) com verde brilhante, incubados em estufa de cultura bacteriológica a 42°C (Incubadora B.O.D. MARTE MB 155/3) e 37°C (FANEM A 502), respectivamente, em condições de aerobiose, por até 24 horas. Alíquotas de ambos os caldos de enriquecimento seletivo foram semeadas em ágar *Salmonella-Shigella* (ASS - OXOID), após oito e 24 horas de incubação.

4.2.3 Identificação do gênero *Salmonella*

A identificação do gênero *Salmonella* foi realizada segundo Quinn et al. (1994) e Washington et al. (2008).

As linhagens bacterianas isoladas em ágar MacConkey, não fermentadoras da lactose (colônias de coloração transparente) assim como as linhagens isoladas em ASS, não fermentadoras da lactose (colônias de coloração transparente, com ou sem o centro enegrecido) foram submetidas a provas bioquímicas para enterobactérias, através dos meios Mili, EPM e Citrato de Simmons (DIFCO), visando determinar os seguintes parâmetros: fermentação da glicose; produção de gás; H₂S; enzima urease; L-TD (L-triptofano desaminase); indol; motilidade; lisina descarboxilase e citrato.

Foram suspeitas de pertencerem ao gênero *Salmonella* as linhagens que se apresentaram positivas para as provas de gás (glicose), H₂S, lisina descarboxilase, motilidade e citrato (variável) e negativas para urease e indol.

As linhagens de perfil bioquímico característico foram confirmadas como *Salmonella* spp através da prova de aglutinação em lâmina com soro polivalente somático anti-*Salmonella* (Probac do Brasil) e prova do malonato negativa (caldo malonato - MIKROBIOLOGIE).

As linhagens de *Salmonella* spp foram estocadas em triplicata, em ágar Nutriente, para posterior sorotipificação.

4.2.4 Sorotipificação das linhagens de *Salmonella* spp

A sorotipificação das linhagens de *Salmonella* spp foi realizada no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, sob responsabilidade da Dra. Dália dos Prazeres Rodriguez, pesquisadora titular do Instituto e chefe do Laboratório.

4.2.5 Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

O Teste de Susceptibilidade aos Antimicrobianos foi realizado como descrito anteriormente no item 4.1.7.

As linhagens de *Salmonella* spp foram testadas frente aos antimicrobianos: ampicilina (10 µg); ceftiofur (30 µg); ciprofloxacino (5 µg); florfenicol (30 µg); enrofloxacino (5 µg); cloranfenicol (30 µg); norfloxacino (10 µg); sulfatrimetoprim (25 µg); tetraciclina (30 µg); amoxicilina-ácido clavulânico (30 µg); levofloxacino (5 µg); doxiciclina (30 µg); gentamicina (10 µg), amicacina (30 µg) e estreptomicina (10 µg).

4.3 Análise Estatística

Os resultados obtidos para cada propriedade, bem como os resultados gerais do estudo, foram comparados em tabelas individuais de contingência 2 X 2 ou maiores, através dos testes de Qui-quadrado e Exato de Fisher, com intervalo de confiança de 95,00%. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (TRIOLA, 2005).

5 RESULTADOS

5.1 *Streptococcus suis*

5.1.1 Ocorrência de *S. suis* em suínos clinicamente sadios

Os resultados referentes à ocorrência de *S. suis* nas diferentes propriedades, bem como nas diferentes categorias amostradas e entre os sexos dos animais, estão resumidos na Tabela 1.

TABELA 1: Ocorrência de *Streptococcus suis* em suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil. Diferença de ocorrência entre as propriedades, faixas etárias (categorias) e sexo dos animais.

	PROPRIEDADES			Total
	A	B	C	
Matrizes				
n°+ / n°A (%)	8 / 8 (100,00)	6 / 8 (75,00)	7 / 8 (87,50)	21 / 24 (87,50)
n°F+ (%) - n°M+ (%)	8 (100,00) - 0	6 (75,00) - 0	7 (87,50) - 0	21 (87,50) - 0
Leitões Maternidade				
n°+ / n°A (%)	32 / 32 - (100,00)	26 / 32 (81,25)	27 / 32 (84,37)	85 / 96 (88,54)
n°F+ (%) - n°M+ (%)	16 (100,00) - 16 (100,00)	14 (87,50) - 12 (75,00)	13 (81,25) - 14 (87,50)	43 (89,58) - 42 (87,50)
Leitões Creche				
n°+ / n°A (%)	17 / 20 (85,00)	17 / 20 (85,00)	9 / 20 (45,00)	43 / 60 (71,66)
n°F+ (%) - n°M+ (%)	7 (70,00) - 10 (100,00)	9 (90,00) - 8 (80,00)	3 (30,00) - 6 (60,00)	19 (39,58) - 24 (50,00)
Leitões Terminação				
n°+ / n°A (%)	19 / 20 (95,00)	20 / 20 (100,00)	5 / 20 (25,00)	44 / 60 (73,33)
n°F+ (%) - n°M+ (%)	10 (100,00) - 9 (90,00)	10 (100,00) - 10 (100,00)	1 (10,00) - 4 (40,00)	21 (43,75) - 23 (47,92)
Total				
n°+ / n°A (%)	76 / 80 (95,00)	69 / 80 (86,25)	48 / 80 (60,00)	193 / 240 (80,42)
n°F+ (%) - n°M+ (%)	41 (93,18) - 35 (87,50)	39 (88,64) - 30 (83,33)	24 (54,54) - 24 (66,66)	104 (43,33) - 89 (37,08)

n°+: Número de animais positivos para *S. suis*

n°A: Número de animais amostrados

(%): Porcentagem

n°F+: Número de fêmeas positivas para *S. suis*

n°M+: Número de machos positivos para *S. suis*

Dos 240 animais amostrados, 193 (80,42%) se mostraram positivos para *S. suis*: 21 matrizes (8,75%); 85 (35,42%) animais em idade de maternidade (43 fêmeas e 42 machos);

43 (17,92%) em idade de creche (19 fêmeas e 24 machos) e 44 (18,33%) em idade de terminação (21 fêmeas e 23 machos). Em relação ao número de animais amostrados por categoria, foi isolado *S. suis* de 87,50% (21/24) das matrizes; 88,54% (85/96) dos animais em idade de maternidade; 71,66% (43/60) dos animais em idade de creche e 73,33% (44/60) dos animais em idade de terminação. No total, 291 linhagens de *S. suis* foram isoladas: 153 (52,58%) linhagens provenientes de amostras de tonsilas; 131 (45,02%) provenientes de amostras de cavidade nasal e 7 (2,40%) de amostras de vagina (Tabela 1).

Na granja A, dos 80 animais amostrados, 76 (95,00%) se mostraram positivos para *S. suis*: oito matrizes (10,00%); 32 (40,00%) animais em idade de maternidade (16 fêmeas e 16 machos); 17 (21,25%) em idade de creche (sete fêmeas e dez machos) e 19 (23,75%) em idade de terminação (dez fêmeas e nove machos). Em relação ao número de animais amostrados por categoria, foi isolado *S. suis* de 100,00% (8/8) das matrizes; 100,00% (32/32) dos animais em idade de maternidade; 85,00% (17/20) dos animais em idade de creche e 95,00% (19/20) dos animais em idade de terminação. No total, 125 linhagens de *S. suis* foram isoladas: 60 (48,00%) linhagens provenientes de amostras de tonsilas; 63 (50,40%) provenientes de amostras de cavidade nasal e 2 (1,60%) de amostras de vagina (Tabela 1).

Na granja B, dos 80 animais amostrados, 69 (86,25%) se mostraram positivos para *S. suis*: seis matrizes (7,50%); 26 (32,50%) animais em idade de maternidade (14 fêmeas e 12 machos); 17 (21,25%) animais em idade de creche (nove fêmeas e oito machos) e 20 (25,00%) animais em idade de terminação (dez fêmeas e dez machos). Em relação ao número de animais amostrados por categoria, foi isolado *S. suis* de 75,00% (6/8) das matrizes; 81,25% (26/32) dos animais em idade de maternidade; 85,00% (17/20) dos animais em idade de creche e 100,00% (20/20) dos animais em idade de terminação. No total, 107 linhagens de *S. suis* foram isoladas: 53 (49,53%) linhagens provenientes de amostras de tonsilas; 51 (47,66%) provenientes de amostras de cavidade nasal e 3 (2,81%) de amostras de vagina (Tabela 1).

Na granja C, dos 80 animais amostrados, 48 (60,00%) se mostraram positivos para *S. suis*: sete matrizes (8,75%); 27 (33,75%) animais em idade de maternidade (13 fêmeas e 14 machos); nove (11,25%) em idade de creche (três fêmeas e seis machos) e cinco (6,25%) em idade de terminação (uma fêmea e quatro machos). Em relação ao número de animais

amostrados por categoria, foi isolado *S. suis* de 87,50% (7/8) das matrizes; 84,37% (27/32) dos animais em idade de maternidade; 45,00% (9/20) dos animais em idade de creche e 25,00% (5/20) dos animais em idade de terminação. No total, 59 linhagens de *S. suis* foram isoladas: 40 (67,80%) linhagens provenientes de amostras de tonsilas; 17 (28,81%) provenientes de amostras de cavidade nasal e 2 (3,39%) de amostras de vagina (Tabela 1).

S. suis foi isolado de 21 (87,50%) de um total de 24 matrizes amostradas. Dentre as três matrizes negativas, os leitões de apenas uma se mostraram também negativos. Em leitões de três fêmeas positivas foram encontrados os mesmos sorotipos isolados das respectivas matrizes. Apenas três das sete matrizes portadoras de *S. suis* no canal vaginal albergavam linhagens com sorotipos definidos. Linhagens de mesmo sorotipo foram isoladas dos leitões de apenas uma dessas matrizes. As situações mais frequentes foram matrizes portadoras de linhagens não sorotipáveis com seus respectivos leitões albergando linhagens de sorotipos específicos ou matrizes e seus respectivos leitões albergando linhagens de diferentes sorotipos.

5.1.2 Isolamento tonsilar versus isolamento nasal

Os resultados do presente estudo, referentes à comparação das taxas de isolamento de *S. suis* a partir das tonsilas e cavidades nasais dos animais, estão demonstrados na Tabela 2.

TABELA 2: Comparação das taxas de isolamento de *Streptococcus suis* a partir das tonsilas e cavidades nasais de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.

	<i>Propriedades</i>			Total
	A	B	C	
Animais positivos somente nas tonsilas	13 (16,25%)	18 (22,50%)	31 (38,75%)	62 (25,83%)
Animais positivos somente nas cavidades nasais	16 (20,00%)	16 (20,00%)	8 (10,00%)	40 (16,66%)
Animais positivos em um único sítio biológico: tonsilas ou cavidades nasais	29 (36,25%)	34 (42,50%)	39 (48,75%)	102 (42,50%)
Animais positivos nos dois sítios biológicos: tonsilas e cavidades nasais	47 (58,75%)	35 (43,75%)	9 (11,25%)	91 (37,92%)
Isolamento Tonsilar: animais positivos somente nas tonsilas + animais positivos nos 2 sítios biológicos	60 (75,00%)	53 (66,25%)	40 (50,00%)	153 (63,75%)
Isolamento Nasal: animais positivos somente nas cavidades nasais + animais positivos nos 2 sítios biológicos	63 (78,75%)	51 (63,75%)	17 (21,25%)	131 (54,58%)

Dentre os 240 animais amostrados, 153 (63,75%) albergavam *S. suis* em suas tonsilas, independentemente de albergarem ou não o agente em suas cavidades nasais; 131 (54,58%)

albergavam *S. suis* em suas cavidades nasais, independentemente de albergarem ou não o agente em suas tonsilas; 102 (42,50%) se mostraram portadores de *S. suis* em um único sítio biológico, ou seja, tonsilas ou cavidades nasais; 91 (37,92%) se mostraram portadores de *S. suis* em ambos os sítios biológicos amostrados, ou seja, tonsilas e cavidades nasais; 62 (25,83%) foram positivos para o agente somente nas tonsilas e 40 (16,66%) foram positivos para o agente somente nas cavidades nasais (Tabela 2).

5.1.3 Distribuição dos diferentes sorotipos de *S. suis* isolados de suínos clinicamente sadios

Dentre as 262 linhagens de *S. suis* submetidas à sorotipificação, 176 (67,18%) pertencem ao grupo de linhagens NS, sendo possível a determinação do sorotipo em 86 (32,83%) linhagens capsulares.

Os resultados referentes à distribuição dos diferentes sorotipos isolados dos animais amostrados no presente estudo estão demonstrados na Tabela 3.

TABELA 3: Distribuição dos diferentes sorotipos de *Streptococcus suis*, dentre as 86 linhagens tipificáveis (encapsuladas), isolados de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.

Sorotipos	Propriedades N° (%)			Total	Sorotipos	Propriedades N° (%)			Total
	A	B	C			A	B	C	
5	0 (0,00)	1 (3,60)	0 (0,00)	1 (1,20)	27	8 (25,80)	1 (3,60)	0 (0,00)	9 (10,40)
7	2 (6,45)	1 (3,60)	0 (0,00)	3 (3,50)	28	1 (3,23)	1 (3,60)	0 (0,00)	2 (2,30)
11	1 (3,23)	1 (3,60)	0 (0,00)	2 (2,30)	29	0 (0,00)	2 (7,10)	0 (0,00)	2 (2,30)
14	0 (0,00)	1 (3,60)	0 (0,00)	1 (1,20)	30	6 (19,35)	2 (7,10)	5 (18,50)	13 (15,10)
15	1 (3,23)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (1,20)	34	1 (3,23)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (1,20)
16	3 (9,67)	0 (0,00)	0 (0,00)	3 (3,50)	1,27	0 (0,00)	0 (0,00)	2 (7,40)	2 (2,30)
18	1 (3,23)	1 (3,60)	0 (0,00)	2 (2,30)	9,22,27	1 (3,23)	2 (7,10)	0 (0,00)	3 (3,50)
19	0 (0,00)	1 (3,60)	0 (0,00)	1 (1,20)	9,27,33	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (3,70)	1 (1,20)
20	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (3,70)	1 (1,20)	9,33	0 (0,00)	0 (0,00)	5 (18,50)	5 (5,80)
21	3 (9,67)	5 (17,85)	2 (7,40)	10 (11,60)	15,18	0 (0,00)	2 (7,10)	0 (0,00)	2 (2,30)
22	2 (6,45)	5 (17,85)	9 (33,40)	16 (18,60)	17,18,19	1 (3,23)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (1,20)
24	0 (0,00)	0 (0,00)	2 (7,40)	2 (2,30)	21,22	0 (0,00)	2 (7,10)	0 (0,00)	2 (2,30)

O sorotipo 22 (18,60%) foi o mais frequente seguido pelos sorotipos 30 (15,10%), 21 (11,60%) e 27 (10,40%). Os demais sorotipos isolados apresentaram ocorrências inferiores a 4,00%, com exceção do “sorotipo” 9,33 (5,80%). Não foram isoladas linhagens pertencentes aos sorotipos 1, 2 e 1/2. No presente estudo, dois sorotipos diferentes foram isolados de 3,75% dos animais amostrados (Tabela 3).

5.1.4 Suscetibilidade aos antimicrobianos

A Tabela 4 demonstra a proporção de linhagens de *S. suis* sensíveis, parcialmente sensíveis e resistentes frente aos 17 antimicrobianos testados, dentre as 260 submetidas ao teste de susceptibilidade.

TABELA 4: Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de 260 linhagens de *Streptococcus suis* isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.

<i>ANTIMICROBIANOS</i>	<i>SENSÍVEL</i> <i>n° (%)</i>	<i>PARCIALMENTE SENSÍVEL</i> <i>n° (%)</i>	<i>RESISTENTE</i> <i>n° (%)</i>
Ampicilina	174 (66,92)	69 (26,54)	17 (6,54)
Amoxicilina + Clavulanato	245 (94,23)	12 (4,62)	3 (1,15)
Azitromicina	189 (72,69)	22 (8,46)	49 (18,85)
Cefalexina	219 (84,23)	4 (1,54)	37 (14,23)
Ceftiofur	248 (95,39)	9 (3,46)	3 (1,15)
Ciprofloxacino	64 (24,62)	37 (14,23)	159 (61,15)
Clindamicina	6 (2,31)	34 (13,08)	220 (84,61)
Cloranfenicol	213 (81,92)	25 (9,62)	22 (8,46)
Doxiciclina	162 (62,31)	70 (26,92)	28 (10,77)
Eritromicina	124 (47,69)	15 (5,77)	121 (46,54)
Enrofloxacino	115 (44,23)	31 (11,92)	114 (43,85)
Florfenicol	212 (81,54)	10 (3,85)	38 (14,61)
Levofloxacino	162 (62,31)	16 (6,15)	82 (31,54)
Norfloxacino	46 (17,69)	14 (5,39)	200 (76,92)
Penicilina	127 (48,85)	86 (33,08)	47 (18,07)
Sulfa + Trimetoprim	0 (0,00)	0 (0,00)	260 (100,00)
Tetraciclina	6 (2,31)	0 (0,00)	254 (97,69)

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos demonstrou uma eficácia das drogas testadas variando de 95,39% a 0,00% e resistência das linhagens de *S. suis* variando de 100,00% a 1,15%. O antimicrobiano que apresentou o maior índice de eficácia contra as linhagens estudadas foi o ceftiofur (95,39%) seguido pelos antimicrobianos amoxicilina com clavulanato (94,23%), cefalexina (84,23%), cloranfenicol (81,92%), florfenicol (81,54%), azitromicina (72,69%), ampicilina (66,92%), doxiciclina (62,31%) e levofloxacino (62,31%). Os demais antimicrobianos demonstraram eficácia inferior a 50,00%. Mais de 50,00% das linhagens foram resistentes as drogas ciprofloxacino (61,15%), norfloxacino (76,92%), clindamicina (84,61%), tetraciclina (97,69%) e a combinação sulfa-trimetoprim (100,00%). Índices elevados de resistência (superior a 30,00%) foram ainda demonstrados para os antimicrobianos levofloxacino (31,54%), eritromicina (46,54%) e enrofloxacino (43,85%). Diferença significativa foi observada para as proporções de sensibilidades, entre as propriedades amostradas, para 12 antimicrobianos dentre os 17 testados: ampicilina, amoxicilina com clavulanato, azitromicina, ciprofloxacino, cloranfenicol, doxiciclina, eritromicina, enrofloxacino, florfenicol, levofloxacino, norfloxacino, e penicilina (Tabela4).

5.1.4.1 Multiresistência e perfis de resistência (*resistotypes*)

Multiresistência, ou seja, resistência a três ou mais antimicrobianos, foi demonstrada na grande maioria (99,61%) das linhagens de *S. suis* isoladas no presente estudo, conforme sumarizado na Tabela 5.

TABELA 5: Multirresistência de linhagens de *Streptococcus suis* isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.

<i>n° de Antimicrobianos</i>	<i>Propriedade A n° linhagens (%)</i>	<i>Propriedade B n° linhagens (%)</i>	<i>Propriedade C n° linhagens (%)</i>	<i>Total n° linhagens (%)</i>
3	0 (0,00)	6 (5,94)	0 (0,00)	6 (2,30)
4	11 (10,48)	1 (0,99)	0 (0,00)	12 (4,60)
5	11 (10,48)	10 (9,90)	1 (1,89)	22 (8,48)
6	0 (0,00)	10 (9,90)	0 (0,00)	10 (3,80)
7	16 (15,24)	9 (8,91)	6 (11,32)	31 (11,96)
8	33 (31,43)	12 (11,89)	1 (1,89)	46 (17,70)
9	9 (8,57)	13 (12,87)	6 (11,32)	28 (10,80)
10	7 (6,66)	20 (19,80)	5 (9,43)	32 (12,30)
11	13 (12,38)	4 (3,96)	12 (22,64)	29 (11,19)
12	0 (0,00)	7 (6,93)	11 (20,75)	18 (6,90)
13	0 (0,00)	4 (3,96)	7 (13,21)	11 (4,20)
14	1 (0,95)	0 (0,00)	4 (7,55)	5 (1,90)
15	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
16	4 (3,81)	2 (1,98)	0 (0,00)	6 (2,30)
17	0 (0,00)	3 (2,97)	0 (0,00)	3 (1,57)
Total	105 (40,54)	101 (39,00)	53 (20,46)	259 (99,61)

Dentre as 260 linhagens submetidas ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, 259 (99,61%) apresentaram multirresistência: seis (2,30%) linhagens se mostraram resistentes a três antimicrobianos; 12 (4,60%) a quatro; 22 (8,48%) a cinco; dez (3,80%) a seis; 31 (11,96%) a sete; 46 (17,70%) a oito; 28 (10,80%) a nove; 32 (12,30%) a dez; 29 (11,19%) a 11; 18 (6,90%) a 12; 11 (4,20%) a 13; cinco (1,90%) a 14; seis (2,30%) a 16 e três (1,57%) linhagens resistentes aos 17 antimicrobianos testados (Tabela 5).

Os perfis de resistência (*resistotypes*) das linhagens de *S. suis* estudadas foram construídos usando os 17 antimicrobianos testados. A distribuição geral dos *resistotypes* e entre os principais sorotipos isolados está demonstrada nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

TABELA 6: Distribuição geral dos perfis de resistência (*resistotypes*) de 260 linhagens de *Streptococcus suis* isoladas de suínos clinicamente saudáveis provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.

<i>n</i> ^o Resistotypes	<i>n</i> ^o Linhagens	Perfis de Resistência (<i>Resistotypes</i>)
1	1	AMP-AZI-CEFT-CIP-CLI-CLO-DOX-ERI-ENR-FLO-NOR-PEN-SULT-TET
2	6	AMP-AZI-CEFA-CEFT-CIP-CLI-CLO-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
3	2	AMP-AZI-CEFA-CEFT-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
4	1	AMP-AZI-CEFA-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-NOR-PEN-SULT-TET
5	2	AMP-AZI-CEFA-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
6	1	AMP-AZI-CEFA-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
7	3	AMP-AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
8	3	AMP-AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-FLO-NOR-PEN-SULT-TET
9	1	AMP-AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-LEV-NOR-SULT-TET
10	2	AMP-AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
11	2	AMP-AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
12	4	AMP-AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
13	2	AMP-AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-PEN-SULT-TET
14	3	AMP-AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-PEN-SULT
15	6	AMP-CIP-CLI-DOX-ENR-NOR-PEN-SULT-TET
16	28	AMP-CIP-CLI-DOX-NOR-PEN-SULT-TET
17	4	AMP-CIP-CLI-NOR-PEN-SULT-TET
18	12	AMP-AMO-AZI-CEFA-CLI-CLO-ERI-FLO-PEN-SULT-TET
19	3	AMP-AMO-AZI-CEFA-CEFT-CIP-CLI-CLO-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
20	2	AZI-CEFA-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
21	2	AZI-CEFA-CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
22	4	AZI-CEFA-CIP-CLI-CLO-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
23	3	AZI-CEFA-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
24	3	AZI-CEFA-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
25	4	AZI-CIP-CLI-CLO-DOX-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
26	2	AZI-CIP-CLI-CLO-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-SULT-TET
27	1	AZI-CIP-CLI-CLO-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
28	3	AZI-CIP-CLI-CLO-DOX-ERI-FLO-NOR-SULT-TET
29	11	AZI-CIP-CLI-CLO-ERI-NOR-SULT-TET
30	5	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
31	11	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
32	13	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-SULT-TET
33	5	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-SULT-TET
34	5	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
35	2	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-PEN-SULT-TET
36	3	AZI-CIP-CLI-ERI-NOR-SULT-TET
37	2	AZI-CIP-CLI-ERI-NOR-PEN-SULT-TET
38	2	AZI-CIP-CLI-ERI-PEN-SULT-TET
39	4	AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-SULT-TET
40	1	AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
41	5	AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
42	11	AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-LEV-NOR-SULT-TET
43	4	AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
44	3	AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-NOR-SULT-TET
45	1	AZI-CIP-ERI-ENR-SULT
46	1	AZI-CLI-ERI-NOR-PEN-SULT-TET
47	6	AZI-CLI-ERI-NOR-SULT-TET
48	1	AZI-CLI-ERI-SULT-TET
49	4	AZI-CLI-ERI-PEN-SULT-TET
50	1	AZI-CLI-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
51	2	AZI-CLI-DOX-SULT-TET
52	5	CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-SULT-TET
53	7	CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
54	12	CLI-ERI-SULT-TET
55	14	CLI-ERI-NOR-SULT-TET
56	3	CLI-SULT-TET
57	1	CLI-SULT
58	3	ENR-SULT-TET
59	2	ENR-LEV-NOR-SULT-TET

AMP-Ampicilina AMO-Amoxicilina + Clavulanato AZI-Azitromicina CEFA-Cefalexina CEFT-Ceftiofur CIP-Ciprofloxacino
 CLI-Clindamicina CLO-Cloranfenicol DOX-Doxiciclina ERI-Eritromicina ENR-Enrofloxacin FLO-Florfenicol
 LEV-Levofloxacin NOR-Norfloxacin PEN-Penicilina SULT-Sulfa + Trimetoprim TET-Tetraciclina

As 260 linhagens de *S. suis* submetidas ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos foram distribuídas em 59 perfis de resistência. Os perfis mais frequentes (contendo dez ou mais linhagens) foram os de número 16 (AMP-CIP-CLI-DOX-NOR-PEN-SULT-TET), 18 (AMP-AMO-AZI-CEFA-CLI-CLO-ERI-FLO-PEN-SULT-TET), 29 (AZI-CIP-CLI-CLO-ERI-NOR-SULT-TET), 31 (AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET), 32 (AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-SULT-TET), 42 (AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-LEV-NOR-SULT-TET), 54 (CLI-ERI-SULT-TET) e 55 (CLI-ERI-NOR-SULT-TET) (Tabela 6).

TABELA 7: Distribuição dos perfis de resistência (*resistotypes*) entre sorotipos importantes de *Streptococcus suis* isolados de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.

<i>Sorotipos</i>	<i>Nº</i>	<i>Nº</i>	<i>Resistotypes</i>
<i>Importantes</i>	<i>Antimicrobianos</i>	<i>Linhagens</i>	
5	12	1	AMO-AZI-CEFA-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-NOR-PEN-SULT-TET
7	9	1	AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
	10	2	AZI-CIP-CLI-DOX-ERI-ENR-LEV-NOR-SULT-TET
11	4	1	CLI-ERI-SULT-TET
	7	1	CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
14	7	1	AZI-CLI-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
16	11	1	AMP-AMO-AZI-CEFA-CLI-CLO-ERI-FLO-PEN-SULT-TET
19	9	1	AMP-AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-PEN-SULT
21	7	3	CIP-CLI-ERI-ENR-NOR-SULT-TET
	7	4	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-SULT-TET
	10	3	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
27	9	2	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-SULT-TET
	10	2	AZI-CIP-CLI-ERI-ENR-LEV-NOR-PEN-SULT-TET
	16	5	AMP-AZI-CEFA-CEFT-CIL-CLI-CLO-DOX-ERI-ENR-FLO-LEV-NOR-PEN-SULT-TET

As linhagens pertencentes aos sorotipos 5, 7, 11, 14, 19 e 21, já descritas em casos clínicos em suínos, foram resistentes, respectivamente, a 12, nove a dez, quatro a sete, sete, nove e sete a dez antimicrobianos. As linhagens de importância em saúde pública, já descritas como causadoras de meningite e outras manifestações clínicas em humanos, foram resistentes a sete (sorotipo 14) e 11 antimicrobianos (sorotipo 16) (Tabela7).

5.1.5 *S. suis* em humanos

No presente estudo, dentre os 28 funcionários amostrados, foi detectado um portador sadio de *S. suis* em suas tonsilas. A linhagem em questão pertence ao grupo de linhagens NS e se mostrou sensível a ampicilina, amoxicilina com clavulanato, ceftiofur, doxiciclina, enrofloxacino, levofloxacino e norfloxacino; parcialmente sensível aos antimicrobianos ciprofloxacino, penicilina e cloranfenicol e resistente a azitromicina, cefalexina, clindamicina, eritromicina, florfenicol, sulfa-trimetoprim e tetraciclina.

5.2 *Salmonella* spp

5.2.1 Ocorrência e distribuição dos sorotipos de *Salmonella* spp

Os resultados referentes à ocorrência de portadores sadios de *Salmonella* spp encontrada no presente estudo, bem como a distribuição dos sorotipos isolados e as condições de isolamento estão demonstrados na Tabela 8.

TABELA 8: Número e características dos animais positivos; número, sorotipo e sítio e condições de isolamento das linhagens de *Salmonella* spp isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.

<i>Granja</i>	<i>Animais Amostrados</i>	<i>Número linhagens isoladas</i>	<i>Animais Positivos</i>	<i>Sexo</i>	<i>Fase de Criação</i>	<i>Sítio de Isolamento</i>	<i>Sorotipo</i>	<i>Condições de Isolamento</i>
A	80	5	1	F	Maternidade	Tonsilas	S. C	Exame Direto
			1	F	Creche	Tonsilas	S. T	pT - 8h
							S. T	pT - 24h
							S. T	pRV - 8h
						S. T	pRV - 24h	
B	160	4	1	F	Matriz	Tonsilas	S. T	pT - 8h
							S. T	pT - 24h
			1	F	Matriz	Tonsilas	S. T	pT - 8h
							S. T	pT - 24h
C	160	10	1	F	Terminação	Tonsilas	S. I	pT - 8h
							S. I	pT - 24h
			1	F	Terminação	Tonsilas	S. I	pT - 8h
							S. I	pT - 24h
			1	F	Terminação	Reto	S. I	pT - 8h
							S. I	pT - 24h
							S. I	pRV - 24h
			1	F	Terminação	Reto	S. I	pT - 8h
				S. I	pT - 24h			
						S. I	pRV - 24h	
Total	400	19	8	8 F	1 Maternidade 1 Creche 2 Matriz 4 Terminação	T > R T = 13 R = 6	S. C = 1 S. T = 8 S. I = 10	pT - 8h = 7 pT - 24h = 7 pRV - 8h = 1 pRV - 24h = 3

F - Fêmea (s) T - Tonsilas R - Reto S. C - *Salmonella* Cerro S. T - *Salmonella* Typhimurium S. I - *Salmonella* Infantis
pT - 8h - pós-Tetrionato com 8h de incubação pT - 24h - pós-Tetrionato com 24h de incubação
pRV - 8h - pós-Rapaport Vassiliadis com 8h de incubação pRV - 24h - pós-Rapaport Vassiliadis com 24h de incubação

Devido ao baixo isolamento do agente, os resultados serão apenas descritivos, não sendo expressos em porcentagem.

Dos 400 animais amostrados, oito foram positivos para *Salmonella* spp, sendo uma fêmea do setor de maternidade, uma fêmea do setor de creche, quatro fêmeas em fase de terminação e duas matrizes no setor de maternidade. No total, 19 linhagens de *Salmonella* spp foram isoladas: 13 provenientes de amostras de tonsilas e seis provenientes de suabes retais. Dentre as 19 linhagens isoladas, dez correspondem ao sorotipo *Salmonella* Infantis,

oito correspondem ao sorotipo *Salmonella* Typhimurium e uma ao sorotipo *Salmonella* Cerro (Tabela 8).

Na granja A, dos 80 animais amostrados, cinco linhagens de *Salmonella* spp foram isoladas das tonsilas de dois animais. Dentre as cinco linhagens isoladas, quatro correspondem ao sorotipo *Salmonella* Typhimurium e uma ao sorotipo *Salmonella* Cerro. O sorotipo *Salmonella* Cerro foi isolado do exame direto das tonsilas palatinas do primeiro animal (fêmea em fase de maternidade) e as quatro linhagens correspondentes ao sorotipo *Salmonella* Typhimurium foram isoladas das tonsilas palatinas do segundo animal (fêmea em fase de creche), sob as seguintes condições: uma linhagem isolada pós-Tetrionato com oito horas de incubação; uma linhagem isolada pós-Tetrionato com 24 horas de incubação; uma linhagem isolada pós-Rapaport Vassiliadis com oito horas de incubação; uma linhagem isolada pós-Rapaport Vassiliadis com 24 horas de incubação (Tabela 8).

Na granja B, dos 160 animais amostrados, quatro linhagens de *Salmonella* spp foram isoladas das tonsilas de duas matrizes. As quatro linhagens isoladas correspondem ao sorotipo *Salmonella* Typhimurium. Duas foram isoladas das tonsilas da primeira matriz pós-Tetrionato com oito e 24 horas de incubação e duas foram isoladas das tonsilas da segunda matriz pós-Tetrionato com oito e 24 horas de incubação (Tabela 8).

Na granja C, dos 160 animais amostrados, dez linhagens de *Salmonella* spp foram isoladas das tonsilas de dois animais e do reto de outros dois animais, totalizando quatro animais fêmeas em fase de terminação. As dez linhagens isoladas nessa granja correspondem ao sorotipo *Salmonella* Infantis. Duas linhagens foram isoladas das tonsilas do primeiro animal pós-Tetrionato com oito e 24 horas de incubação. Duas linhagens foram isoladas das tonsilas do segundo animal pós-Tetrionato com oito e 24 horas de incubação. Três linhagens foram isoladas do reto do terceiro animal: duas pós-Tetrionato com oito e 24 horas de incubação e uma pós-Rapaport Vassiliadis com 24 horas de incubação. Do reto do quarto animal, foram isoladas três linhagens: duas pós-Tetrionato com oito e 24 horas de incubação e uma pós-Rapaport Vassiliadis com 24 horas de incubação (Tabela 8).

5.2.2 Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

Os resultados referentes ao perfil de susceptibilidade das linhagens de *Salmonella* spp isoladas dos animais amostrados no presente estudo estão demonstrados na Tabela 9.

TABELA 9: Perfil de Susceptibilidade aos Antimicrobianos das 19 Linhagens de *Salmonella* spp isoladas de suínos clinicamente sadios provenientes de três diferentes propriedades localizadas na região de Botucatu / S.P., Brasil.

<i>ANTIMICROBIANOS</i>	<i>SENSÍVEL</i>	<i>PARCIALMENTE SENSÍVEL</i>	<i>RESISTENTE</i>
	<i>n° (%)</i>	<i>n° (%)</i>	<i>n° (%)</i>
Amicacina	19 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Amoxicilina + Clavulanato	19 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Ampicilina	14 (73,68)	0 (0,00)	5 (26,32)
Ceftiofur	11 (57,89)	8 (42,11)	0 (0,00)
Ciprofloxacino	14 (73,68)	5 (26,32)	0 (0,00)
Cloranfenicol	19 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Doxiciclina	0 (0,00)	0 (0,00)	19 (100,00)
Enrofloxacino	10 (52,63)	5 (26,32)	4 (21,05)
Estreptomicina	4 (21,05)	10 (52,63)	5 (26,32)
Florfenicol	18 (94,74)	1 (5,26)	0 (0,00)
Gentamicina	19 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Levofloxacino	19 (100,0)	0 (0,00)	0 (0,00)
Norfloxacino	19 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Sulfa + Trimetoprim	15 (78,95)	0 (0,00)	4 (21,05)
Tetraciclina	10 (52,63)	0 (0,00)	9 (47,37)

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos demonstrou uma eficácia dos antimicrobianos testados variando de 100,00% a 0,00%. Os antimicrobianos amicacina, amoxicilina com clavulanato, cloranfenicol, gentamicina, levofloxacino e norfloxacino foram eficazes contra todas as linhagens isoladas. Em contrapartida, todas as linhagens se mostraram resistentes a doxiciclina. Considerando o resultado parcialmente sensível como resistente, uma vez que os antimicrobianos com esse resultado não são aplicáveis ao tratamento dos animais, apenas uma linhagem se apresentou resistente ao florfenicol; quatro resistentes a sulfa; cinco resistentes a ampicilina e ciprofloxacino; oito resistentes ao

ceftiofur; nove resistentes a enrofloxacino e tetraciclina e 15 resistentes a estreptomicina (Tabela 9).

Multiresistência, ou seja, resistência a três ou mais antimicrobianos, foi detectada em 13 das 19 linhagens: quatro linhagens se mostraram resistentes a três antimicrobianos; quatro resistentes a cinco; quatro resistentes a seis e uma resistente a oito antimicrobianos.

5.2.3 *Salmonella* spp em humanos

Não houve isolamento de *Salmonella* spp a partir da semeadura dos suabes das mãos dos tratadores.

6 DISCUSSÃO

6.1 *Streptococcus suis*

6.1.1 Ocorrência de *S. suis* em suínos clinicamente saudáveis

S. suis tem como habitat natural o trato respiratório superior, particularmente as tonsilas e cavidades nasais, bem como os tratos genital e alimentar dos suínos. Os animais portadores saudáveis desempenham um importante papel na disseminação e transmissão do *S. suis* para os animais susceptíveis, além de funcionarem como fonte de infecção para os funcionários das granjas e magarefes (HIGGINS E GOTTSCHALK, 2005; GOTTSCHALK et al., 2007). A utilização de diferentes métodos de detecção e identificação do agente é, provavelmente, a principal explicação para a grande variação das taxas de portadores assintomáticos encontradas nos diferentes estudos. Outras possíveis explicações são o tipo de amostras coletadas para análise e a idade dos animais envolvidos nos estudos (CLIFTON-HADLEY E ALEXANDER, 1980; BRISEBOIS et al., 1990; FLORES et al., 1993; HAN et al., 2001; MAROIS et al., 2004; SWILDENS et al., 2005; MAROIS et al., 2007; ZHANG et al. 2009).

Diversos estudos sugerem que as tonsilas palatinas sejam o principal sítio biológico no qual os suínos portadores saudáveis albergam a espécie *S. suis* (CLIFTON-HADLEY et al., 1984; ROBERTSON E BLACKMORE, 1987). Alguns autores sugerem que as tonsilas inteiras sejam o melhor material a ser coletado para a detecção dos portadores saudáveis, uma vez que o *S. suis* tende a formar grupos de bactérias nos tecidos mais internos do órgão (ARENDS et al., 1984). Swildens et al. (2005), utilizando a técnica de PCR, demonstraram maior sensibilidade na detecção de *S. suis* sorotipo 2 FE-positivo ao utilizarem tonsilas inteiras ao invés de suabes de tonsilas. Contraditoriamente, em estudo conduzido por Marois et al. (2007), suabes de tonsilas foram mais sensíveis que biópsias de tonsilas para a detecção de *S. suis* em animais vivos. Marois et al. (2004), por sua vez, não obtiveram diferença significativa entre as três amostras de tonsilas estudadas (suabes, biópsias e tonsilas inteiras). Independentemente dos resultados contraditórios relatados nos diferentes estudos, a coleta de amostras de tonsilas através de suabes é uma prática mais fácil e menos traumática, com a qual se tem obtido boa sensibilidade na detecção dos portadores saudáveis.

As cavidades nasais têm sido também reconhecidas como um bom sítio de recuperação da espécie *S. suis* (LE MENEZ et al., 1985; ROBERTSON E BLACKMORE, 1987; MOREAU et al., 1989; BRISEBOIS et al., 1990).

Matrizes podem transmitir o agente aos leitões por ocasião do parto, durante a passagem pelo canal vaginal, sendo consideradas as fontes primárias de infecção para os leitões (ROBERTSON et al., 1991; AMASS et al., 1996a; AMASS et al., 1997). Os resultados encontrados referentes ao isolamento de *S. suis* nas matrizes amostradas e seus respectivos leitões (maternidade) se assemelham aos obtidos por Amass et al. (1996a) e confirmam que, embora as matrizes sejam as fontes primárias de infecção para os recém-nascidos, outras origens do agente são também importantes para essa categoria de suínos.

Não houve diferença significativa entre o isolamento de *S. suis* a partir de suínos machos ou fêmeas. Segundo Robertson e Blackmore (1989), o manejo semelhante aplicado a machos e fêmeas nas propriedades explica índices semelhantes de infecção pelo agente em ambos os sexos.

No entanto, diferença significativa foi encontrada em relação à porcentagem de portadores sadios demonstrada em cada propriedade e entre as categorias amostradas. As granjas A (95,00%) e B (86,25%) revelaram taxas de portadores assintomáticos bem mais elevadas do que a encontrada na granja C (60,00%). Além disso, os resultados mostram um significativo maior isolamento do agente a partir de matrizes e leitões de maternidade em relação ao isolamento a partir de leitões de creche e terminação. Essas diferenças significativas encontradas podem ser explicadas pela prejudicada coleta das amostradas na propriedade C, em função da condição precária das instalações de creche e terminação, o que acarretou a contaminação da grande maioria das placas de ágar sangue referentes às amostras dos animais de creche e terminação, por *Proteus* spp, nos impedindo de recuperar colônias de *Streptococcus* alfa-hemolítico para a identificação da espécie *S. suis*. Essa sugestão de explicação é reforçada uma vez que, ao retirarmos os dados referentes à propriedade C, a diferença significativa não mais é encontrada durante a análise estatística dos resultados. Portanto, ao considerarmos somente os dados referentes às propriedades A e B, onde a coleta das amostras foi adequada, não houve diferença estatisticamente significativa em relação à porcentagem de portadores sadios encontrada em cada propriedade nem entre as categorias amostradas.

Grande variação das taxas de portadores sadios é relatada nos diversos estudos conduzidos em diferentes países. Taxas de 94,00% e 75,00% foram relatadas em estudos conduzidos por Brisebois et al. (1990) e Flores et al. (1993), respectivamente, envolvendo a análise de suabes nasais de animais clinicamente sadios com quatro a oito semanas de idade. Baele et al. (2001), analisando amostras de tonsilas e conchas nasais inteiras de 40 leitões eutanaziados em idade de desmame, demonstraram 100,00% de prevalência para *S. suis* nos animais estudados. Curiosamente, Han et al. (2001), em estudo envolvendo animais em idade de abate, obtiveram apenas 13,80%, dos 406 suabes de tonsilas analisados, positivos para *S. suis*.

No estudo realizado por Brisebois et al. (1990), 716 linhagens bioquimicamente compatíveis com *S. suis* foram recuperadas de 94,00% dos animais sadios amostrados. Como mencionado anteriormente, linhagens de *Streptococcus* alfa-hemolítico recuperadas, principalmente, de animais sadios, podem ser erroneamente diagnosticadas como *S. suis*, através da utilização de provas bioquímicas (GOTTSCHALK et al., 1991a). Após a realização da sorotipificação dessas linhagens, as 164 linhagens capsulares que aglutinaram com os oito anti-soros utilizados na técnica de coaglutinação, são as únicas que podemos considerar, de fato, *S. suis*. Desta forma, a prevalência de animais portadores encontrada no estudo em questão cai para 31,00%. No entanto, é possível que essa prevalência seja subestimada, uma vez que os autores testaram as linhagens isoladas somente contra oito anti-soros, permitindo a identificação de nove sorotipos do agente. As linhagens classificadas como não sorotipáveis podem ser linhagens de *S. suis* pertencentes aos demais sorotipos do agente, posteriormente descobertos, elevando a prevalência. Outro fator que pode ter influenciado o índice de isolamento do agente foi a utilização de suabes nasais, ao invés de suabes de tonsilas, uma vez que as tonsilas são consideradas, pela maioria dos autores, como o principal sítio biológico de recuperação de linhagens de *S. suis*.

A prevalência de portadores sadios (75,00%) demonstrada no estudo de Flores et al. (1993) parece mais próxima da realidade, uma vez que os autores só consideraram como *S. suis* as linhagens capsulares que aglutinaram na técnica de coaglutinação. No entanto, mais uma vez, a prevalência demonstrada pode estar subestimada pela utilização de 28 anti-soros, os quais diagnosticam 29 sorotipos do agente (e não os 35 sorotipos hoje já

identificados), além da utilização de suabes nasais e não de tonsilas, como já mencionado para o estudo de Brisebois et al. (1990).

Han et al. (2001), analisando suabes de tonsilas, obtiveram uma prevalência de portadores assintomáticos de 13,80%, inferior a normalmente encontrada nos demais trabalhos. Considerando somente as linhagens capsulares que aglutinaram na técnica de coaglutinação como *S. suis*, a prevalência cai para 7,14%.

Prevalência de 100,00% foi demonstrada por Baele et al. (2001). Todas as linhagens isoladas pelos autores foram confirmadas como *S. suis* através de técnica de sequenciamento. Maior sensibilidade diagnóstica foi alcançada pela análise de tonsilas e conchas nasais inteiras coletadas após eutanazia dos animais. No entanto, o número reduzido de animais amostrados (n = 40) pode estar superestimando a prevalência encontrada no estudo.

Marois et al. (2007) e Zhang et al. (2009) empregaram, em seus estudos, metodologia diagnóstica semelhante à utilizada no presente trabalho. Zhang et al. (2009) utilizaram a técnica de PCR, com cultivo prévio das amostras como no presente estudo, para a identificação de *S. suis* e a determinação da prevalência de porcas portadoras sadias na China. O estudo foi conduzido com 1.043 biópsias de tonsilas de porcas com um ano de idade ou mais velhas provenientes de 13 rebanhos diferentes situados em 10 áreas geográficas distintas da China. As prevalências obtidas variaram de 19,50% a 93,90% de acordo com a propriedade. Os autores concluíram que diferenças significativas de prevalência de portadores assintomáticos encontradas em diferentes rebanhos não estão associadas ao tamanho ou área geográfica dos rebanhos. Diferença significativa entre a ocorrência de *S. suis* demonstrada nas diferentes propriedades foi também encontrada no presente estudo. Contudo, além da coleta inadequada na propriedade C, poucas propriedades foram amostradas, as três possuindo rebanhos de tamanho semelhante, não sendo possível a análise da influência do tamanho do rebanho na ocorrência de portadores sadios.

Marois et al. (2007), em estudo envolvendo 480 animais sadios na França, compararam o índice de detecção de *S. suis* a partir de suabes de tonsilas com o índice de detecção a partir de biópsias de tonsilas, além da sensibilidade da técnica de PCR utilizada com e sem cultivo e isolamento prévio das amostras. A prevalência de portadores sadios encontrada foi

de 80,58%, tendo sido significativamente maior em leitões e porcas jovens quando comparada à prevalência observada em porcas mais velhas. Esses resultados são contraditórios aos obtidos por Clifton-Hadley e Alexander (1980), os quais sugerem que o índice de portadores sadios é maior entre animais mais velhos. No presente estudo, se considerarmos todos os animais amostrados, também houve diferença significativa entre as faixas etárias amostradas. No entanto, as maiores ocorrências de *S. suis* foram encontradas em matrizes e leitões de maternidade, demonstrando que os resultados encontrados na literatura são inconclusivos. Diversos outros trabalhos foram realizados com uma única faixa etária de animais sadios, não havendo a possibilidade de analisar a tendência de prevalência do agente entre as diferentes categorias (BRISEBOIS et al., 1990; FLORES et al., 1993; BAELE et al., 2001; HAN et al., 2001; ZHANG et al., 2009). As diferentes faixas etárias envolvidas nas pesquisas e as diferentes técnicas de detecção do *S. suis* empregadas acabam por fornecer resultados inconclusivos, impossibilitando uma real comparação entre os estudos. Contudo, considerando a taxa de portadores assintomáticos de um rebanho como próximo de 100,00% (GOTTSCHALK, 2008 - comunicação pessoal)* e a inadequada coleta das amostras realizada na propriedade C, consideramos não ter havido diferença significativa da ocorrência de *S. suis* entre as faixas etárias amostradas no presente estudo.

Marois et al. (2007) demonstraram ainda diferença significativa entre os resultados obtidos com as diferentes metodologias de diagnóstico empregadas e os diferentes tipos de amostra de tonsila analisados. No estudo realizado pelos autores, 57,00% das biópsias de tonsilas e 72,00% dos suabes de tonsilas foram positivos para o agente quando colônias suspeitas isoladas foram identificadas posteriormente por PCR. As prevalências das biópsias e suabes de tonsilas positivos aumentaram para 71,00% e 81,00%, respectivamente, quando a PCR foi realizada sem o cultivo prévio das amostras.

A utilização da PCR sem cultivo prévio das amostras, hoje em dia, possibilita a identificação de um número muito reduzido de sorotipos do agente. Até o presente momento, primers foram desenvolvidos e técnicas de PCR padronizadas para a amplificação de sequências dos genes responsáveis pela produção da cápsula dos sorotipos 2 (e 1/2), 1 (e 14), 7 e 9. Mesmo que primers sejam desenhados para a identificação de

* M. Gottschalk (e-mail, 2008).

todos os demais sorotipos existentes, o compartilhamento de antígenos capsulares comuns entre os sorotipos 2 (e 1/2) e 1 (e 14), assim como nas provas sorológicas, não permite a diferenciação desses pares de sorotipos através da técnica de PCR (SMITH et al., 1999a; SMITH et al., 1999b). Hoje, para que possamos realizar um estudo epidemiológico mais completo, com a pesquisa de todos os sorotipos já identificados do agente, há a necessidade da realização da técnica de coaglutinação que, para tal, há a necessidade de obtenção de linhagens de *S. suis* isoladas, o que é conseguido através de cultivo e isolamento do material coletado.

No Brasil, até o presente momento, dentro do nosso conhecimento, existem quatro trabalhos científicos publicados referentes à prevalência de *S. suis* em suínos portadores sadios, todos concentrados na prevalência do biotipo ou sorotipo 2 (BOSCO et al., 2000; LARA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008; FARIA et al., 2010).

O presente estudo reúne a coleta de suabes de tonsilas e cavidades nasais e a detecção do agente através da técnica de PCR com cultivo prévio das amostras, obtendo a mais alta sensibilidade e especificidade, hoje disponíveis, para a realização de um projeto epidemiológico mais completo referente à ocorrência de *S. suis* e seus diferentes sorotipos em suínos clinicamente sadios no Brasil. No entanto, a ocorrência obtida no presente estudo pode estar subestimada, uma vez que escolhemos apenas três colônias suspeitas de cada sítio biológico de cada animal amostrado para a identificação da espécie *S. suis*. Além disso, como mencionado anteriormente, a inadequada coleta na propriedade C acarretou a contaminação da grande maioria das placas de ágar sangue referentes às amostras dos leitões de creche e terminação da referida propriedade, inutilizando-as para a detecção do agente.

6.1.2 Isolamento tonsilar versus isolamento nasal

Diferença significativa foi encontrada entre o número de animais positivos para *S. suis* em suas tonsilas (153 - 63,75%) e o número de animais positivos para *S. suis* em suas cavidades nasais (131 - 54,58%), e entre o número de animais positivos somente em suas tonsilas (62 - 25,83%) e o número de animais positivos somente em suas cavidades nasais (40 - 16,66%). Estes resultados corroboram com os estudos de Clifton-Hadley et al. (1984)

e Robertson e Blackmore (1987), sugerindo que as tonsilas sejam o principal sítio biológico no qual os suínos portadores sadios albergam o agente.

No entanto, ao considerarmos somente as propriedades A e B, onde as coletas foram realizadas adequadamente, nenhuma das diferenças significativas citadas anteriormente foi observada. Neste caso, 113 (70,65%) animais foram positivos para *S. suis* em suas tonsilas e 114 (71,25%) foram positivo em suas cavidades nasais. Além disso, o agente foi isolado somente das tonsilas de 31 (19,37%) animais e somente das cavidades nasais de 32 (20,00%) animais. Desta forma, se tivéssemos coletado somente suabes de tonsilas ou somente suabes de cavidades nasais, as ocorrências encontradas no presente estudo teriam sido de 63,75% e 54,58%, ao invés de 80,42%, indicando que as cavidades nasais são sítios biológicos tão importantes quanto às tonsilas para a detecção de portadores sadios de *S. suis*. Moreau et al. (1989) também obtiveram maior sensibilidade na recuperação do agente coletando amostras de ambos os sítios. Outros autores, inclusive, obtiveram melhores resultados a partir de suabes nasais (LE MENEZ et al., 1985).

Resultados interessantes foram encontrados quando comparamos o número de animais que albergavam *S. suis* em um dos sítios biológicos, ou seja, tonsilas ou cavidades nasais e o número de animais que albergavam o agente em ambos os sítios, ou seja, tonsilas e cavidades nasais. Na propriedade B, não houve diferença significativa. Na propriedade C, houve diferença significativa, com o maior número de animais albergando o agente em um único sítio. Na propriedade A, também houve diferença significativa, portanto, com o maior número de animais albergando o agente em ambos os sítios biológicos. A análise do total de animais amostrados não revelou diferença significativa, muito provavelmente pela diferença da propriedade A ter anulado a diferença da propriedade C. No entanto, ao considerarmos somente as propriedades A e B, onde as coletas foram adequadas, diferença significativa foi encontrada, com o maior número de animais albergando *S. suis* em ambos os sítios (51,88%) em comparação ao número de animais albergando o agente em um único sítio (39,38%) biológico.

6.1.3 Distribuição dos diferentes sorotipos de *S. suis* isolados de suínos clinicamente saudáveis

Altas porcentagens de linhagens de *S. suis* NS, como a encontrada no presente estudo (67,18%), já foram descritas por outros autores. Han et al. (2001) demonstraram prevalência de 47,30% de linhagens NS, recuperadas de suínos saudáveis em idade de abate, na Coreia. Marois et al. (2007) e Brisebois et al. (1990) descreveram, respectivamente, prevalências de 58,00% e 79,00% para linhagens NS isoladas de animais saudáveis. Esses resultados sugerem a perda da cápsula durante o processo de preparo das linhagens para a realização da técnica de coaglutinação, a existência de linhagens não capsulares e/ou a existência de mais de 35 sorotipos da espécie *S. suis* (GOTTSCHALK, 2010* - comunicação pessoal).

Os sorotipos 17, 18, 19, 21 e 22 parecem ser frequentemente recuperados de animais saudáveis (GOTTSCHALK et al., 1991a; FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1998; MAROIS et al., 2007) enquanto diversos estudos demonstram que o sorotipo 2 é bem menos frequente nesses animais (GOTTSCHALK et al., 1991a; FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1996a; AMASS et al., 1998; BAELE et al., 2001; HAN et al., 2001; MAROIS et al., 2007; ZHANG et al., 2009). Os sorotipos 17, 18, 19 e 21 somaram quase 40,00% das linhagens encapsuladas isoladas a partir de suínos portadores saudáveis, em estudo conduzido por Flores et al. (1993), corroborando com os resultados do presente trabalho, no qual os sorotipos 18, 19, 21 e 22 somaram 33,70% das linhagens encapsuladas. Marois et al. (2007), assim como no presente estudo, obtiveram o sorotipo 22 como o mais frequente dentre os sorotipos identificados e os sorotipos 21, 22 e 23 foram os únicos isolados por Amass et al. (1998).

Destaque para o isolamento dos sorotipos 5 (1,20%), 7 (3,50%), 11 (2,30%), 14 (1,20%), 19 (1,20%) e 21 (11,60%), já implicados em casos clínicos em suínos (GOTTSCHALK et al., 1993a; MACLENNAM et al., 1996; SALA et al., 1996; LUQUE et al., 1998a; WISSELINK et al., 2000; PAGNANI et al., 2002; COSTA et al., 2005; DEL'ARCO et al., 2008); para os sorotipos 14 (1,20%) e 16 (3,50%), já descritos como causadores de meningite e outras manifestações clínicas em humanos (NGHIA et al., 2008;

* M. Gottschalk (e-mail, 2010).

POGGENBORG et al., 2008; HALESIS et al., 2009); e para o sorotipo 27 (10,40%), isolado de um humano sadio, no México (ROJAS et al., 2001).

O isolamento de múltiplos sorotipos a partir de um único animal foi anteriormente descrito por alguns autores. Brisebois et al. (1990) isolaram dois sorotipos diferentes de 10,00% dos animais estudados e três sorotipos de 1,00% dos animais, enquanto que Flores et al. (1993) demonstraram 38,00% dos animais albergando dois ou três sorotipos e 6,00% albergando mais de quatro sorotipos diferentes.

Estudos conduzidos com suínos portadores sadios relatam prevalência do sorotipo 2 variando de 0,00% a 4,00% (BRISEBOIS et al., 1990; GOTTSCHALK et al., 1991a; FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1996a; AMASS et al., 1998; BAELE et al., 2001; HAN et al., 2001; MAROIS et al., 2007; ZHANG et al., 2009). ZHANG et al. (2009), avaliando amostras de tonsilas de 1.043 animais, provenientes de 13 diferentes granjas na China, demonstraram prevalência do sorotipo 2 variando, de acordo com a granja, de 1,20% a 10,20%. A prevalência de 10,20% demonstrada pelos autores em uma das propriedades, embora mais elevada do que as encontradas nos demais estudos, ainda é bem inferior à prevalência relatada nos estudos conduzidos com amostras provenientes de animais doentes (HIGGINS et al., 1990; DEL'ARCO et al., 2008).

No Brasil, até o presente momento, dentro do nosso conhecimento, existem quatro trabalhos científicos publicados referentes à prevalência de *S. suis* em suínos portadores sadios, todos concentrados na prevalência do biotipo ou sorotipo 2 (BOSCO et al., 2000; LARA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008; FARIA et al., 2010). BOSCO et al. (2000), em Botucatu, e LARA et al. (2007), em Santa Catarina, trabalhando com animais sadios, utilizaram provas bioquímicas para a diferenciação do biotipo 1 e biotipo 2. LARA et al. (2007) se referem ao biotipo 2, equivocadamente, como *S. suis* sorotipo 2. Como mencionado anteriormente, a classificação de linhagens de *S. suis* em biotipo 1 e 2, com base em provas bioquímicas, é inapropriada (GOTTSCHALK et al., 1991a). Além disso, biotipo não é o mesmo que sorotipo e, até hoje, nenhum padrão bioquímico pôde ser associado a um sorotipo específico (PERCH et al., 1983; GOTTSCHALK et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991b; HIGGINS et al., 1995). Portanto, as prevalências encontradas nos estudos de BOSCO et al. (2000) e LARA et al. (2007) não devem, no nosso entendimento, ser consideradas como prevalências de *S. suis* sorotipo 2.

OLIVEIRA et al. (2008) e FARIA et al. (2010), em estudos realizados com animais sadios em idade de abate no Estado do Mato Grosso, pesquisaram a prevalência de *S. suis* sorotipo 2 através da técnica de PCR utilizando os primers *cps2J* (MAROIS et al., 2004). No entanto, em ambos os estudos, os autores não comentam que esses primers identificam tanto o sorotipo 2 como o sorotipo 1/2. Portanto, a prevalência descrita nesses estudos, na verdade, é a prevalência do sorotipo 2 somada à prevalência do sorotipo 1/2, uma vez que os autores não mencionam a realização da sorotipificação para a posterior diferenciação entre os dois sorotipos.

6.1.4 Suscetibilidade aos antimicrobianos

A proteção incompleta fornecida pelas vacinas atualmente disponíveis torna a antimicrobianoterapia uma prática rotineira nas propriedades de suínos, com o objetivo de tratamento e/ou controle das diversas doenças comuns a esses animais, inclusive as causadas pela espécie *S. suis*. Os agentes antimicrobianos mais utilizados para tratamento e prevenção das infecções por *S. suis* são penicilina, amoxicilina, ampicilina, cefalosporinas, florfenicol, quinolonas e a combinação sulfa-trimetoprim (SOBESTIANSKY et al., 2001).

Resistência bacteriana a diferentes antimicrobianos tem sido relatada em diversos trabalhos envolvendo linhagens de *S. suis* provenientes de casos clínicos (TARRADAS et al., 1994; TURGEON et al., 1994; WASTESON et al., 1994; SEOL et al., 1996; AARESTRUP et al., 1998a; AARESTRUP et al., 1998b; MARIE et al., 2002; VELA et al., 2005, WISSELINK et al., 2006; SALVARANI et al., 2008). No entanto, poucos trabalhos vêm sendo realizados referentes à suscetibilidade aos antimicrobianos de linhagens isoladas de animais portadores sadios (BOSCO et al., 2000; HAN et al., 2001; MARIE et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2008; ZHANG et al., 2008; ZHANG et al., 2009). Diferença no grau de resistência tem sido observada entre diferentes países, sorotipos e ao longo dos anos (AARESTRUP et al., 1998a; AARESTRUP et al., 1998b; MARIE et al., 2002; WISSELINK et al., 2006). A diferença observada entre os países pode ser justificada pela diferença entre as linhagens estudadas ou pelas diferentes metodologias aplicadas para a realização do teste de suscetibilidade aos antimicrobianos (HAN et al., 2001).

Diferentes técnicas de avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos de linhagens de *S. suis* têm sido utilizadas nos diversos estudos (BOSCO et al., 2000; HAN et al., 2001; ZHANG et al., 2008). Marie et al. (2002) estudaram a susceptibilidade de 135 linhagens de *S. suis* isoladas de suínos doentes, clinicamente sadios e humanos a 13 antimicrobianos, através dos métodos de microdiluição (MDM) e difusão pelo sistema de discos (DDM), utilizando ágar Mueller-Hinton (MH) suplementado com sangue desfibrinado caprino (MHSB) e soro equino (MHHS). Os autores obtiveram resultados semelhantes para todos os antimicrobianos testados através do DDM usando MHSB e MHHS, exceto para penicilina G. Um significativo número de linhagens, classificadas como parcialmente sensíveis com o uso do MHSB, foram classificadas como sensíveis com o uso do MHHS. Diferenças significativas foram observadas entre os dois métodos, DDM e MDM para estreptomicina e bacitracina. Nenhuma correlação pôde ser feita entre as proporções de sensibilidade de linhagens de *S. suis* isoladas de animais doentes (n = 83), animais sadios (n = 27) ou humanos (n = 25). No entanto, diferença significativa foi encontrada entre os perfis de susceptibilidade de linhagens sorotipo 2 e linhagens de outros sorotipos. Contraditoriamente, Han et al. (2001) não observaram correlação entre a susceptibilidade aos antimicrobianos e sorotipos do agente.

No presente estudo, o perfil de susceptibilidade das linhagens de *S. suis* aos antimicrobianos foi determinado através do método de difusão pelo sistema de discos, metodologia mais difundida no Brasil, utilizando ágar MH suplementado com sangue bovino.

Os dois antimicrobianos aos quais as linhagens se mostraram mais resistentes foram a tetraciclina (97,69%) e a combinação sulfa-trimetoprim (100,00%). Índices elevados de resistência foram demonstrados para a tetraciclina, em estudos conduzidos por Vela et al. (2005) (95,40%) e Wisselink et al. (2006) (75,00%), envolvendo linhagens clínicas. Contraditoriamente ao resultado obtido no presente estudo, Vela et al. (2005) e Wisselink et al. (2006) demonstraram índices baixíssimos de resistência para a combinação sulfa-trimetoprim (0,00% e 6,00%), respectivamente.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os de outros estudos envolvendo linhagens de *S. suis* isoladas de animais portadores sadios (HAN et al., 2001; MARIE et al., 2002; ZHANG et al., 2009). Em estudo realizado por Marie et al. (2002), todas as

linhagens foram classificadas como sensíveis a amoxicilina, ceftiofur e florfenicol. Han et al. (2001) obtiveram altos índices de sensibilidade a amoxicilina e ceftiofur enquanto Zhang et al. (2008) também demonstraram mais de 50,00% das linhagens resistentes a clindamicina (68,40%), tetraciclina (91,70%) e sulfa-trimetoprim (59,10%). No entanto, os autores descreveram resistência bem mais elevada ao ceftiofur (22,10%) do que a descrita no presente estudo (1,15%). Linhagens isoladas de animais doentes ou sadios, com alto índice de resistência a tetraciclina, macrolídeos, lincosamidas e sulfonamidas, já foram amplamente relatadas (PRIETO et al., 1994; AARESTRUP et al., 1998a,b).

O antimicrobiano mais eficaz dentre os beta-lactâmicos foi a amoxicilina com clavulanato (94,23%), seguido pela cefalexina (84,23%), ampicilina (66,92%) e penicilina (48,85%). Baixos índices de resistência foram observados para amoxicilina com clavulanato (1,15%) e ampicilina (6,54%) enquanto que índices relativamente mais elevados foram demonstrados para a cefalexina (14,23%) e penicilina (18,07%). Índices de sensibilidade muito semelhantes para ampicilina (66,00%) e penicilina (42,30%) foram descritos por Zhang et al. (2009). Os autores demonstraram ainda níveis relativamente mais baixos de resistência à penicilina (9,50%). Contraditoriamente ao presente estudo, 100,00% das linhagens foram sensíveis a penicilina, em estudo conduzido por Marie et al. (2002).

A penicilina e a ampicilina foram, ao longo dos anos, os antimicrobianos de escolha para o tratamento das infecções por *S. suis* (SANFORD E ROSS, 1986). O número elevado de linhagens não sensíveis a penicilina (52,05%) e a ampicilina (33,08%) é particularmente importante. Os altos índices de linhagens, recentemente isoladas, parcialmente sensíveis a penicilina (33,08%) e a ampicilina (26,54%), descritos no presente trabalho, sugere futuro aumento no índice de resistência a esses antimicrobianos.

Resultados semelhantes foram obtidos para outros antimicrobianos, demonstrando índices medianos (> 10,00%) de linhagens parcialmente sensíveis às drogas ciprofloxacino (14,23%), clindamicina (13,08%), doxiciclina (26,92%) e enrofloxacino (11,92%). Esses resultados indicam que esses antimicrobianos, inclusive a penicilina e a ampicilina citados anteriormente, não devam mais ser empiricamente utilizados para o tratamento e/ou controle de infecções por *S. suis*, sugerindo a realização periódica do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos das linhagens recuperadas de animais doentes e portadores sadios, para tratamento e controle, respectivamente.

O índice de resistência ao antimicrobiano enrofloxacino encontrado no presente estudo (43,85%) foi mais elevado do que o encontrado por Zhang et al. (2009) (32,80%) e, inclusive, mais elevado do que os encontrados em estudos realizados com linhagens provenientes de animais doentes na Espanha (2,00%) (VELA et al., 2005) e outros países europeus (0,00%) (WISSELINK et al., 2006).

A porcentagem de linhagens sensíveis ao cloranfenicol (81,92%), antimicrobiano de uso proibido em animais de produção, foi praticamente igual à de linhagens sensíveis ao florfenicol (81,54%), análogo estrutural substituto do cloranfenicol, muito utilizado para tratamento de doenças respiratórias dos suínos. No entanto, a resistência ao florfenicol (16,61%) foi quase duas vezes a resistência descrita para o cloranfenicol (8,46%) e, ainda, superior a demonstrada para linhagens clínicas (WISSELINK et al., 2006) (0,00%). Índices mais elevados de resistência aos dois antimicrobianos foram relatados por Zhang et al. (2009).

No presente estudo, a tetraciclina apresentou um índice de resistência (97,69%) extremamente elevado, semelhante ao observado por Zhang et al. (2009). O percentual de sensibilidade da doxiciclina foi surpreendentemente alto (62,31%) quando comparado com o encontrado por Marie et al. (2002) (21,00%). Dentre as quinolonas, o maior índice de resistência foi observado para o antimicrobiano norfloxacino (76,93%).

A eficácia dos representantes da classe dos macrolídeos variou consideravelmente. A azitromicina apresentou eficácia de 72,69% e a eritromicina de 47,69% contra as linhagens de *S. suis* isoladas dos animais amostrados no presente estudo enquanto que 18,85% e 46,54% das linhagens foram resistentes a azitromicina e eritromicina, respectivamente. Alta resistência a clindamicina (84,61%), representante das lincosamidas, foi observada no presente estudo. Esses resultados são compatíveis com os obtidos em estudo realizado por Marie et al. (2002), no qual índices elevados de resistência a macrolídeos e lincosamidas foram também observados.

6.1.4.1 Multiresistência e perfis de resistência (*resistotypes*)

A porcentagem de linhagens multiresistentes encontrada no presente estudo (99,61%) foi superior à demonstrada por Zhang et al. (2009) (80,10%), além das descritas nos

trabalhos envolvendo linhagens provenientes de casos clínicos (KATAOKA et al., 2000; VELA et al., 2005). Os perfis de resistência mais prevalentes nos estudos de Vela et al. (2005) e Zhang et al. (2009) são formados por quatro e cinco antimicrobianos, respectivamente, enquanto que o perfil de resistência mais prevalente no presente estudo é constituído por oito antimicrobianos. Vela et al. (2005) descreveram 87,40% e 6,00% das linhagens resistentes a pelo menos quatro e seis antimicrobianos, respectivamente enquanto Zhang et al. (2009) obtiveram 56,50% das linhagens resistentes a pelo menos seis antimicrobianos. No presente estudo, 97,70% e 84,62% das linhagens de *S. suis* submetidas ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos foram resistentes, respectivamente, a pelo menos quatro e seis antimicrobianos, índices bem mais elevados quando comparados com os demais estudos, indicando o uso indiscriminado dos antimicrobianos no Brasil.

Os sorotipos de importância já descrita na literatura mundial e nacional, causadores de doenças clínicas em suínos e humanos, apresentaram resistência a quatro a 12 antimicrobianos. Além disso, as linhagens pertencentes ao sorotipo 27, já isolado de um humano sadio, apresentaram resistência a nove, dez ou 16 antimicrobianos. Esses dados sugerem uma possível dificuldade no tratamento tanto de animais quanto de humanos que possam, eventualmente, se infectar e manifestar quadro clínico por linhagens de *S. suis* pertencentes a esses sorotipos.

6.1.5 *S. suis* em humanos

As infecções por *S. suis* parecem não representar um problema sério em saúde pública devido à falta de relato de casos em muitos países. No entanto, sabe-se que a infecção por *S. suis*, em humanos, é sub-diagnosticada, sendo o agente muitas vezes confundido com outros agentes bacterianos (LÜTTICKEN et al., 1986; MICHAUD et al., 1996). Atualmente, a espécie é considerada a causa mais frequente de meningite bacteriana entre adultos, no Vietnã (MAI et al., 2008). A doença é uma zoonose ocupacional que ocorre com maior frequência em países com intensa atividade suinícola e alto consumo de carne de porco, sendo o agente potencialmente perigoso para indivíduos que trabalham diretamente com suínos ou no processamento industrial e comercialização de seus produtos e subprodutos (BUNGENER E BIALEK, 1989; WATKINS et al., 2001), como

funcionários de granjas e abatedouros, pessoas que transportam suínos e carne de porco, açougueiros, veterinários, donas de casa e caçadores de javali (WALSH et al., 1992; HUANG et al., 2005; TANG et al., 2006; MA et al., 2008; RAO et al., 2008).

Kumate e Gutiérrez (1978) definem portador como o indivíduo que alberga o agente infeccioso sem apresentar manifestações clínicas. Segundo os autores, a confirmação do estado de portador de um indivíduo deve ser realizada através de isolamento e identificação do agente em questão. Poucos estudos epidemiológicos envolvendo humanos foram realizados, mundialmente, até o presente momento, com a grande maioria envolvendo magarefes. Strangmann et al. (2002), em estudo conduzido na Alemanha, obtiveram 5,30% dos magarefes portadores de *S. suis* tipo 2 em suas tonsilas. Outros autores relataram também o isolamento de *S. suis* a partir de amostras de tonsilas desse mesmo grupo de risco (SALA et al., 1989; ROJAS et al., 2001). Rojas et al. (2001), no México, isolaram quatro linhagens de *S. suis* de magarefes, uma pertencente ao sorotipo 2, outra ao sorotipo 27 e duas linhagens NS.

Estudo sorológico realizado por Robertson e Blackmore (1989), na Nova Zelândia, comparando a soropositividade para *S. suis* de alguns grupos de risco, demonstrou 10,00% dos inspetores de carne de porco e 21,00% dos produtores de suínos soropositivos para o agente. No entanto, apenas um estudo epidemiológico envolvendo cultivo de amostras de tonsilas de funcionários de granjas foi realizado por Amass et al. (1998). *S. suis* não foi detectado em nenhum humano.

O funcionário do qual a linhagem de *S. suis* foi isolada é um portador sadio que pode propagar o agente e atuar como fonte de infecção, bem como desenvolver quadro clínico quando sofrer queda de sua imunidade por ocasião de outras enfermidades imunossupressoras, desnutrição ou outros fatores. Embora classificada como uma linhagem NS, pode se tratar de um sorotipo ainda desconhecido e causar quadro clínico no indivíduo portador.

6.2 *Salmonella* spp

6.2.1 Ocorrência e distribuição dos sorotipos de *Salmonella* spp

O isolamento de *Salmonella* spp a partir dos linfonodos mesentéricos e tonsilas, segundo Damman et al. (1999), indica o estado de portador dos animais enquanto que o isolamento do agente a partir das fezes indica o estado excretor dos animais.

A coleta de fezes individuais dos animais e fezes de lote tem sido a metodologia mais utilizada para determinar a presença de animais portadores de *Salmonella* spp nas granjas de criação de suínos (MICHAEL et al., 2002; WEISS et al., 2002; WILKINS et al., 2010). Estudos iniciais da excreção deste microrganismo por suínos basearam-se na realização de suabes retais de animais transportados ao matadouro (WILLIAM E NEWELL, 1970).

Weiss et al. (2002) analisaram a ocorrência de *Salmonella* spp em suínos de terminação no Estado do Rio Grande do Sul. Os autores coletaram amostras de fezes individuais dos animais e fezes de lote nas granjas e suabe retal, conteúdo intestinal e linfonodos mesentéricos, dos mesmos animais, ao abate. Das amostras de fezes coletadas nas granjas, 6,40% das fezes de lote e 5,30% das fezes individuais foram positivas para *Salmonella* spp, enquanto que, ao abate, foi possível o isolamento do agente a partir de 5,30% dos conteúdos intestinais e 5,60% dos linfonodos mesentéricos. O lote com maior número de animais positivos na granja correspondeu àquele com maior número de isolamento do agente no abatedouro. No entanto, nenhum animal foi detectado como portador e/ou excretor através do cultivo e isolamento de suabes retais. Esta observação está de acordo com outros estudos que concluíram que a coleta de suabes retais é um método eficiente para o isolamento de *Salmonella* spp a partir de casos clínicos. Para a detecção de animais portadores, onde o título de bactérias excretadas nas fezes é geralmente baixo, este método torna-se pouco sensível (HURD et al. 1999). Nielsen e Baggesen (1997) afirmaram que a quantidade de fezes semeadas nos meios de cultivo tem relação direta com a sensibilidade no isolamento de *Salmonella* spp.

Os procedimentos microbiológicos para o isolamento de *Salmonella* spp de amostras de fezes geralmente incluem etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento em caldo seletivo, plaqueamento em meio semi-sólido, análise bioquímica e sorotipificação

(LITCHFIELD, 1973). As etapas de enriquecimento em caldo seletivo e plaqueamento em meios semi-sólidos são utilizadas para auxiliar na recuperação e no desenvolvimento da bactéria de interesse e para inibir o crescimento de microrganismos competidores (FERNANDES et al., 2004). Segundo Waltman (1998), há três tipos de meios de enriquecimento: caldo Rappaport-Vassiliadis, caldo selenito e caldo tetracionato. A escolha do melhor caldo para detecção ou recuperação de *Salmonella* spp de amostras de fezes é difícil, principalmente, devido à falta de resultados conclusivos descritos na literatura (FRESCHI et al., 2005; PAIVA et al., 2006; SILVA et al., 2008). Murray et al. (2007) sugerem ainda diferença de sensibilidade entre os diferentes caldos de enriquecimento, para a detecção do agente, de acordo com os sorotipos, dificultando ainda mais o delineamento da metodologia diagnóstica.

No presente estudo, as ocorrências de suínos portadores e excretadores saudáveis, provenientes de três diferentes granjas localizadas na região de Bortucatu, São Paulo, foram avaliadas através da coleta de suabes de tonsilas e reto, respectivamente. As baixas ocorrências encontradas, quando comparadas às demonstradas nos demais estudos (MICHAEL et al., 2002; WEISS et al., 2002; WILKINS et al., 2010), podem ser explicadas pela coleta de suabes retais ao invés de fezes, a não realização da etapa de pré-enriquecimento e a realização de uma única coleta por propriedade.

Michael et al. (2002), no Rio Grande do Sul, trabalhando em uma propriedade de suínos de terminação, demonstraram diferença significativa na detecção de *Salmonella* spp a partir de amostras de fezes, entre as duas coletas. A excreção de *Salmonella* spp pelos suínos portadores ocorre geralmente de forma intermitente (FEDORKA-CRAY, 1996), o que poderia explicar a discrepância entre os resultados das duas coletas. Neste sentido, tem sido observado que a repetição de amostragens numa mesma propriedade leva ao aumento do número de animais positivos detectados (CARLSON E BLAHA, 1998).

No estudo de Wilkins et al. (2010), foi encontrada diferença significativa na ocorrência de *Salmonella* spp entre as faixas etárias amostradas, com a maior ocorrência detectada nas matrizes (43,00%), seguindo-se os leitões de creche (29,00%) e leitões de crescimento-terminação (28,00%), indicando que um número significativamente maior de matrizes se comportava, no momento da coleta, como animais excretadores de *Salmonella* spp. Os autores isolaram 19 sorotipos diferentes e múltiplos sorotipos de uma mesma

propriedade e de um mesmo animal. Os cinco sorotipos mais prevalentes foram *S. Derby* (28,50%), *S. Typhimurium* var. Copenhagen (19,40%), *S. Putten* (11,70%), *S. Infantis* (6,70%) e *S. Mbandaka* (6,20%). Diferença significativa foi observada na distribuição dos sorotipos isolados entre as faixas etárias dos animais amostrados.

No Brasil, a maioria dos estudos epidemiológicos tem se concentrado em suínos de terminação (MICHAEL et al., 2002; WEISS et al., 2002) ou animais abatidos (BESSA et al., 2004; CASTAGNA et al., 2004; CASTAGNA et al., 2005; SCHWARZ et al., 2009; SEIXAS et al., 2009; SILVA et al., 2009). Não encontramos, dentro da literatura consultada, estudo que tenha investigado a distribuição de sorotipos de *Salmonella* spp em todas as fases de criação dos suínos no Brasil.

No presente estudo, 19 linhagens do agente, pertencentes a três diferentes sorotipos, foram isoladas de oito animais, dentre os 400 amostrados; seis provenientes de suabes de tonsilas e duas de suabes retais. Não houve isolamento de múltiplos sorotipos de um mesmo animal, apenas dois sorotipos diferentes isolados na propriedade A. O sorotipo mais isolado foi *S. Infantis*, seguido de *S. Typhimurium* e *S. Cerro*. Embora o reduzido número de isolados não nos permita uma real discussão dos resultados e assumindo os valores absolutos encontrados, no presente estudo, diferentemente dos resultados obtidos nos estudos de Wilkins et al. (2010), mencionado anteriormente, e Kranker et al. (2003), os únicos animais que se mostraram excretadores de *Salmonella* spp foram suínos de terminação. Kranker et al. (2003) demonstraram maior excreção do agente em animais desmamados, de crescimento e terminação, tendo sido o agente isolado apenas ocasionalmente de porcas e marrãs.

6.2.2 Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

À exemplo de outros patógenos suínos, resistência e multirresistência a diversos antimicrobianos têm sido relatadas para linhagens de *Salmonella* spp pertencentes a diversos sorotipos (WONDWOSSEN et al., 2000; CASTAGNA et al., 2001; WEISS et al., 2002; VARGA et al., 2008).

No presente estudo, linhagens de *Salmonella* spp, isoladas de suínos sadios, apresentaram resistência aos antimicrobianos doxiciclina (100,00%), tetraciclina (47,37%)

enrofloxacino (21,05%), sulfa-trimetoprim (21,05%), ampicilina (26,32%) e estreptomicina (26,32%). Esses resultados corroboram com os estudos de Castagna et al. (2001) e Weiss et al. (2002), os quais demonstraram resistência de linhagens do agente, pertencentes a diversos sorotipos, a vários antimicrobianos. Multirresistência foi também evidenciada em todos os estudos anteriormente citados.

6.2.3 *Salmonella* spp em humanos

A grande maioria das espécies e sorotipos de *Salmonella* é considerada zoonose. A transmissão ao homem pode ocorrer pelo contato direto com animais e, mais raramente, com outro homem. No entanto, as infecções humanas são mais comumente causadas pela ingestão de alimentos, dentre os quais, os produtos e sub-produtos dos suínos tem grande importância (ACHA E SZYFRES, 2003).

A presença de *Salmonella* spp tanto nos linfonodos e tonsilas quanto nas fezes dos animais abatidos constituem risco para a contaminação cruzada das carcaças na linha de abate. Portanto, quanto maior o número de portadores e/ou excretadores enviados para o abate mais difícil é o controle da contaminação do produto final, fazendo desses animais, um fundamental ponto de controle da contaminação na linha de abate (DAVIES E FUNK, 1999).

O transporte dos animais das granjas para os abatedouros e a espera do abate são fatores que contribuem para uma maior excreção de *Salmonella* spp pelos animais. Desta forma, o contato direto com suínos no momento do abate e a contaminação de seus produtos e sub-produtos conferem maior risco de transmissão do agente ao homem do que os suínos portadores sadios nas granjas. Nesse sentido, estudos têm demonstrado maiores prevalências de animais portadores e excretadores de *Salmonella* spp no momento do abate (BESSA et al., 2004; CASTAGNA et al., 2004;) quando comparado com estudos envolvendo animais sadios de granja (MICHAEL et al., 2002; WEISS et al., 2002; WILKINS et al., 2010).

O não isolamento de *Salmonella* spp a partir dos suabes das mãos dos funcionários das granjas corrobora com conhecimentos prévios de outros autores a respeito das infecções humanas por *Salmonella* spp serem mais comumente causadas pela ingestão de alimentos e

não pelo contato direto com os animais (ACHA E SZYFRES, 2003; BESSA et al., 2004; CASTAGNA et al., 2004).

7 CONCLUSÕES

Alta ocorrência de suínos portadores sadios de *S. suis* foi encontrada no presente estudo, não havendo diferença significativa das ocorrências demonstradas nas diferentes faixas etárias amostradas, indicando que todas as categorias são importantes fontes de infecção para outros animais e o homem e importantes pontos de controle do agente.

O resultado do estudo comparativo dos isolamentos tonsilar e nasal sugere que as cavidades nasais sejam sítios biológicos tão importantes quanto às tonsilas para a detecção de suínos portadores sadios.

O isolamento de ampla variedade de sorotipos de *S. suis* reforça a idéia da necessidade de conhecimento a cerca da distribuição dos sorotipos do agente nos diferentes Estados brasileiros com o objetivo de implantação de medidas eficazes de controle para cada Estado.

A detecção de sorotipos já reconhecidos como causadores de doenças nos animais e no homem reforça a importância dos suínos portadores sadios na epidemiologia do *S. suis*.

A detecção de um funcionário portador sadio de *S. suis*, no primeiro estudo realizado no país envolvendo um número pequeno de humanos, demonstra a necessidade de reforços na educação em saúde dos brasileiros, principalmente dos grupos de risco das infecções causadas pelo agente. Além disso, há a necessidade de maior conhecimento sobre essa espécie zoonótica nos centros de diagnóstico humano, para que o agente não mais seja sub-diagnosticado no país.

O teste de sensibilidade microbiana demonstrou que os antimicrobianos ceftiofur, amoxicilina com clavulanato, cefalexina, cloranfenicol, florfenicol e azitromicina foram os mais eficazes contra as linhagens de *S. suis* isoladas.

Baixas ocorrências de suínos portadores sadios de *Salmonella* spp em suas tonsilas e suínos excretores do agente foram observadas no presente estudo. Os sorotipos isolados dos animais amostrados foram *S. Infantis*, *S. Typhimurium* e *S. Cerro*. Não houve isolamento de *Salmonella* spp a partir dos suabes das mãos dos funcionários das granjas.

Os antimicrobianos amicacina, amoxicilina com clavulanato, cloranfenicol, gentamicina, levofloxacino e norfloxacino foram os mais efetivos contra as linhagens de *Salmonella* spp estudadas.

A alta porcentagem de linhagens de *S. suis* e *Salmonella* spp multirresistentes, demonstrada no presente estudo, indica a continuação do uso indiscriminado de antimicrobianos nos rebanhos suínos brasileiros e alerta para a necessidade da realização do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos de forma rotineira.

8 BIBLIOGRAFIA

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. Microbiol.*, v.60, p.59-66, 1998a.

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

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales*. 3.ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2003. 398p.

ALLEN, A.G.; LINDSAY, H.; SEILLY, D.; BOLITHO, S.; PETERS, S.E.; MASKELL, D.J. Identification and characterisation of hyaluronate lyase from *Streptococcus suis*. *Microbiol. Pathog.*, v.36, p.327-335, 2004.

AMASS, S.F.; CLARK, L.K.; KNOX, K.; WU, C.C.; HILL, M.A. *Streptococcus suis* colonization of piglets during parturition. *Swine Health Prod.*, v.4, n.6, p.269-272, 1996a.

AMASS, S.F.; KREISLE, R.A.; CLARK, A.K.; WU, C.C. A Pilot Study of the Prevalence of *Streptococcus suis* in Pigs and Personnel at Five Indiana Swine Operations. *J. Agromed.*, v.5, n.1, p.17-24, 1998.

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

AMASS, S.F.; STRUVE, R.; CLARK, I.K.; WU, C.C. Cesarean section: A surgical method to derive piglets free of *Streptococcus suis*. *Swine Health Prod.*, v.4, p.196-199, 1996b.

AMASS, S.F.; WU, C.C.; CLARK, L.K. Evaluation os antibiotics for the elimination of the tonsillar Carrier state of *Streptococcus suis* in pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.8, p.64-67, 1996c.

ARENDS, J.P.; HARTWING, N.; RUDOLPHY, M.; ZANEM, H.C. Carrier rate of *Streptococcus suis* capsular type 2 in palatine tonsils of slaughtered pigs. *J. Clin. Microbiol.*, v.20, p.945-947, 1984.

AREND, S.M.; VAN BUCHEM, M.A.; VAN OGTROP, M.L.; THOMPSON, J. Septicaemia, meningitis and spondylodiscitis caused by *Streptococcus suis* type 2. *Infect.*, v.23, p.128, 1995.

ARENDS, J.P.; ZANEN, H.C. Meningitis caused by *Streptococcus suis* in humans. *Rev. Infect. Dis.*, v.10, p.131-137, 1988.

BAELE, M.; CHIERS, K.; DEVRIESE, L.A.; SMITH, H.E.; WISSELINK, H.J.; VANEECHOUTTE, M.; HAESEBROUCK, F. The Gram-positive tonsillar and nasal flora of piglets before and after weaning. *J. Appl. Microbiol.*, v.91, p. 997-1003, 2001.

BAHLOUL, H.; MOFREDJ, A.; MRABET, A.; GINEYT, G.; ROUSSELIER, P. *Streptococcus suis* meningitis after oral contamination? *Med. Mal. Infect.*, v.38, n.5, p.281-282, 2008.

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.

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

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.45, n.4, p.493-496, 1966.

BAUMS, C.G.; KAIM, U.; FULDE, M.; RAMACHANDRAN, G.; GOETHE, R.; VALENTIN-WEIGAND, P. Identification of a Novel Virulence Determinant with Serum Opacification Activity in *Streptococcus suis*. *Infec. Immun.*, v.74, n.11, p.6154-6162, 2006.

BAUMS, C.G.; VALENTIN-WEIGAND, P. Surface-associated and secreted factors of *Streptococcus suis* in epidemiology, pathogenesis and vaccine development. *An. Health Res. Rev.*, v.10, p.65-83, 2009.

BENGA, L.; FRIEDI, P.; VALENTIN-WEIGAND, P. Adherence of *Streptococcus suis* to Porcine Endothelial Cells. *Zoo. Publ. Health.*, v.52, n.9, p.392-395, 2005.

BENGA, L.; FULDE, M.; NEIS, C.; GOETHE, R.; VALENTIN-WEIGAND, P. Polysaccharide capsule and suilysin contribute to extracellular survival of *Streptococcus suis* co-cultivated with primary porcine phagocytes. *Vet. Microbiol.*, v.132, p.211-219, 2008.

BERGE, A.C.; ADASKA, J.M.; SISCHO, W.M. Use of antibiotic susceptibility patterns and pulsed-fields gel electrophoresis to compare historic and contemporary isolates of multi-drug-resistant *Salmonella enteric* subsp *enteric* serovar Newport. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.70, p.318-323, 2004.

BERTHELOT-HÉRAULT, F.; MORVAN, H.; KÉRIBIN, A.M.; GOTTSCHALK, M.; KOBISCH, M. Production of Muraminidase-Released Protein (MRP), Extracellular Factor (EF) and Suilysin by field isolates of *Streptococcus suis* capsular types 2, 1/2, 9, 7 and 3 isolated from swine in France. *Vet. Res.*, v.31, n.5, p.473-479, 2000.

BESSA, M.C.; DA COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v.24, n.2, p.80-84, 2004.

BLUME, V.; LUQUE, I.; VELA, A.I.; BORGE, C.; MALDONADO, A.; DOMÍNGUEZ, L.; TARRADAS, C.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. Genetic and virulence-phenotype characterization of serotypes 2 and 9 of *Streptococcus suis* swine isolates. *Inter. Microbiol.*, v.12, p.161-166, 2009.

BOETNER, A.G.; BINDER, M.; BILLE-HANSEN, V. *Streptococcus suis* infection in Danish pigs and experimental infection with *Streptococcus suis* serotype 7. *Acta Pathol. Microbiol. Immun. Scand. B*, v.95, p.233-239, 1987.

BOSCO, S.M.G.; PEZERICICO, S.B.; CABRAL, K.G.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. *Streptococcus suis* tipo II e perfil de susceptibilidade à antimicrobianos. *Arq. Inst. Biol.*, v.67, n.2, p.157-160, 2000.

BRENNER, D.J. Introduction to the family *Enterobacteriaceae*. In: BALOWS, A. et al. *The Prokaryotes*. 2.ed. Berlin, Germany: Springer-Verlag KG, 1992. p.2760-2774.

BRISEBOIS, L.M.; CHARLEBOIS, R.; HIGGINS, R.; NADEAU, M. Prevalence of *Streptococcus suis* in four to eight week old clinical healthy piglets. *Can. J. Vet. Res.*, v.54, p. 174-177, 1990.

BROWN, A.R.; GEORGE, D.W.; MATTESON, D.K. Vaccinator device for delivering propellant-driven aerosols of *Streptococcus suis* bacterin into the respiratory tracts of swine. *Vaccine*, v.15, n.11, p.1165-1173, 1997.

BUNGENER, W.; BIALEK, R. Fatal *Streptococcus suis* septicemia in a abattoir worker. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v.8, p.306-308, 1989.

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.

BUSQUE, P.; HIGGINS, R.; SÉNÉCHAL, S.; MARCHAND, R.; QUESSY, S. Simultaneous flow cytometric measurement of *Streptococcus suis* phagocytosis by polymorphonuclear and mononuclear blood leukocytes. *Vet. Microbiol.*, v. 63, p.229-238, 1998.

CALDERARO, F.F.; DOTO, D.S.; BACCARO, M.R.; PAIXÃO, R.; GOMES, C.R.; CASTRO, A.F.P.; MORENO, A.M. Detecção dos genes codificadores das proteínas EF, MRP e suilisina em amostras de *Streptococcus suis* sorotipo 2 isoladas em suínos no Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, v.71, n.1, p.15-19, 2004.

CAMPORESE, A.; TIZIANEL, G.; BRUSCHETTA, G.; CRUCIATTI, B.; POMES, A. Human meningitis caused by *Streptococcus suis*: the first case report from north-eastern Italy. *Infez. Med.*, v.15, p.111-114, 2007.

CARLSON, A.R.; BLAHA, T. On-farm *Salmonella*-control procedures – what is known? Investigation into zoonotic *Salmonella* in Minnesota. In: SWINE DISEASE CONFERENCE FOR SWINE PRACTITIONERS, 1998, Iowa. Proceedings... Iowa, 1998. p.141-147.

CASTAGNA, S.M.F.; BESSA, M.C.; CARVALHO, D.A.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Resistência a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* sp. isoladas de suínos abatidos no Estado do Rio Grande do Sul. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.29, p.44-49, 2001.

CASTAGNA, S.M.F.; MULLER, M.; MACAGNAN, M.; RODENBUSCH, C.R.; CANAL, C.W.; CARDOSO, M. Detection of *Salmonella* sp. From porcine origin: a comparison between a PCR method and standard microbiological techniques. *Braz. J. Microbiol.*, v.36, p.373-377, 2005.

CASTAGNA, S.M.F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C.W.; CARDOSO, M. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. *Acta Sci. Vet.*, v.32, p.141-147, 2004.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2004a. *Salmonella surveillance: Annual Summary, 2003.4.5*. Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Ga.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2004b. *National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS): 2002 Human Isolates Final Report*. U.S. Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, Ga.

CHABOT-ROY, G.; WILLSON, P.; SEGURA, M.; LACOUTURES, S.; GOTTSCHALK, M. Phagocytosis and killing of *Streptococcus suis* by porcine neutrophils. *Microb. Pathog.*, v.41, n.1, p.21-32, 2006.

CHANG, B.; WADA, A.; IKEBE, T.; OHNISHI, M.; MITA, K.; ENDO, M.; MATSUO, H.; ASATUMA, Y.; KURAMOTO, S.; SEKIGUSHI, H.; YAMAZAKI, M.; YOSHIKAWA, H.; WATABE, N.; YAMADA, H.; KURITA, S.; IMAI, S.; WATANABE, S. et al. Characteristics of *Streptococcus suis* isolated from patients in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, v.59, p.397-399, 2006.

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

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

CHARLAND N.; KOBISHI, M.; MARTINEAU-DOIZÉ, B.; JACQUES, M.; GOTTSCHALK, M. Role of capsular sialic acid in virulence and resistance to phagocytosis of *Streptococcus suis* capsular type 2. *FEMS J. Immunol. Med. Microbiol.*, v.14, p.195-203, 1996.

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. *Infec. Imm.*, v.68, n.2, p.637-643, 2000.

CHEN, B.; ZHANG, A.; LI, R.; UM, X.; HE, H.; CHEN, H.; JIN, M. Evaluation of the protective efficacy of a newly identified immunogenic protein, HP0272, of *Streptococcus suis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.307, p.12-18, 2010.

CHENG, A.F.; KHIN-THI-OO; LI, E.K.; FRENCH, G.L. Septic arthritis caused by *Streptococcus suis* serotype 2. *J. Infect.*, v.14, n.3, p.237-241, 1987.

CHEUNG, P.Y.; LO, K.L.; CHEUNG, T.T.; YEUNG, W.H.; LEUNG, P.H.; KAM, K.M. *Streptococcus suis* in retail markets: how prevalent is it in raw pork? *Int. J. Food. Microbiol.*, v.127, p.316–320, 2008.

CLIFTON-HADLEY, F.A.; ALEXANDER, T.L.J. The carrier rate and carrier site of *Streptococcus suis* type II in pigs. *Vet. Rec.*, v.107, p.40-41, 1980.

CLIFTON-HADLEY, F.A.; ALEXANDER, T.J.L.; UPTON, I.; DUIUS, W.P.H. Further studies on the subclinical carrier state of *Streptococcus suis* type 2 in pigs. *Vet. Rec.* v.114, p.513-518, 1984.

CLIFTON-HADLEY, F.A.; ENRIGHT, M.R. Factors affecting the survival of *Streptococcus suis* type 2. *Vet. Rec.*, v.117, p.585-587, 1984.

CLOECKAERT, A., BOUMEDINE, K.S.; FLAUJAC, G.; IMBERECHTS, H.; D'HOOGHE, I.; CHASLUS-DANCLA, E. Occurrence of a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104-like antibiotic resistance gene cluster including the *floR* gene in *S. S. enterica* serovar Agona. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, p.1359–1361, 2000.

CLOUTIER, G.; D'ALLAIRE, S.; MARTINEZ, G.; SURPRENANT, C.; LACOUTURE, S.; GOTTSCHALK, M. Epidemiology of *Streptococcus suis* serotype 5 infection in a pig herd with and without clinical disease. *Vet. Microbiol.*, v.97, n.1-2, p.135-151, 2003.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. Twentieth Information Supplement, v.30, n.01, CLSI document M100-S20. USA, 2010.

COSTA, A.T.R.; LOBATO, F.C.F.; ABREU, V.L.V.; ASSIS, R.A.; REIS, R.; UZAL, F.A. Serotyping and evaluation of the virulence in mice of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.*, v.47, n.2, p.113-115, 2005.

DE LA HOZ ADAME, M.E.; DE LA RUBIA MARTIN, F.; DOMINGUEZ FUENTES, B.; GARCIA GIL, D. Acute meningitis caused by *Streptococcus suis*: review of a case in a splenectomized patient. *Ann. Med. Int.*, v.22, n.10, p.507, 2005.

DAMMAN, D.; BAHNSON, P.B.; WEIGEL, R.M. An estimate of *Salmonella* prevalence on Illinois swine farm using mesenteric lymph node cultures. In: 3rd INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *Salmonella* IN PORK, 1999, Washington, DC. Proceedings... Washington, 1999. p.23-125.

DAVIES, P.R.; FUNK, J.A. Epidemiology and control of *Salmonella* in pork - some of questions. In: SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *Salmonella* IN PORK, 1999, Washington. Proceedings... Washington, 1999. p.1-11.

DE MOOR, C.E. Septicaemic infections in pigs caused by haemolytic streptococci of new Lancefield groups designated R, S and T. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.*, v.29, p.272-280, 1963.

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. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.203, p.295-299, 1993.

DEL'ARCO, A.E.; SANTOS, J.L.; BEVILACQUA, P.D.; FARIA, J.E.; GUIMARÃES, W.V. Swine infection by *Streptococcus suis*: a retrospective study. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.4, p.878-883, 2008.

DEVRIESE, L.A.; HAESBROUCK, F. *Streptococcus suis* infections in horses and cats. *Vet. Rec.*, v.130, p.380, 1992.

DEVRIESE, L.A.; HAESBROUCK, F.; DE HERDT, P.; DOM, P.; DUCATELLE, R.; DESMIDT, M.; MESSIER, S.; HIGGINS, R. *Streptococcus suis* infections in birds. *Avian Pathol.*, v.23, p.721-724, 1994.

DEVRIESE, L.A.; SUSTRONCK, B.; MAENHOUR, T.; HAESBROUCK, F. *Streptococcus suis* meningitis in a horse. *Vet. Rec.*, v.127, n.3, p.68, 1990.

DINKLA, K.; ROHDE, M.; JANSEN, W.T.; CARAPETIS, J.R.; CHHATWAL, G.S.; TALAY, S.R. *Streptococcus pyogenes* recruits collagen via surface-bound fibronectin: a novel colonization and immune evasion mechanism. *Mol. Microbiol.*, v.47, p.861-869, 2003.

DOMÍNGUEZ-PUNARO M.C.; SEGURA, M.; CONTRERAS, I.; LACHANCE, C.; HOUDE, M.; LECOURS, M.P.; OLIVIER, M.; GOTTSCHALK, M. *In Vitro* Characterization of the Microglial Inflammatory Response to *Streptococcus suis*, an Important Emerging Zoonotic Agent of Meningitis. *Infec. Immun.*, v.78, n.2, p.5074-5085, 2010.

DOMÍNGUEZ-PUNARO, M.C.; SEGURA, M.; PLANTE, M.M.; LACOUTURES, S.; RIVEST, S.; GOTTSCHALK, M. *Streptococcus suis* Serotype 2, an Important Swine and Human Pathogen, Induces Strong Systemic and Cerebral Inflammatory Responses in a Mouse Model of Infection. *J. Immunol.*, v.179, p.1842-1854, 2007.

DONSAKUL, K.; DEJTHEVAPORN, C.; WITONPANICH, R. *Streptococcus suis* infection: clinical features and diagnostic pitfalls. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.*, v.34, p.154-158, 2003.

DONLAN, R.M.; COSTERTON, J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.15, p.167-193, 2002.

ELLIOTT, S.D.; CLIFTON-HADLEY, F.; TAI, J. Streptococcal infection in young pigs. An immunogenic polysaccharide from *Streptococcus suis* type 2 with particular reference to vaccination against streptococcal meningitis in pigs. *J. Hyg.*, v.85, p.275-285, 1980.

ELLIOTT, S.O.; MCCARTY, M., LANCEFIELD, R.E. Teichoic acids of group D streptococci with special reference to strains from pig meningitis. *J. Exp. Med.*, v.145, p. 490-499, 1977.

ELLIOT, S.D.; TAI, J.Y. The Type-Specific Polysaccharides of *Streptococcus suis*. *J. Exp. Med.*, v.148, p. 1699-1704, 1978.

ENRIGHT, M.R.; ALEXANDER, T.J.L.; CLIFTON-HADLEY, F.A. Role of houseflies (*Musca domestica*) in the epidemiology of *Streptococcus suis* type 2. *Vet. Rec.*, v.121, p.132-133, 1987.

ERICKSON, E.D. Streptococcosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.11, p.1391-1393, 1987.

ESGLEAS, M.; LACOUTURE, S.; GOTTSCHALK, M. *Streptococcus suis* serotype 2 binding to extracellular matrix proteins. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.244, p.33-40, 2005.

ESGLEAS, M.; LI, Y.; HANCOCK, M.A.; HAREL, J.; DUBREUIL, J.D.; GOTTSCHALK, M. Isolation and characterization of a-enolase, a novel fibronectin-binding protein from *Streptococcus suis*. *Microbiol.*, v.154, p.2668-2679, 2008.

EWING, W.H. *Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*. 4.ed. New York: Elsevier Science Publishing. 1986.

FARIA, A.C.S.; SILVA, M.C.; OLIVEIRA FILHO, J.X.; OLIVEIRA, J.T.; DE PAULA, D.A.J.; CHITARRA, C.S.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. Prevalência de *Streptococcus suis* tipo 2 por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase em suínos abatidos no Estado do Mato Grosso. *Cienc. Rural.*, v.40, n.1, p.130-134, 2010.

FARINHA, F.B.; 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.

FEDORKA-CRAY, P.J. The connection between *Salmonella*, swine, and food safety. In: GEORGE A. YOUNG CONFERENCE, 1996, USA. Proceedings... USA, 1996. p. 25-45.

FENG, Y.; PAN, X.; SUN, W.; WANG, C.; ZHANG, H.; LI, X.; MA, Y.; SHAO, Z.; GE, J.; ZHENG, F.; GAO, G.; TANG, J. *Streptococcus suis* Enolase Functions as a Protective Antigen Displayed on the Bacterial Cell Surface. *J. Infect. Dis.*, v.200, p.1583-1592, 2009.

FERNANDES, A.C.; BERCHIERI Jr., A.; OLIVEIRA, G.H.; PEREIRA, G.T. Avaliação de meios de cultivo para o isolamento de *Salmonella*. *Arq. Vet.*, v.20, p.330-337, 2004.

FITTIPALDI, N.; FULLER, T.E.; TEEL, J.F.; WILSON, T.L.; WOLFRAM, T.J.; LOWERY, D.E.; GOTTSCHALK, M. Serotype distribution and production of muramidase-released protein, extracellular factor and suilysin by field strains of *Streptococcus suis* isolated in the United States. *Vet. Microbiol.*, v.139, p.310-317, 2009.

FLORES, J.L.M.; HIGGINS, R.; D'ALLAIRE, S.; CHARETTE, R.; BOUDREAU, M.; GOTTSCHALK, M. Distribution of the different capsular types of *Streptococcus suis* in nineteen swine nurseries. *Can. Vet. J.*, v.34, p.170-171, 1993.

FONGCOM, A.; PRUKSAKORN, S.; NETSIRISAWAN, P.; PONGPRASERT R.; ONSIBUD, P. *Streptococcus suis* infection: a prospective study in Northern Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.*, v.40, n.3, p.511-517, 2009.

FONTAINE, M.C.; PEREZ-CASAL, J.; WILLSON, P.J. Investigation of a Novel DNase of *Streptococcus suis* Serotype 2. *Infec. Immun.*, v.72, n.2, p.774-781, 2004.

FRESCHI, C.R.; CARVALHO, L.F.O.S.; OLIVEIRA, C.J.B. Comparison of DNA-extraction methods and selective enrichment broths on the detection of *Salmonella* Typhimurium in swine feces by polymerase chain reaction (PCR). *Braz. J. Microbiol.*, v.36, p.363-367, 2005.

GALINA, L.; COLLINS, J.E.; PIJOAN, C. Porcine *Streptococcus suis* in Minnesota. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.4, p.195-196, 1992.

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 muraminidase-released protein and extracellular factor. *Can. J. Vet. Res.*, v.60, p.72-74, 1996.

GARIBALDI, M.; RODRÍGUEZ-ORTEGA, M.J.; MANDANICI, F.; CARDACI, A. MIDIRI, A.; PAPASERGI, S.; GAMBADORO, O.; CAVALLARI, V.; TETI, G.; BENINATI, C. Immunoprotective activities of a *Streptococcus suis* pilus subunit in murine models of infection. *Vaccine*, v.28, p.3609-3616, 2010.

GENG, H.; ZHU, L.; YUAN, Y.; ZHANG, W.; LI, W.; WANG, J.; ZHENG, Y.; WEI, K.; CAO, W.; WANG, H.; JIANG, Y. Identification and Characterization of Novel Immunogenic Proteins of *Streptococcus suis* Serotype 2. *J. Prot. Res.*, v.7, p.4132-4142, 2008.

GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; BOURDREAU, M. Use of polyvalent coagglutination reagents for serotyping of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.*, v.31, p.2192-2194, 1993a.

GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; JACQUES, M. Production of capsular material by *Streptococcus suis* serotype 2 under different growth conditions. *Can. J. Vet. Res.*, v.57, p.49-52, 1993b.

GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; JACQUES, M.; BEAUDOIN, M.; HENRICHSEN, J. Isolation and Characterization of *Streptococcus suis* capsular types 9-22. *J. Vet. Diagn. Investig.*, v.3, p.60-65, 1991a.

GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; JACQUES, M.; BEAUDOIN, M.; HENRICHSEN, J. Characterization of six new capsular types (23 through 28) of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.*, v.29, p.2590-2594, 1991b.

GOTTSCHALK, M.; HIGGINS, R.; JACQUES, M.; MITTAL, K.R.; HENRICHSEN, J. Description of 14 new capsular types of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.*, v.27, p.2633-2636, 1989.

GOTTSCHALK, M.; LACOUTURE, S.; DUBREUIL, J.D. Characterization of *Streptococcus suis* capsular type 2 haemolysin. *Microbiol.*, v.141, p.189-195, 1995.

GOTTSCHALK, M.; LEBRUN, A.; WISSELINK, H.; DUBREUIL, J.D.; SMITH, H.; VECTH, 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.; 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, 1991c.

GOTTSCHALK, M.; SEGURA, M. The pathogenesis of meningitis caused by *Streptococcus suis*: the unresolved questions. *Vet. Microbiol.*, v.76, n.3, p.259-272, 2000.

GOTTSCHALK, M.; SEGURA, M.; XU, J. *Streptococcus suis* infections in humans: the Chinese experience and the situation in North America. *Anim. Health Res.*, v.8, p.29-45, 2007.

GRAY, J.T.; STABEL, T.J.; FEDORKA-CRAY, P.J. Persistence of *Salmonella choleraesuis* in swine. *Am. J. Vet. Res.*, v.57, 1996.

GRAZIANI, C.; BUSANI, L.; DIONISI, A.M.; LUCARELLI, C.; OWZCAREK, S.; RICCI, A.; MANCIN, M.; CAPRIOLI, A.; LUZZI, I. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from human and animal sources in Italy. *Vet. Microbiol.*, v.128, n.3-4, p.414-418, 2008.

GRENIER, D.; GRIGNON, L.; GOTTSCHALK, M. Characterization of biofilm formation by a *Streptococcus suis* meningitis isolate. *Vet. J.*, v.179, p.292-295, 2009.

GREEF, A.; BUYS, H.; VERHAAR, R.; DIJKSTRA, J.; VAN ALPHEN, L.; SMITH, H.E. Contribution of Fibronectin-Binding Protein to Pathogenesis of *Streptococcus suis* Serotype 2. *Infect. Immun.*, v.70, n.3, p.1319-1325, 2002.

GRUENING, P.; FULDE, M.; VALENTIN-WEIGAND, P.; GOETHE, R. Structure, Regulation, and Putative Function of the Arginine Deiminase System of *Streptococcus suis*. *J. Bacteriol.*, v.188, n.2, p.361-369, 2006.

GUPTA, A.; FONTANA, J.; CROWE, C.; BOLSTORFF, B.; STOUT, A.; VAN DUYN, S.; HOEKSTRA, M.P.; WHICHARD, J.M.; BARRETT, T.J.; ANGULO, F.J. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enteric* serotype Newport infections resistant to expanded-spectrum cephalosporins in the United States. *J. Infect. Dis.*, v.188, p.1707-1716, 2003.

HALBUR, P.; THANAWONGNUWECH, R.; BROWN, G.; KINYON, J.; ROTH, J.; THACKER, E.; THACKER, B. Efficacy of Antimicrobial Treatments and Vaccination Regimens for Control of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and *Streptococcus suis* Coinfection of Nursery Pigs. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, n.3, p.1156-1160, 2000.

HALESIS, A.; ALFA, M.; GOTTSCHALK, M.; BERNARD, K.; RONALD, A.; MANICKAM, K. Meningitis caused by *Streptococcus suis* serotype 14, North America. *Emerg. Infect. Dis.*, v.15, n.2, p.350-352, 2009.

HAN, D.U.; CHOI, C.; HAM, H.J.; JUNG, J.H.; CHO, W.S.; KIM, J.; HIGGINS, R.; CHAE, C. Prevalence, capsular type and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from slaughter pigs in Korea. *Can. J. Vet. Res.*, v.65, p.151-155, 2001.

HEATH, P.J.; HUNT, B.W.; DUFF, J.P.; WILKINSON, J.D. *Streptococcus suis* serotype 14 as a cause of of pig disease in the U.K. *Vet. Rec.*, v.139, n.18, p.450-451, 1996.

HEIDT, M.C.; MOHAMED, W.; HAIN, T.; VOGT, P.R.; CHAKRABORT, T.; DOMANN, E. Human infective endocarditis caused by *Streptococcus suis* serotype 2. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.9, p.4898-4901, 2005.

HIDALGO, A.; ROPER, F.; PALACIOS, R.; GARCIA, V.; SANTOS, J. Meningitis due to *Streptococcus suis* with no contact with pigs or porcine products. *J. Infect.*, v.55, n.5, p.478, 2007.

HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M. An update on *Streptococcus suis* identification. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.2, p. 249-252, 1990.

HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types in Canada in 1992. *Can. Vet. J.*, v.34, p.442, 1993.

HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types in 2000. *Can. Vet. J.*, v.42, p.223, 2001.

HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M. Streptococcal Diseases. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.T.; TAYLOR, D.J. *Diseases of Swine*. Iowa: Iowa State University, 2005. p.769-783.

HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M.; BEAUDOIN, M.; RAWLUK, S.A. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types in Quebec and western Canada. *Can. Vet. J.*, v.33, p.27-30, 1992.

HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M.; BOUDREAU, M.; LEBRUN, A.; HENRICHSEN, J. Description of six new capsular types (29–34) of *Streptococcus suis*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.7, p.405–406, 1995.

HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M.; MITTAL, K.R.; BEAUDOIN, M. *Streptococcus suis* infection in swine. A sixteen month study. *Can. J. Vet. Res.*, v.54, p.170-173, 1990.

HILL, J.E.; GOTTSCHALK, M.; BROUSSEAU, R.; HAREL, J.; HEMMINGSEN, S.M.; GOH, S.H. Biochemical analysis, *cpn60* and 16S rDNA sequence data indicate that *Streptococcus suis* serotypes 32 and 34, isolated from pigs, are *Streptococcus orisratti*. *Vet. Microbiol.*, v.107, n.1-2, p.63-69, 2005.

HO, A.K.C.; WOO, K.S.; TSE, K.K.; FRENCH, G.L. Infective endocarditis caused by *Streptococcus suis* serotype 2. *J. infect.*, v.21, n.2, p.209-211, 1990.

HOLT, M.E.; EMRIGHT, M.R.; ALEXANDER, T.J.L. Studies of the protective effect of different fraction of sera from pigs immune to *Streptococcus suis* serotype 2 infection. *J. Comp. Path.*, v.100, n.4, p.435-442, 1989.

HOMMEZ, J.; WULLEPIT, J.; CASSIMON, P.; CASTRICK, F.; CEYSSENS, K.; DEVRIESE, L.A. *Streptococcus suis* and other streptococcal species as a cause of extramammary infection in ruminants. *Vet. Rec.*, v.123, p.626-627, 1988.

HUANG, Y.T.; TENG, L.J.; HO, S.W.; HSUEH, P.R. *Streptococcus suis* infection. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, v.38, n.5, p.306-313, 2005.

HURD, H.S., SCHLOSSER, W.D.; EBEL, E.D. The effect of intermittent shedding on prevalence estimation in populations. In: 3rd SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *Salmonella* IN PORK, 1999, Washington, DC. Proceedings... Washington, 1999. p. 57-62.

ISHIGAKI, K.; NAKAMURA, A.; IWABUCHI, S.; KODERA, S.; OOE, K.; KATAOKA, Y.; AIDA, Y. A Case of *Streptococcus suis* Endocarditis, Probably Bovine-transmitted, Complicated by Pulmonary Embolism and Spondylitis. *J. Japanese Infect. Dis.*, v.83, n.5, p.544-548, 2009.

JACOBS, A.A.; LOEFFEN, P.L.; VAN DEN BERG, A.L.; STORM, P.K. Identification, purification and characterization of a thiol-activated hemolysin (suilysin) of *Streptococcus suis*. *Infect. Immun.*, v.62, p.1742-1748, 1994.

JACOBS, A.A.; VAN DEN BERG, A.J.; BAARS, J.C.; NIELSEN, B.; JOHANNSEN, L.W. Production of suilysin, the thiol-activated haemolysin of *Streptococcus suis* by field isolates from diseased pigs. *Vet. Rec.*, v.137, p.295-296, 1995.

JACOBS, A.A.C.; VAN DEN BERG, A.J.G.; LOEFFEN, P.L.W. Protection of experimentally infected pigs by suilysin, the thiol-activated haemolysin of *Streptococcus suis*. *Vet. Rec.*, v.7, n.139, p.225-228, 1996.

JOBIN, M.C.; BRASSARD, J.; QUESSY, S.; GOTTSCHALK, M.; GRENIER, D. Acquisition of host plasmin activity by the swine pathogen *Streptococcus suis* serotype 2. *Infect. Immun.* v.72, p.606-610, 2004.

JOBIN, M.C.; GRENIER, D. Identification and characterization of four proteases produced by *Streptococcus suis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.220, p.113-119, 2003.

JU, Y.; HAO, H.J.; XIONG, G.H.; GENG, H.R.; ZHENG, Y.L.; WANG, J.; CAO, Y.; YANG, Y.H.; CAI, X.H.; JIANG, Y.Q. Development of colloidal gold-based immunochromatographic assay for rapid detection of *Streptococcus suis* serotype 2. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.133, p.207-211, 2010.

KANKRER, S.; ALBAN, L.; BOES, J.; DAHL, J. Longitudinal Study of *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Infection in Three Danish Farrow-to-Finish Swine Herds. *J. Clin. Microbiol.*, v.41, n.6, p.2282-2288, 2003.

KATAOKA, Y.; SUGIMOTO, C.; NAKAZAWA, M.; KASHIWAZAKI, M. Detection of *Streptococcus suis* type 2 in tonsils of slaughtered pigs using improved selective and differential media. *Vet. Microbiol.*, v.28, n.4, p.335-342, 1991.

KATAOKA, Y.; SUGIMOTO, C.; NAKAZAWA, M.; MOROZUMI, T.; KASHIWAZAKI, M. The epidemiological studies of *Streptococcus suis* infections in Japan from 1987 to 1991. *J. Vet. Med. Sci.*, v.55, p.623-626, 1993.

KATAOKA, Y.; YOSHIDA, T.; SAWADA, T. A 10-year survey of antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolates from swine in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, v.62, p.1053-1057, 2000.

KATSUMI, M.; KATAOKA, Y.; TAKAHASHI, 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.

KENNEDY, K.J.; JADEER, A.A.; ONG, C.W.; SENANAYAKE, S.N.; COLLIGNON, P.J. Two cases of *Streptococcus suis* endocarditis in Australian piggery workers. *Med. J. Aust.*, v.189, n.7, p.413, 2008.

KEYMER, I.F.; HEATH, S.E.; WOOD, J.G. *Streptococcus suis* type II infection in a raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) family Canidae. *Vet. Rec.*, v.113, n.26-27, p.624, 1983.

KILPPER-BÄLZ, R.; SCHLEIFER, K.H. *Streptococcus suis* sp. nov., nom. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v.37, p.160-162, 1987.

KING, S.J.; HEATH, P.J.; LUQUE, I.; TARRADAS, C.; DOWSON, C.G.; WHATMORE, A.M. Distribution and Genetic Diversity of Suilysin in *Streptococcus suis* Isolated from Different Diseases of Pigs and Characterization of the Genetic Basis of Suilysin Absence. *Infect. Immun.*, v.69, n.12, p.7572-7582, 2001.

KOPIC, J.; TOMIC PARADZIK, M.; PANDAK, N. *Streptococcus suis* infection as a cause of severe illness: 2 cases from Croatia. *Scand. J. Infect. Dis.*, v.34, n.9, p.683-684, 2002.

KUMATE, J.; GUTIÉRREZ, G. Manual de Infectología. 6a ed. México (D.F.): Edición Médica del Hospital Infantil de México, 1978.

LALONDE, M., SEGURA, M.; LACOUTURE, S.; GOTTSCHALK, M. Interactions between *Streptococcus suis* serotype 2 and different epithelial cell lines. *Microbiol.*, v.146, p.1913-1921, 2000.

LARA, A.C.; MORES, M.A.Z.; SONCINI, R.A.; ALBERTON, G.C. Prevalência de *Streptococcus suis* sorotipo 2 em tonsilas de suínos sadios em idade de abate no Estado de Santa Catarina. *Arch. Vet. Sci.*, v.12, n.2, p.31-34, 2007.

LEE, G.T.; CHIU, C.Y.; HALLER, B.L.; DENN, P.M.; HALL, C.S.; GERBERDING, J.L. *Streptococcus suis* meningitis, United States. *Emerg. Infect. Dis.*, v.14, n.1, p.183-185, 2008.

LE MENEZ, M.; KOBISCH, M.; SANDERS, P. Infection porcine a *Streptococcus suis* dans le departement des Cotes-du-Nord. Methodes d'identification et repartition des differents serotypes rencontres. *Rec. MMd. Vet.*, v.161, p.353-359, 1985.

LE MINOR, L. The genus *Salmonella*. In: BALOWS, A. et al. *The Prokaryotes*. 2.ed. Berlim, Germany: Springer-Verlag KG, 1992. p.2760-2774.

LI, Y.; GOTTSCHALK, M.; ESGLEAS, M.; LACOUTURE, S.; DUBREUIL, J.D.; WILLSON, P.; HAREL, J. Immunization with Recombinant Sao Protein Confers Protection against *Streptococcus suis* Infection. *Clin. Vaccine Immunol.*, v.14, n.8, p.937-943, 2007.

LI, Y.; MARTINEZ, G.; GOTTSCHALK, M.; LACOUTURE, S.; WILLSON, P.; DUBREUIL, J.D.; JACQUES, M.; HAREL, J. Identification of a Surface Protein of *Streptococcus suis* and Evaluation of Its Immunogenic and Protective Capacity in Pigs. *Infec. Immun.*, v.74, n.1, p.305-312, 2006.

LITCHFIELD, J.H. *Salmonella* and the food industry: methods for isolation, identification and enumeration. *Crit. Rev. Food Technol.*, v.3, p.415-456, 1973.

LITTLE, C.L.; RICHARDSON, J.F.; OWEN, R.J.; DE PINNA, E.; THRELFALL, E.J. *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003-2005. *Food Microbiol.*, v.25, p.538-543, 2008.

LUN, Z.R.; WANG, Q.P.; CHEN, X.G.; LI, A.X. ZHU, X. Q. *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen. *Lancet Infect. Dis.*, v.7, p.201-209, 2007.

LUQUE, L.; TARRADAS, C.; ARENAS, A.; MALDONADO, A.; ASTORGA, R.; PEREA, A. *Streptococcus suis* serotypes associated with different disease conditions in pigs. *Vet Rec.*, v.142, p.726-727, 1998a.

LUQUE, L.; TARRADAS, C.; ASTORGA, R.; PEREA, A. The presence of muramidase released protein and extracellular factor protein in various serotypes of *Streptococcus suis* isolated from diseased and healthy pigs in Spain. *Res. Vet Sci.*, v.66, p.69-72, 1998b.

LÜTTICKEN, R.; TEMME, N.; HAHN, G.; BARRELHEIMER, E.W. Meningitis caused by *Streptococcus suis*: case report and review of the literature. *Infection*, v.14, n.4, p.181-185, 1986.

MA, E.; CHUNG, P.H.; SO, T.; WONG, L.; CHOI, K.M.; CHEUNG, D.T.; KAM, K.M.; CHUANG, S.K.; TSANG, T. *Streptococcus suis* infection in Hong Kong: an emerging infectious disease? *Epidemiol. Infect.*, v.136, n.12, p.1691-1697, 2008.

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

MADSEN, L.W.; BOYE, M.; JENSE, H.E. An enzyme-based in situ hybridisation method for the identification of *Streptococcus suis*. *APMIS*, v.109, p.665-669, 2001.

MADSEN, L.W.; SVENSMARK, B. ELVESTAD, K.; AALBACK, B.; JENSEN, H.E. *Streptococcus suis* serotype 2 infection in pigs: new diagnostic and pathogenic aspects. *Comp. Pathol.*, v.126, n.1, p.57-65, 2002

MADUREIRA JÚNIOR, S.; SONCINI, R. Meningite estreptocócica, experiência da agroindústria. In: SIMPÓSIO SOBRE MENINGITE ESTREPTOCÓCICA SUÍNA E PLEUROPNEUMONIA SUÍNA, 1999, Lages. Anais... Lages: Embrapa, CNPSA, 1999. p.24-27.

MAI, N.T.; HOA, N.T.; NGA, T.V. *Streptococcus suis* meningitis in adults in Vietnam. *Clin. Infect. Dis.*, v.46, p.659-667, 2008.

MANZIN, A.; PALMIERI, C.; SERRA, C.; SADDI, B.; PRINCIVALLI, M.S.; LOI, G.; ANGIONI, G.; TIDDIA, F.; VARALDO, P.E.; FACINELLI, B. *Streptococcus suis* Meningitis without History of Animal Contact, Italy. *Emerg. Infect. Dis.*, v.14, n.2, p.1946-1947, 2008.

MARGARET, I.P.; FUNG, K.S.C.; CHI, F.; CHEUK, E.S.C.; CHAU, S.S.L.; WONG, B.W.H.; LUI, S.L.; HUI, M.; LAI, R.W.M.; CHAN, P.K.S. *Streptococcus suis* in Hong Kong. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, v.57, p.15-20, 2007.

MARIE, J.; MORVAN, H.; BERTHELOT-HÉRAULT, F.; SANDERS, P.; KEMPF, I.; GAUTIER-BOUCHARDON, A.V.; JOUY, E.; KOBISCH, M. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from swine in France and from humans in different countries between 1996 and 2000. *J. Antimicrob. Chemot.*, v.50, p.201-209, 2002.

MAROIS, C.; BOUGEARD, S.; GOTTSCHALK, M.; KOBISCH, M. Multiplex PCR assay for detection of *Streptococcus suis* species and serotypes 2 and 1/2 in tonsils of live and dead pigs. *J. Clin. Microbiol.*, v.42, p.3169-3175, 2004.

MAROIS, C.; LE DEVENDEC, L.; GOTTSCHALK, M.; KOBISCH, M. Detection and molecular typing of *Streptococcus suis* in tonsils from live pigs in France. *Can. J. Vet. Res.*, v.71, p.14-22, 2007.

MAZOKOPAKIS, E.E.; KOFTERIDIS, D.P.; PAPADAKIS, J.A.; GIKAS, A.H.; SAMONIS, G.J. First case report of *Streptococcus suis* septicaemia and meningitis from Greece. *Eur. J. Neurol.*, v.12, n.6, p.487-489, 2005.

MCLENDON, B.F.; BRON, A.J.; MITCHELL, C.J. *Streptococcus suis* type II (group R) as a cause of endophthalmitis. *Br. J. Ophthalmol.*, v.62, p.729-731, 1978.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; MCCAIG, L.F.; BRESEE, J.S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. *Emerg. Infect. Dis.*, v.5, n.5, p.607-625, '999.

MESSIER, S.; LACOUTURE, M.; GOTTSCHALK, M. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types from 2001 to 2007. *Can. Vet. J.*, v.49, n.5, p.461-462, 2008.

MICHAEL, G.B.; SIMONETI, R.; CARDOSO, M.R.I.; DA COSTA, M. Sorotipos de *Salmonella* Isolados em uma propriedade de suínos de terminação no sul do Brasil. *Ciênc. Rural*, v.32, n.3, p.525-527, 2002.

MICHAUD, S.; DUPerval, R.; HIGGINS, R. *Streptococcus suis* meningitis: first case reported in Quebec. *Can. J. Infecy. Dis.*, v.7, n.3, p.329-331, 1996.

MOREAU, A.; HIGGINS, R.; BIGRAS-POULIN, M.; NADEAU, M. Rapid detection of *Streptococcus suis* serotype 2 in weaned pigs. *Am. J. Vet. Res.*, v.50, n.10, p.1667-1671, 1989.

MURRAY, M.J. *Salmonella*: virulence factors and enteric salmonellosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.189, p.145-147, 1986.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J.H.; LANDRY, M.L.; PFALLER, M.A. *Manual of Clinical Microbiology*. 9.ed. Washington: ASM Press, 2007. v.1. 1267p.

NAGEL, A.; MANIAS, V.; BUSQUETS, N.; SNIADOWSKY, S.; ANZARDI, J.; MENDEZ, E. Meningitis por *Streptococcus suis* en un paciente inmunocompetente. *Rev. Arq. Microbiol.*, v.40, p.158-160, 2008.

NGHIA, H.D.T.; HOA, N.T.; LINH, D.; CAMPBELL, J.; DIEP, T.S.; CHAU, N.V.; MAI, N.T.; HIEN, T.T.; SPRATT, T.T.; FARRAR, J.; SCHULTSZ, C. Human case of *Streptococcus suis* serotype 16 infection. *Emerg. Infect. Dis.*, v.14, n.1, p.155-157, 2008.

NIELSEN, B.; BAGGESEN, D.L. Update on laboratory diagnosis of subclinical *Salmonella* infection in pigs. In: 2nd SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *Salmonella* IN PORK, 1997, Copenhagen, Dinamarca. Proceedings... Copenhagen, 1997. p. 19-25.

NORTON, P.M.; ROLPH, C.; WARD, P.N.; BENTLEY, R.W.; LEIGH, J.A. Epithelial invasion and cell lysis by virulent strains of *Streptococcus suis* is enhanced by the presence of suilysin. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, v.26, p.25-35, 1999.

OKWUMABUA, O.; ABDELMAGID, O.; CHENGAPPA, M.M. Hybridization analysis of the gene encoding a hemolysin (suilysin) of *Streptococcus suis* type 2: evidence for the absence of the gene in some isolates. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.181, p.113-121, 1999.

OKWUMABUA, O.; O'CONNOR, M.; SHULL, E. A polymerase chain reaction (PCR) assay for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.218, n.1, p.79-84, 2003.

OKWUMABUA, O.; PERSAUD, J.S.; REDDY, P.G. Cloning and Characterization of the Gene Encoding the Glutamate Dehydrogenase of *Streptococcus suis* Serotype 2. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, v.8, n.2, p.251-257, 2001.

OLIVEIRA, J.T. *Prevalência e sensibilidade aos antimicrobianos de Streptococcus suis sorotipo 2 em suínos abatidos em frigoríficos de Mato Grosso*. 2008. 60f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá-MT, Brasil.

PAGNANI, K.J.R.; CASTRO, A.F.P.; GOTTSCHALK, M.; SILVEIRA, W.D.; NAKAZATO, G. Sorotipagem de amostras de *Streptococcus suis* isoladas de suínos em granjas dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná. *Pesq. Vet. Bras.*, v.22, p.1-5, 2002.

PAIVA, J.B.; STERZO, E.V.; RIBEIRO, S.A.; PEREIRA, E.A.; JUNIOR, A.B. Isolamento de *Salmonella*: comparação das etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento direto de amostras de fezes armazenadas por 24 e 96 horas. *Arq. Inst. Biol.*, v.73, p.263-269, 2006.

PEETERMANS, W.E.C.; MOFFIE, B.G.; THOMPSON, J. Bacterial endocarditis caused by *Streptococcus suis* type 2. *J. Infect. Dis.*, v.159, p.595-596, 1989.

PERCH, B.; PEDERSEN, K.B.; HENRICHSEN, J. Serology of capsulated streptococci pathogenic for pigs: six new serotypes of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.*, v.17, p.993-996, 1983.

PERCH, B.; KRISTJANSEN, B.; SKADHAUGE, K. Group R streptococci pathogenic for man. Two cases of meningitis and one fatal case of sepsis. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, v.74, p.69-76, 1968.

POGGENBORG, R.; GAÏNI, S.; KJAELDGAARD, P.; CHRISTENSEN, J.J. *Streptococcus suis*: meningitis, spondylodiscitis and bacteraemia with a serotype 14 strain. *Scand. J. Infect. Dis.*, v.40, n.4, p.346-349, 2008.

POPOFF, M.Y.; BOCKEMÜHL, J.; BRENNER, F.W. Supplement 1997 (no. 41) to the Kauffmann-White scheme. *Res. Microbiol.*, v.149, n.8, p.601-604, 1998.

PRIETO, C.; GARCIA, F.J.; SUAREZ, P.; IMAZ, M.; CASTRO, J.M. Biochemical traits and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from slaughtered pigs. *Zentralbl. Veterinarmed. B.*, v.41, n.9, p.608-617, 1994.

QUESSY, S.; BUSQUE, P.; HIGGINS, R.; JACQUES, M.; DUBREUIL, J.D. Description of an albumin binding activity for *Streptococcus suis* serotype 2. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.147, p.245-250, 1997.

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

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B. *Clinical Veterinary Microbiology*. London: Wolf, 1994. 648p.

RAO, S.S.; MARIATHAS, A.; TEARE, L. Meningitis in a butcher. *Emerg. Med. J.*, v.25, p.607-608, 2008.

REEVES, M.W.; EVINS, G.M.; HEIBA, A.A.; PLIKAYTIS, B.D.; FARMER, J.J. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. *J. Clin. Microbiol.*, v.27, p.313-320, 1989.

REIS, R.; NASCIMENTO, E.F.; COELHO, A.M.B.; LEITE, R.C. Meningoencefalite estreptocócica em leitões desmamados. *Arq. Esc. Vet., UFMG*, v.32, n.3, p.375-381, 1980.

RIVA, E.; LIMA, C.B.L.; MARTINI, K.C.; MARTINS, L.A. Infecção por *Streptococcus suis*: uma revisão. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar.*, v.11, n.2, p.167-170, 2008.

ROBERTSON, I.D.; BLACKMORE, D.K. The detection of pigs carrying *Streptococcus suis* type 2. *N. Z. Vet. J.*, v.35, p.1-4, 1987.

ROBERTSON, I.D.; BLACKMORE, D.K. Occupational exposure to *Streptococcus suis* type 2. *Epidem. Inf.*, v.103, p.157-164, 1989.

ROBERTSON, I.D.; BLACKMORE, D.K. Experimental studies on the comparative infectivity and pathogenicity of *Streptococcus suis* type 2. II. Porcine and human isolates in laboratory animals. *Epidem. Infec.*, v.105, p.479-484, 1990.

ROBERTSON, I.D.; BLACKMORE, D.K.; HAMPSON, D.J.; FU, Z.F. A longitudinal study of natural infection of piglets with *Streptococcus suis* types 1 and 2. *Epidemiol. Infect.*, v.107, p.119-126, 1991.

ROELS, S.; DEVROYE, O.; BUYS, H.; SMITH, H.; BUTAYE, P. Isolation of *Streptococcus suis* from a cat with meningoencephalitis. *Vet. Microbiol.*, v.136, n.1-2, p.206-207, 2009.

ROJAS, M.T.; GOTTSCHALK, M.; ORDÓÑEZ, V.V. Evaluación de la virulencia y serotipos de *Streptococcus suis* aislados de trabajadores de rastros en el valle de Toluca, Estado de México, México. *Vet. Méx.*, v.32, n.3, p. 201-205, 2001.

ROSENKRANZ, M.; ELSNER, H.A.; STURENBURG, H.J.; WEILLER, C.; ROTHER, J.; SOBOTTKA, I. *Streptococcus suis* meningitis and septicemia contracted from a wild boar in Germany. *J. Neurol.*, v.250, p.869-870, 2003.

RUSMEECHAN, S.; SRIBUSARA, P. *Streptococcus suis* meningitis: the newest serious infectious disease. *J. Med. Assoc. Thai.*, v.91, n.5, p.654-658, 2008.

SALA, V.; COLOMBO, A.; GEROLA, L. Infection risks of *Streptococcus suis* type 2 localizations in slaughtered swines. *Arch. Vet. Ital.*, v.40, n.3, p.180-184, 1989.

SALA V.; ANTONINI, M.; VISCHI, O.; ANSUINI, A.; GUADAGNINI, P.; CONEDERA, G.; FABBI, M.; PERINNI, S. Distribution of capsular types and hemolysin production of *Streptococcus suis* isolates in Northern Italy. In: PROC 14TH INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOC CONG, 1996, Bologna, Italy. Proceedings... Bologna, 1996. p.307.

SALASIA, S.I.O.; LAMMLER, C. Distribution of serotype, virulence markers and further characteristics of *Streptococcus suis* isolates from pigs. *Zentralbl Vet. B.*, v.42, n.2, p.78-83, 1995.

SALASIA, S.I.O.; LAMMLER, C.; HERMANN, G. Properties of a *Streptococcus suis* isolate of serotype 2 and two capsular mutants. *Vet. Microbiol.*, v.45, n2-3, p.151-156, 1995.

SALGADO, C.J.L.; SANTOS, J.L.; GUIMARÃES, W.V. Avaliação de uma bacterina autógena contra meningite estreptocócica em suínos. *Act. Sci. Vet.*, v.31, n.3, p.171-177, 2003.

SALVARANI, F.M.; PINTO, F.F.; LOBATO, F.C.F.; ASSIS, R.A.; GONÇALVES, L.A.; MARTINS, N.E.; CLEMENTINO, I.J.; COSTA, A.T. Concentração inibitória mínima (CIM) de oito antimicrobianos frente isolados de *Streptococcus suis*. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.45, n.1, p.41-47, 2008.

SANFORD, S.E.; HIGGINS, R. Streptococcal diseases. In: LEMAN, A.D.; STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D.J. *Diseases of Swine*. 7ed. Iowa: Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1992. chap.48, p.588-599.

SANFORD, S.E.; ROSS, R.F. Streptococcal diseases. In: LEMAN, A.D.; STRAW, B.; GLOCK, R.D.; MENGELING, W.L.; PENNY, R.H.C.; SCHOLL, E. *Diseases of Swine*. 6.ed. Iowa: Iowa State University Press, 1986. p.607-610.

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 (ABRAVES), 1999, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte, 1999. p.239-240.

SCHMITT, C.S.; HALBUR, P.G.; ROTH, J.A.; KINYON, J.M.; KASORNDORKBUA, C.; THACKER, B. Influence of ampicillin, ceftiofur, attenuated live PRRSV vaccine, and reduced dose *Streptococcus suis* exposure on disease associated with PRRSV and *S. suis* coinfection. *Vet. Microbiol.*, v.78, p.29-37, 2001.

SCHWARZ, P.; CALVEIRA, J.; SELLA, A.; BESSA, M.; BARCELLOS, D.E.S.N.; CARDOSO, M. *Salmonella entérica*: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.5, p.1028-1034, 2009.

SEGRS, R.P.A.M.; KENTER, T.; DE HAAN, L.A.M.; JACOBS, A.A.C. Characterisation of the gene encoding suilysin from *Streptococcus suis* and expression in field strains. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.167, p.255-261, 1998.

SEGURA, M.; GOTTSCHALK, M. *Streptococcus suis* Interactions with the Murine Macrophage Cell Line J774: Adhesion and Cytotoxicity. *Infect. Immun.*, v.70, n.8, p.4312-4322, 2002.

SEGURA, M.; GOTTSCHALK, M.; OLIVIER, M. Encapsulated *Streptococcus suis* Inhibits Activation of Signaling Pathways Involved in Phagocytosis. *Infect. Immun.*, v.72, n.9, p. 5322-5330, 2004.

SEGURA, M. STANKOVA, J. GOTTSCHALK, M. Heat-Killed *Streptococcus suis* capsular type 2 strains stimulate tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 production by murine macrophages. *Infect. Immunol.*, v.67, p.4646-4654, 1999.

SEGURA, M.; VADEBONCOEUR, N; GOTTSCHALK, M. CD14-dependent and – independent cytokine and chemokine production by human THP-1 monocytes stimulated by *Streptococcus suis* capsular type 2. *Clin. Exp. Immunol.*, v.127, p.243-254, 2002.

SEIXAS, F.N.; TOCHETTO, R.; FERRAZ, S.M. Presença de *Salmonella* sp. em carcaças suínas amostradas em diferentes pontos da linha de processamento. *Cienc. An. Bras.*, v.10, n.2, p.634-640, 2009.

SEOL, B.; KELNERIC, Z.; HAJSIG, D.; MAGIC, J.; NAGLIC, T. Susceptibility to antimicrobial agents of *Streptococcus suis* capsular type 2 strains isolated from pigs. *Zbl. Bakt.*, v.283, p.328-331, 1996.

SERHIR, B.; DUBREUIL, D.; HIGGINS, R.; JACQUES, M. Purification and characterization of a 52-kilodalton immunoglobulin G-binding protein from *Streptococcus suis* capsular type 2. *J. Bacteriol.*, v.177, 3830-3836, 1995.

SERHIR, B.; HIGGINS, R.; FOIRY, B.; JACQUES, M. Detection of immunoglobulin-G-binding proteins in *Streptococcus suis*. *J. Gen. Microbiol.*, v.139, p.2953-2958, 1993.

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

SHNEERSON, J.M.; CHATTOPADHYAY, B.; MURPHY, M.F.; FAWCETT, I.W. Permanent perceptive deafness due to *Streptococcus suis* type II infection. *J. Laryngol. Otol.*, v.94, p.425-427, 1980.

SIHVONEN, L.; KURL, D.; HENRICHSEN, J. *Streptococcus suis* isolated from pigs in Finland. *Acta Vet. Scand.*, v.29, p.9-13, 1988.

SILVA, D.G.; FAGLIARI, J.J.; GARCIA, T.B. Comparação da eficiência dos caldos de enriquecimento seletivo no isolamento de *Salmonella* Dublin. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.3, p.766-768, 2008.

SILVA, M.C.; FARIA, G.S.; PAULA, D.A.J.; MARTINS, R.P.; JUNIOR, J.G.C.; KICH, J.D.; COLODEL, E.M.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos no Estado do Mato Grosso. *Cienc. Rural*, v.39, p.266-268, 2009.

SMITH, H.E.; VAN BRUIJNSVOORT, L.; BUIJS, H.; WISSELINK, H.J.; SMITS, M.A. Rapid PCR test for *Streptococcus suis* serotype 7. *Fed. Europ. Microbiol. Societes – Microbiol. Letters*, v.178, p.265-270, 1999a.

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

SMITH, H.E.; VEENBERGEN, V.; VAN DER VELDE, J.; DAMMAN, M.; WISSELINK, H.J.; SMITS, M.A. The *cps* Genes of *Streptococcus suis* Serotypes 1, 2, and 9: Development of Rapid Serotype-Specific PCR Assays. *J. Clin. Microbiol.*, v.37, n.10, p.3146-3152, 1999b.

SMITH, H.E.; WISSELINK, H.J.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; VECTH, U.; SMITS, M.A et al. Virulence markers of *Streptococcus suis* type 1 and 2. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v.418, p.651-656, 1997.

SMITH, T.H.; CAPUANO, A.W.; BOESE, B.; MYERS, K.P.; GRAY, G.C. Expousure to *Streptococcus suis* among US swine workers. *Emerg. Infect. Dis.*, v.14, n.12, p.1925-1927, 2008.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.; MORES, N.; CARVALHO, L.F.; OLIVEIRA, S. *Clínica e Patologia Suína*. Goiás: Goiânia, 2001. 464p

ST. GEME, J.W.; CUTTER, D. Influence of pili, fibrils, and capsule on *in vitro* adherence by *Haemophilus influenzae* type b. *Mol. Microbiol.*, v.21, p.21-31, 1996.

STAATS, J.J.; FEDER, I.; OKWUMABUA, O.; CHENGAPPA, J.J. *Streptococcus suis*: past and present. *Vet. Res. Commun.*, v.21, 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. Clin. Microbiol.*, 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. Microbiol.*, v.70, n.3-4, p.201-211, 1999.

STRANGMANN, E.; FRÖLEKE, H.; KOHSE, K.P. Septic shock caused by *Streptococcus suis*: case report and investigation of a risk group. *Inst. J. Environ. Health*, v.205, p.385-392, 2002.

SUANKRATAY, C.; INTALAPAPORN, P.; NUNTHAPISUD, P.; ARUNYINGMONGKOL, K.; WILDE, H. *Streptococcus suis* meningitis in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, v.35, p.868-876, 2004.

SWILDENS, B.; NIELEN, M.; WISSELINK, H.J.; VERHEIJDEN, J.H.M.; STEGEMAN, J.A. Elimination of strains of *Streptococcus suis* serotype 2 from the tonsils of carrier sows by combined medication and vaccination. *Vet. Rec.*, v.160, p.619-621, 2007.

SWILDENS, B.; WISSELINK, H.J.; ENGEL, B.; SMITH, H.E.; NIELEN, M.; VERHEIJDEN, J.H.M.; STEGEMAN, J.A. Detection of extracellular factor-positive *Streptococcus suis* serotype 2 strains in tonsillar swabs of live sows by PCR. *Vet. Microbiol.*, v.109, p.223-228, 2005.

TAIPA, R.; LOPES, V.; MAGALHÃES, M. *Streptococcus suis* meningitis: first case report from Portugal. *J. Infect.*, v.56, p.482-483, 2008.

TAKAMATSU, D.; OSAKI, M.; SEKIZAKI, T. Evidence for Lateral Transfer of the Suilysin Gene Region of *Streptococcus suis*. *J. Bacteriol.*, v.187, n.7, p.2050-2057, 2002.

TAMURA, G.S.; KUYPERS, J.M.; SMITH, S.; RAFF, H.; RUBENS, C.E. Adherence of group B streptococci to cultured epithelial cells: roles of environmental factors and bacterial surface components. *Infect. Immun.*, v.62, p.2450-2458, 1994.

TAN, J.H.; YEH, B.I.; SEET, C.S.R. Deafness due to haemorrhagic labyrinthitis and a review of relapses in *Streptococcus suis* meningitis. *Singapore Med. J.*, v.51, n.2, p.30-33, 2010.

TANG, J.; WANG, C.; FENG, Y.; YANG, W.; SONG, H.; CHEN, Z.; YU, H.; PAN, X.; ZHOU, X.; WANG, H.; WU, B.; WANG, H.; ZHAO, H.; LIN, Y.; YUE, J.; WU, Z.; HE, X.; GAO, F.; KHAN, A.H.; WANG, J.; ZHAO, G.P.; WANG, Y.; WANG, X.; CHEN, Z.; GAO, G.F. Streptococcal Toxic Shock Syndrome Caused by *Streptococcus suis* Serotype 2. *PloS. Med.*, v.3, n.5, p.668-676, 2006.

TARRADAS, M.C.; ARENAS, A.; MALDONADO, A.; VICENTE, S.; MIRANDA, A.; PEREA, A. Susceptibility of *Streptococcus suis* to various antimicrobial agents. *Zentralbl. Veterinarmed. Reihe.*, v.41, p.685-688, 1994.

TARRADAS, C.; LUQUE, I.; DE ANDRÉS, D.; ABDEL-AZIZ SHAHEIN, Y.E.; PONS, P.; GONZÁLEZ, F.; BORGE, C.; PERA, A. Epidemiological relationship of human and swine *Streptococcus suis* isolates. *J. Vet. Med. B.*, v.48, p.347-355, 2001.

TENENBAUM, T.; ESSMANN, F.; ADAM, R.; SEIBT, A.; JÄNICKE, R.U.; NOVOYNY, G.E.; GALLA, H.J.; SCHROTEN, H. Cell death, caspase activation, and HMGB1 release of porcine choroid plexus epithelial cells during *Streptococcus suis* infection in vitro. *Brain Res.*, v.1100, n.1, p.1-12, 2006.

TENENBAUM, T.; MATALON, D.; ADAM, R.; SEIBT, A.; WEWER, C.; SCHWERK, C.; GALLA, H.J.; SCHROTEN, H. Dexamethasone prevents alteration of tight junction-associated proteins and barrier function in porcine choroid plexus epithelial cells after infection with *Streptococcus suis* in vitro. *Brain Res.*, v.1229, p.1-17, 2008.

TIAN, Y.; AARESTRUP, F.M.; LU, C.P. Characterization of *Streptococcus suis* serotype 7 isolates from diseased pigs in Denmark. *Vet. Microbiol.*, v.103, n.1-2, p.55-62, 2004.

TIKKANEN, K.; HAATAJA, S.; FINNE, J. The galactosyl-(alpha 1-4)-galactose-binding adhesin of *Streptococcus suis*: occurrence in strains of different hemagglutination activities and induction of opsonic antibodies. *Infect. Immun.*, v.64, p.3659-3665, 1996.

TINDALL, B.J.; GRIMONT, P.A.; GARRITY, G.M.; EUZÉBY, J.P. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, v.55, p.521-524, 2005.

TOIVANEN, M.; HUTTUNEN, S.; DURICOVÁ, J.; SOININEN, P.; LAATIKAINEN, R.; LOIMARANTA, V.; HAATAJA, S.; FINNE, J.; LAPINJOKI, S.; TIKKANEN-KAUKANEN, C. Screening of binding activity of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus suis* to berries and juices. *Phytop. Res.*, v.24, p.95-101, 2010.

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. *Vet. Rec.*, v.143, p.394-395, 1988.

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

TOUIL, F.; HIGGINS, R.; NADEAU, M. Isolation of *Streptococcus suis* from diseased pigs in Canada. *Vet. Microbiol.*, v.17, p.171-177, 1988.

TRAMONTANA, A.R. An Australian case of *Streptococcus suis* toxic shock syndrome associated with occupational exposure to animal carcasses. *MJA*, v.188, n.9, p.538-539, 2008.

TRIOLA, M.F. *Introdução à estatística*. 9.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. 682p.

TROTTIER, S.; HIGGINS, R.; BROCHU, G.; GOTTSCHALK, M. A case of human endocarditis due to *Streptococcus suis* in North America. *Rev. Infect. Dis.*, v.13, p.1251-1252, 1991.

TURGEON, P.I.; HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M.; BEAUDOIN, M. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolates. *Br. Vet. J.*, v.150, n.3, p.263-269, 1994.

VADEBONCOEUR, N.; SEGURA, M.; AL-NUMANI, D.; VANIER, G.; GOTTSCHALK, M. Pro-inflammatory cytokine and chemokine release by human brain microvascular endothelial cells stimulated by *Streptococcus suis* serotype 2. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, v.35, p.49-58, 2003.

VAN DE BEEK, D.; SPANJAARD, L.; DE GANS, J. *Streptococcus suis* meningitis in the Netherlands. *J. Infect.*, v.57, p.158-161, 2008.

VANIER, G.; SEGURA, M.; FRIEDL, P.; LACOUTURE, S.; GOTTSCHALK, M. Invasion of Porcine Brain Microvascular Endothelial Cells by *Streptococcus suis* Serotype 2. *Infec. Immun.*, v.72, n.3, p.1441-1449, 2004.

VANIER, G. SEGURA, M.; LECOURS, M.P.; GRENIER, D.; GOTTSCHALK, M. Porcine brain microvascular endothelial cell-derived interleukin-8 is first induced and then degraded by *Streptococcus suis*. *Microbiol. Pathog.*, v.46, p.135-143, 2009.

VARGA, C.; RAJIĆ, A.; MCFALL, M.E.; REID-SMITH, R.J.; DECKERT, A.E.; PEARL, D.L.; AVERY, B.P.; CHECKLEY, S.L.; MCEWEN, S.A. Comparison of antimicrobial resistance in generic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. cultured from identical fecal samples in finishing swine. *Can. J. Vet. Res.*, v.72, n.2, p.181-187, 2008.

VECHT, U.; WISSELINK, H.J.; JELLEMA, M.L.; SMITH, H.E. Identification of two proteins associated with virulence of *Streptococcus suis* type 2. *Infect. Immun.*, v.59, p.3156-3162, 1991.

VELA, A.I.; GOYACHE, J.; TARRADAS, C.; LUQUE, I.; MATEOS, A.; MORENO, M.A.; BORGE, C.; PEREA, J.A.; DOMÍNGUEZ, L.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J.F. Analysis of Genetic Diversity of *Streptococcus suis* Clinical Isolates from Pigs in Spain by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.*, v.41, n.6, p.2498-2502, 2003.

VELA, A.I.; MORENO, M.A.; CEBOLLA, J.A.; GONZÁLEZ, S.; LATRE, M.V.; DOMÍNGUEZ, L.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J.F. Antimicrobial susceptibility of clinical strains of *Streptococcus suis* isolated from pigs in Spain. *Vet. Microbiol.*, v.105, n.2, p.143-147, 2005.

VILAICHONE, R.K.; MAHACHAI, V.; NUNTHAPISUD, P. *Streptococcus suis* peritonitis: case report. *J. Med. Assoc. Thai.*, v.83, p.1274-1277, 2000.

VILAICHONE, R.; VILAICHONE, W.; NUNTHAPISUD, P.; WILDE, H. *Streptococcus suis* infection in Thailand. *J. Med. Assoc. Thai.*, v.85, p.109-117, 2002.

WANGKAEW, S.; CHAIWARITH, R.; THARAVICHITKUL, P.; SUPPARATPINYO, K. *Streptococcus suis* infection: a series of 41 cases from Chian Mai University Hospital. *J. Infect.*, v.52, p.455-460, 2006.

WALSH, B.; WILLIAMS, A.E.; SATSANGI, J. *Streptococcus suis* type 2: pathogenesis and clinical disease. *Rev. Med. Microbiol.*, v.3, n.1, p.65-71, 1992.

WALTMAN, W.D. Isolation of *Salmonella* from poultry environments. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FOODBORNE *Salmonella* IN POULTRY, 1998, Baltimore. *Proceedings...* Baltimore, 1998. p.133-153.

WATKINS, E.J.; BROOKSBY, P.; SCHWEIGER, M.S.; ENRIGHT, S.M. Septicaemia in a pig farm worker. *Lancet*, v.357, p.1147-1148, 2001.

WASHINGTON, W.JR.; JUNIOR, W.; KONEMAN, E.W. *Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1565p.

WASTESON, Y.; HOIE, S.; OBERTS, M.C. Characterization of antibiotic resistance in *Streptococcus suis*. *Vet. Microbiol.*, v.41, n.1-2, p.41-49, 1994.

WEI, Z.; LI, R.; ZHANG, A.; HE, H.; HUA, Y.; XIA, J.; CAI, X.; CHEN, H.; JIN, M. Characterization of *Streptococcus suis* isolates from the diseased pigs in China between 2003 and 2007. *Vet. Microbiol.*, v.137, p.196-201, 2009.

WEISS, L.H.N.; NONIG, R.B.; CARDOSO, M.; DA COSTA, M. Ocorrência de *Salmonella* sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v.22, n.3, p.104-108, 2002.

WERTHEIM, H.F.; NGHIA, H.D.; TAYLOR, W.; SCHULTSZ, C. *Streptococcus suis*: an emerging human pathogen. *Clin. Infect. Dis.*, v.48, n.5, p.617–625, 2009.

WILKINS, W.; RAJÍČ, A.; WALDNER, C.; MCFALL, M.; CHOW, E.; MUCKLE, A.; ROSENGREN, L. Distribution of *Salmonella* serovars in breeding, nursery, and grow-to-finish pigs, and risk factors for shedding in ten farrow-to-finish swine farms in Alberta and Saskatchewan. *Can. J. Vet. Res.*, v.74, p.81-90, 2010.

WILLIAMS, A.E.; BLAKEMORE, W.E. Pathogenesis of meningitis caused by *Streptococcus suis* type 2. *J. Infect. Dis.*, v.162, p.474-481, 1990.

WILLIAMS, A.E.; BLAKEMORE, W.F.; ALEXANDER, T.J.L. A murine model of *Streptococcus suis* type 2 meningitis in pigs. *Res. Vet. Sci.*, v.45, p.394-399, 1988.

WILLIAMS, D.M.; LAWSON, G.K.; ROWLAND, A.C. Streptococcal infection in piglets: the palatine tonsils as the portals of entry of *Streptococcus suis*. *Res. Vet. Sci.*, v.15, p.352-362, 1973.

WILLIAM, L.P.; NEWEL, K.W. *Salmonella* excretion in joy-riding pigs. *A. J. Pig Health*, v.60, n.5, p.926-929, 1970.

WILSON, R.P.; GRIFFITH, J.W. Endocarditis and meningitis caused by *Streptococcus suis* after cardiac surgery in a sheep. *Contem. Top. Lab. Anim. Sci.*, v.39, n.4, p.43-46, 2000.

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. Microbiol.*, v.67, n.2, p.143-157, 1999.

WISSELINK, H.J.; JOOSTEN J.J.; SMITH, H.E. Multiplex PCR Assays for Simultaneous Detection of Six Major Serotypes and Two Virulence-Associated Phenotypes of *Streptococcus suis* in Tonsillar Specimens from Pigs. *J. Clin. Microbiol.*, v.40, n.8, p.2922-2929, 2002a.

WISSELINK, H.J.; SMITH, H.E.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; PEPPERKAMP, K.; VECHT, U. Distribution of capsular 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. Microbiol.*, v.74, n.3, p.237-248, 2000.

WISSELINK, H.J.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; HILGERS, L.A.; SMITH, H.E. Assessment of protective efficacy of live and killed vaccines based on a non-encapsulated mutant of *Streptococcus suis* serotype 2. *Vet. Microbiol.*, v.84, p.155-168, 2002b.

WISSELINK, H.J.; VELDMAN, K.T.; DEN EEDE, C.V.; SALMON, S.A.; MEVIUS, D.J. Quantitative susceptibility of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries to antimicrobial agents licenced in veterinary medicine. *Vet. Microbiol.*, v.113, p.73-82, 2006.

WISSELINK, H.J.; VECHT, U.; STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N.; SMITH, H.E. Protection of pigs against challenge with virulent *Streptococcus suis* serotype 2 strains by a muramidase-released protein and extracellular factor vaccine. *Vet. Rec.*, v.148, p.473-477, 2001.

WONDWOSSEN, A.G., DAVIES, P.R.; MORROW, W.E.M.; FUNK, J.A.; ALTIER, C.; Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates from swine. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, p.4633-4636, 2000.

WOOD, R.L.; ROSE, R. Population of *Salmonella typhimurium* in internal organs of experimentally infected carrier swine. *Am. J. Vet. Res.*, v.53, n.5, p.653-658, 1992.

XIONG, Y.; LIU, Q.; QIN, F.Y.; BAI, Y.; ZHU, W.; LI, H.R.; GUO, J.G.; PAN, Q.L.; LONG, J.M.; CHEN, L. Study on the molecular epidemiology of *Streptococcus suis* type 2 from healthy pigs in Guangxi. *Chinese J. Epidem.*, v.28, p.593-596, 2007.

YANG, C.K.; CHENG, Y.K.; LIN, C.D.; HO, M.W.; TSAI, M.H. Bilateral sudden deafness as the first manifestation of *Streptococcus suis* capsular type 2 meningitis. *Mid. Taiwan J. Med.*, v.10, p.155-158, 2005.

YANG, J.; JIN, M.; CHEN, J.; YANG, Y.; ZHENG, P.; ZHANG, A.; SONG, Y.; ZHOU, H.; CHEN, H. Development and evaluation of an immunochromatographic strip for detection of *Streptococcus Suis* type 2 antibody. *J. Vet Diagn. Invest.*, v.19, p.355-361, 2007.

YE, C.; BAI, X.; ZHANG, J.; JING, H.; ZHENG, H.; DU, H.; CUI, Z.; ZHANG, S.; JIN, D.; XU, Y.; XIONG, Y.; ZHAO, A.; LUO, X.; SUN, Q.; GOTTSCHALK, M.; XU, J. Spread of *Streptococcus suis* sequence type 7, China. *Emerg. Infect. Dis.*, v.14, n.5, p.787-791, 2008.

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

ZHANG, C.; NING, Y.; ZHANG, Z.; SONG, L.; QIU, H.; GAO, H.; FAN, Z. Prevalence of *Streptococcus suis* Isolated From Clinically Healthy sows in China. *Agricult. Scien. China.*, v.8, n.5, p.638-642, 2009.

APÊNDICES

APÊNDICE 1: Protocolo de Extração de DNA Bacteriano Utilizando-se a Resina Chelex-100 (Bio-rad)

- 1) Partindo-se de um crescimento puro e exuberante da linhagem, dissolver uma ou duas alçadas da linhagem em 1 mL de água milli-Q autoclavada, em um microtubo RNase e DNase Free.
- 2) Vortexar por 10 segundos.
- 3) Centrifugar a 13.000 rpm durante 2-3 minutos.
- 4) Desprezar o sobrenadante.
- 5) Adicionar ao sedimento 200 µL da resina Chelex-100, preparada a 5%.
- 6) Vortexar por 10 segundos
- 7) Incubar a 56°C durante 20-30 minutos.
- 8) Vortexar por 10 segundos.
- 9) Incubar em água fervente por 8 minutos.
- 10) Centrifugar a 13.000 rpm durante 2-3 minutos.
- 11) Transferir o sobrenadante contendo o DNA para outro microtubo RNase e DNase free.
- 12) Armazenar a -20°C.

A resina Chelex-100 permite um rápido e fácil preparo do DNA para a técnica de PCR. A simples lise celular por fervura em presença da resina é suficiente, uma vez que a resina absorve eficientemente os produtos da lise celular, não os permitindo interferir no processo de amplificação do DNA.

APÊNDICE 2: Protocolo de Preparo dos Reagentes Utilizados para a Sorotipificação das Linhagens de *S. suis* Através da Técnica de Coaglutinação

- 13) Descongelar uma linhagem de *S. aureus* e semeá-la em BHI ágar, com o auxílio de um suabe, em três direções diferentes, para obtenção de um crescimento exuberante e homogêneo em toda a superfície da placa;
- 14) Adicionar 4 mL de PBS (pH 7,3) estéril à placa contendo o crescimento de *S. aureus*;
- 15) Com o auxílio de uma alça de Driglauský e pipetas, transferir a suspensão de crescimento para tubos com tampa de rosca;
- 16) Deixar os tubos em banho-maria a 80°C por 30 minutos;
- 17) Colocar os tubos em água gelada, por no mínimo 10 minutos, imediatamente após a retirada do banho-maria;
- 18) Adicionar aos tubos 200 µL de soro de coelho contendo o anticorpo monoclonal contra cada sorotipo de *S. suis* e vortexar;
- 19) Homogeneizar (em homogeneizador automático) por 1 hora à temperatura ambiente;
- 20) Centrifugar os tubos a 3.000 rpm por 10 minutos e desprezar o sobrenadante;
- 21) Adicionar aos tubos 8 mL de PBS (pH 7,3) estéril e vortexar;
- 22) Centrifugar os tubos a 3.000 rpm por 10 minutos e desprezar o sobrenadante;
- 23) Adicionar aos tubos 8 mL de PBS especial (acrescido de azida sódica e albumina bovina) estéril e vortexar;
- 24) Armazenar em geladeira durante o uso;
- 25) Antes do uso, testar cada reagente com linhagens de referência de todos os sorotipos atualmente reconhecidos para a verificação de reações cruzadas.

**APÊNDICE 3: Protocolo de Preparo das Linhagens de *S. suis* para Sorotipificação
Através da Técnica de Coaglutinação**

- 26) Semear as linhagens em tubos contendo caldo Todd Hewitt (THB) e incubar a 37°C por 18 horas;
- 27) Adicionar aos tubos 2 gotas de formol 37%;
- 28) Homogeneizar e incubar a 37°C por 1 hora;
- 29) Centrifugar os tubos a 3.000 rpm por 10 minutos;
- 30) Descartar o sobrenadante;
- 31) Adicionar aos tubos 2,5 mL de PBS (pH 7,3) com 0,5% de formol;
- 32) Vortexar;
- 33) Armazenar em geladeira durante o uso.

ANEXOS

TRABALHO CIENTÍFICO

1 **Trabalho a ser enviado para a Revista Ciência Rural**

2
3 ***Streptococcus suis* sorotipo 2: discussão da literatura brasileira**

4 ***Streptococcus suis* serotype 2: discussion of the brazilian literature**

5 **Taíssa Cook Siqueira Soares ^{1*} Antonio Carlos Paes ¹**

6 **- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -**

7
8 **RESUMO**

9 *S. suis* é mundialmente considerado como um dos patógenos de maior impacto sanitário e
10 econômico na indústria suinícola. Dentre os sorotipos descritos como zoonóticos, o sorotipo 2 é o
11 mais frequentemente isolado de animais e humanos doentes, na maioria dos países. O estudo da
12 epidemiologia das infecções por *S. suis* no Brasil é importante para a implantação de medidas
13 efetivas de controle. O objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão crítica da literatura
14 brasileira, sobretudo a respeito da prevalência do sorotipo 2 no país.

15
16 **Palavras-chave:** *Streptococcus suis* sorotipo 2, prevalência, diagnóstico, animais doentes,
17 animais portadores sadios.

18
19 **ABSTRACT**

20 *S. suis* is considered worldwide as one of the pathogens of biggest health and economic
21 impact in the swine industry. Among the serotypes described as zoonotic, serotype 2 is the most

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP – Univ Estadual Paulista, Campus Botucatu, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Distrito de Rubião Júnior, s/ nº. CEP: 18.618-000. Endereço para correspondência.

* Autor para correspondência. E-mail: taissacook@hotmail.com

1 frequently isolated from diseased animals and humans in most countries. The study of the
2 epidemiology of *S. suis* infections in Brazil is important and may help in the development of
3 effective control measures. The aim of this study was to conduct a critical review of the Brazilian
4 literature, especially regarding to the prevalence of the serotype 2 in the country.

5
6 **Key words:** *Streptococcus suis* serotype 2, prevalence, diagnostic, diseased animals, healthy
7 carrier animals.

8

9 **INTRODUÇÃO**

10 As infecções causadas pelo *Streptococcus suis* são reconhecidas mundialmente como um dos
11 maiores problemas da indústria suinícola. Além do impacto sanitário e econômico, a espécie é
12 um agente zoonótico responsável por meningite e outras manifestações clínicas em humanos
13 (STAATS et al., 1997; LUN et al., 2007).

14 *Streptococcus suis* é um coco Gram-positivo encapsulado pertencente ao grupo D de
15 Lancefield. Até o presente momento, 35 sorotipos foram descritos com base na composição dos
16 polissacarídeos capsulares, sendo o sorotipo 2 o mais frequentemente isolado de casos clínicos e
17 considerado o de maior caráter zoonótico. A meningite é a principal manifestação clínica
18 associada às infecções por *S. suis*, em suínos. Outras manifestações são artrite, endocardite,
19 pneumonia, rinite, abortamento e vaginite (HIGGINS & GOTTSCHALK, 2005). Na ausência de
20 tratamento, a taxa de mortalidade chega a 20,00% (CLOUTIER et al., 2003).

21 O agente tem como habitat natural o trato respiratório superior, particularmente as tonsilas e
22 cavidades nasais, bem como os tratos genital e alimentar dos suínos. Os animais portadores
23 sadios desempenham um importante papel na disseminação e transmissão do *S. suis* para os

1 animais susceptíveis, além de funcionarem como fonte de infecção para os funcionários das
2 granjas e magarefes (HIGGINS & GOTTSCHALK, 2005; GOTTSCHALK et al., 2007).

3 O objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão crítica da literatura brasileira, com
4 suporte da literatura mundial, abordando o diagnóstico do agente e sua prevalência em animais
5 clinicamente doentes e portadores sadios, com destaque para a prevalência do sorotipo 2.

6

7 **DESENVOLVIMENTO**

8 O diagnóstico presuntivo pode ser baseado no histórico, sintomatologia e achados
9 necroscópicos macroscópicos. O diagnóstico definitivo se baseia no isolamento e identificação do
10 agente e lesões microscópicas dos tecidos (SOBESTIANSKY et al., 2001). O isolamento do
11 agente dos pulmões deve ser interpretado com cautela uma vez que o organismo está
12 constantemente presente no trato respiratório superior dos animais (HIGGINS &
13 GOTTSCHALK, 2005).

14 A identificação de linhagens recuperadas de animais doentes é possível através de poucas
15 provas bioquímicas: presença de alfa hemólise em ágar sangue, ausência de crescimento em
16 caldo contendo 6,5% de cloreto de sódio, teste VP (Voges-Proskauer) negativo e produção de
17 amilase positiva (LUQUE et al., 1998).

18 Diversos laboratórios sugerem o uso de kits comerciais multi-testes como o API Strep
19 System Test (Bio Mérieux, França) tanto para a identificação da espécie *S. suis* quanto para a
20 diferenciação do biotipo 1 e biotipo 2, com base na fermentação de alguns açúcares. No entanto,
21 linhagens podem ser erroneamente diagnosticadas quando da utilização desses kits comerciais,
22 assim como, a classificação de *S. suis* biotipo 1 e 2 com base nesses kits é inapropriada
23 (GOTTSCHALK et al., 1991a). GOTTSCHALK et al. (1991a) relataram que 46,00% das
24 linhagens estudadas pertencentes aos sorotipos 1 a 22 não puderam ser corretamente identificadas

1 como *S. suis* através desses kits. Além disso, biotipo não é o mesmo que sorotipo e, até hoje,
2 nenhum padrão bioquímico pôde ser associado a um sorotipo específico (PERCH et al., 1983;
3 GOTTSCHALK et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991b; HIGGINS et al., 1995).

4 Múltiplos sorotipos podem ser isolados de animais doentes dentro de um mesmo rebanho
5 (HIGGINS & GOTTSCHALK, 2005). Técnicas de isolamento sorotipo específicas foram
6 desenvolvidas, como a utilização de meios seletivos e diferenciais (KATAOKA et al., 1991) e
7 isolamento imunomagnético (GOTTSCHALK et al., 1999). No entanto, essas técnicas se limitam
8 ao isolamento do sorotipo 2 e 1/2, não havendo diferenciação entre os dois sorotipos. Até o
9 presente momento, não existem provas sorológicas de confiança. As principais desvantagens
10 apresentadas por essas técnicas são a capacidade de detecção de um número muito reduzido de
11 sorotipos e a incapacidade de diferenciação entre os sorotipos 2 e 1/2, uma vez que esses
12 sorotipos compartilham antígenos comuns (ELLIOT & TAI, 1978; PERCH et al., 1983; SERHIR
13 et al., 1993; SEPÚLVEDA et al., 1996).

14 Recentemente, técnicas de biologia molecular foram padronizadas para a identificação do *S.*
15 *suis*. A PCR é uma técnica rápida, sensível e específica capaz de detectar linhagens de *S. suis* e
16 identificar especificamente alguns tipos do agente provenientes de animais doentes, animais
17 portadores sadios e humanos, com objetivo de diagnóstico clínico ou estudos epidemiológicos.
18 Primers foram desenvolvidos e técnicas de PCR padronizadas para a amplificação de sequências
19 dos genes responsáveis pela produção da cápsula do agente. Desta forma, ao utilizarmos primers
20 desenhados para sequências de genes capsulares específicos para o sorotipo 7, por exemplo, as
21 linhagens positivas na técnica de PCR podem ser denominadas de *S. suis* tipo ou sorotipo 7, uma
22 vez que a diferenciação dos sorotipos é baseada, exatamente, na constituição antigênica
23 individual da cápsula de cada sorotipo. O compartilhamento de antígenos capsulares comuns
24 entre os sorotipos 2 (e 1/2) e 1 (e 14), assim como nas provas sorológicas, não permite a

1 diferenciação desses pares de sorotipos através da técnica de PCR (SMITH et al., 1999a; SMITH
2 et al., 1999b).

3 Técnicas de monoplex PCR, baseadas na sequência dos genes capsulares tipo específicos,
4 foram desenvolvidas para detectar especificamente os sorotipos 2 (e 1/2), 1 (e 14), 7 e 9 (SMITH
5 et al., 1999a; SMITH et al., 1999b). Mais tarde, WISSELINK et al. (2002) desenvolveram um
6 protocolo de multiplex PCR para a detecção simultânea dos sorotipos anteriormente citados. A
7 possibilidade de detecção de linhagens patogênicas de *S. suis* sorotipo 2 e sorotipo 1, através da
8 técnica de PCR, baseada no gene *epf* (codificador da proteína fator extracelular), já foi também
9 descrita (WISSELINK et al., 1999). OKWUMABUA et al. (2003) desenvolveram um multiplex
10 PCR baseado no gene *gdh* (codificador da enzima glutamato desidrogenase), permitindo a
11 amplificação e identificação de todos os sorotipos da espécie *S. suis* e baseado também nos genes
12 *cps* específicos para o sorotipo 2 (e 1/2), 1 (e 14), 7 e 9, permitindo a detecção direta de linhagens
13 pertencentes a esses sorotipos. No entanto, esse método foi aplicado para detectar linhagens de *S.*
14 *suis* provenientes de culturas puras. Multiplex PCR capaz de amplificar linhagens de todos os
15 sorotipos e detectar simultaneamente linhagens sorotipo 2 (e 1/2) a partir de amostras de tonsilas
16 de animais vivos ou mortos, sem a necessidade de cultura prévia, foi desenvolvido por MAROIS
17 et al. (2004).

18 Mesmo com todo o avanço dos métodos diagnósticos com o surgimento da biologia
19 molecular, a sorotipificação das linhagens de *S. suis* continua sendo uma etapa fundamental do
20 diagnóstico de rotina, uma vez que as técnicas de sorotipificação são as únicas capazes de
21 distinguir todos os sorotipos já identificados do agente. Apesar da existência de diferentes
22 técnicas, a técnica de coaglutinação é a mais difundida técnica de sorotipificação das linhagens de
23 *S. suis*. A utilização de reagentes polivalentes, seguida pela utilização de reagentes monovalentes,
24 torna a técnica mais rápida, permitindo a sorotipificação de um grande número de linhagens em

1 um curto período de tempo (FLORES et al., 1993; GOTTSCHALK et al., 1993). No entanto,
2 estudos já demonstraram reação cruzada entre alguns sorotipos e a existência de reações
3 inespecíficas (GOTTSCHALK et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991a). GOTTSCHALK et al.
4 (1989) sugerem que reações fracamente positivas e múltiplas reações positivas de uma mesma
5 linhagem devam ser confirmadas através do teste de reação capsular ou do teste de precipitação
6 capilar.

7 O isolamento e identificação de linhagens provenientes de animais portadores sadios é uma
8 tarefa mais complicada. A maioria dos animais alberga *S. suis* em suas tonsilas e cavidades
9 nasais. Múltiplos sorotipos e linhagens não sorotipáveis podem estar presentes no mesmo animal
10 (FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1996). O maior empecilho com a utilização de técnicas
11 bacteriológicas é a dificuldade de isolar e localizar as possíveis colônias de *S. suis* em amostras
12 naturalmente multi-infectadas como as tonsilas e cavidades nasais. No caso de amostras
13 provenientes de animais doentes, a linhagem patogênica geralmente cresce de forma abundante
14 nos meios de cultivo, facilitando seu isolamento e identificação. Portanto, a detecção de suínos
15 portadores sadios requer a utilização de técnicas de biologia molecular, como a PCR
16 (OKWUMABUA et al., 2003; MAROIS et al., 2007). MAROIS et al. (2007) demonstraram
17 diferença estatisticamente significativa na prevalência de *S. suis* encontrada através da técnica de
18 PCR com e sem cultivo e isolamento prévio. No estudo realizado pelos autores, 57,00% das
19 biópsias de tonsilas e 72,00% dos suabes de tonsilas foram positivos para o agente quando
20 colônias suspeitas isoladas foram identificadas posteriormente por PCR. As prevalências das
21 biópsias e suabes de tonsilas positivos aumentaram para 71,00% e 81,00%, respectivamente,
22 quando a PCR foi realizada sem o cultivo prévio das amostras.

23 Os sorotipos de 1 a 8 são os mais prevalentes em casos clínicos. O sorotipo 2 tem sido, ao
24 longo dos anos, o mais frequentemente isolado de animais doentes na grande maioria dos países e

1 considerado o sorotipo de maior caráter zoonótico, sendo o mais comumente descrito como
2 causador de doença sistêmica em humanos (TOUIL et al., 1988; HIGGINS et al., 1990; GALINA
3 et al., 1992; HIGGINS et al., 1992; HIGGINS & GOTTSCHALK, 1993; KATAOKA et al.,
4 1993; KATSUMI et al., 1997; MESSIER et al., 2008; WEI et al., 2009). Somente os países
5 escandinavos descrevem uma maior prevalência do sorotipo 7 em relação ao sorotipo 2. Esses
6 dois sorotipos constituem 75,00% dos isolados da Dinamarca (BOETNER et al., 1987;
7 SIHVONEN et al., 1988; AARESTRUP et al., 1998). Embora o sorotipo 2 predomine na maioria
8 dos países, sua prevalência varia de acordo com a região geográfica. A prevalência do sorotipo 2,
9 na Europa e Ásia, é de até duas vezes sua prevalência no Canadá e Estados Unidos (WISSELINK
10 et al., 2000; MESSIER et al., 2008; FITTIPALDI et al., 2009; WEI et al., 2009). Estudos recentes
11 sugerem uma queda na prevalência do sorotipo 2 (HIGGINS & GOTTSCHALK, 2001), ao longo
12 dos anos, e o surgimento de outros sorotipos como os mais prevalentes em alguns países: sorotipo
13 9 na Bélgica, Alemanha, Holanda e Espanha (WISSELINK et al., 2000; VELA et al., 2003);
14 sorotipos 1 e 14 no Reino Unido (WISSELINK et al., 2000); sorotipo 3 nos Estados Unidos
15 (FITTIALDI et al., 2009). Outros sorotipos menos frequentes já foram também relacionados a
16 quadros clínicos infecciosos em diversos países: sorotipos 1/2, 3, 4, 8, 17, 19 e 21 no Canadá
17 (GOTTSCHALK et al., 1993); sorotipos 1/2, 1, 3, 4, 7, 8 e 9 na Itália (SALA et al., 1996);
18 sorotipos 1/2, 3, 4, 7, 8 e 14 no Reino Unido (MACLENNAM et al., 1996); sorotipos 1/2, 3, 8, 9
19 e 14 na Espanha (LUQUE et al., 1998); sorotipos 3, 4, 7 e 9 na Alemanha (WISSELINK et al.,
20 2000) e sorotipo 9 na Holanda e França (JACOBS et al., 1995).

21 No Brasil, o *S. suis* já foi identificado em 13 Estados: Rio de Janeiro, São Paulo, Minas
22 Gerais, Paraná, Santa Catarina, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul,
23 Pernambuco, Distrito Federal, Espírito Santo e Goiás, demonstrando a importância deste
24 patógeno na indústria suinícola brasileira (DEL'ARCO et al., 2008). O sorotipo 2 provou ser o

1 mais prevalente em todos os estudos realizados envolvendo animais doentes (MADUREIRA
2 JÚNIOR & SONCINI, 1999; SANTOS et al., 1999; PAGNANI et al., 2002; COSTA et al., 2005;
3 DEL'ARCO et al., 2008). Prevalência variando de 38,20% a 61,00% foi relatada para o sorotipo
4 2, dentre todas as linhagens isoladas e identificadas como *S. suis*, nos três estudos mais recentes
5 (PAGNANI et al., 2002; COSTA et al., 2005; DEL'ARCO et al., 2008). A identificação do
6 agente foi realizada por provas bioquímicas e sorotipificação através da técnica de coaglutinação,
7 segundo o recomendado pela literatura mundial (LUQUE et al., 1998; GOTTSCHALK et al.,
8 1993). No país, os sorotipos 1/2, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 14 já foram também isolados de
9 amostras provenientes de casos clínicos (PAGNANI et al., 2002; COSTA et al., 2005;
10 DEL'ARCO et al., 2008). O isolamento dos sorotipos 1, 4 e 14 torna-se importante uma vez que
11 esses sorotipos já foram descritos como agentes etiológicos de meningite e outras manifestações
12 clínicas em humanos (ARENDS & ZANEN, 1988; VILAICHONE et al., 2000; HALESIS et al.,
13 2009).

14 PAGNANI et al. (2002), analisando 51 linhagens de *S. suis* isoladas de animais doentes
15 apresentando septicemia, endocardite, pneumonia e artrite, obtiveram 58,80% de prevalência do
16 sorotipo 2. As linhagens estudadas foram provenientes dos Estados de Minas Gerais, São Paulo e
17 Paraná. Prevalência de 38,20% foi demonstrada para o sorotipo 2 em estudo de 100 linhagens de
18 *S. suis* conduzido por COSTA et al. (2005). DEL'ARCO et al. (2008) demonstraram prevalência
19 de 61,00% do sorotipo 2, dentre as 323 linhagens estudadas provenientes de 13 Estados
20 brasileiros. COSTA et al (2005) e DEL'ARCO et al. (2008) pesquisaram, respectivamente, 16 e
21 10 sorotipos dentre os 35 já identificados para a espécie.

22 A distribuição de sorotipos parece ser diferente entre animais doentes e portadores
23 assintomáticos. Os sorotipos 17, 18, 19, 21 e 22 parecem ser frequentemente recuperados de
24 animais sadios (GOTTSCHALK et al., 1991a; FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1998;

1 MAROIS et al., 2007) enquanto diversos estudos demonstram que o sorotipo 2 é bem menos
2 frequente nesses animais (GOTTSCHALK et al., 1991a; FLORES et al., 1993; AMASS et al.,
3 1996; AMASS et al., 1998; BAELE et al., 2001; HAN et al., 2001; MAROIS et al., 2007;
4 ZHANG et al., 2009). Os sorotipos 17, 18, 19 e 21 somaram quase 40,00% e 87,00% das
5 linhagens encapsuladas isoladas a partir de suínos portadores sadios, em estudos conduzidos por
6 FLORES et al. (1993) e GOTTSCHALK et al. (1991a), respectivamente. MAROIS et al. (2007)
7 obtiveram o sorotipo 22 como o mais frequente dentre os sorotipos identificados e os sorotipos
8 21, 22 e 23 foram os únicos isolados por AMASS et al. (1998). Estudos conduzidos com suínos
9 portadores sadios relatam prevalência do sorotipo 2 variando de 0,00% a 4,00% (BRISEBOIS et
10 al., 1990; GOTTSCHALK et al., 1991a; FLORES et al., 1993; AMASS et al., 1996; AMASS et
11 al., 1998; BAELE et al., 2001; HAN et al., 2001; MAROIS et al., 2007; ZHANG et al., 2009).
12 ZHANG et al. (2009), avaliando amostras de tonsilas de 1.043 animais, provenientes de 13
13 diferentes granjas na China, demonstraram prevalência do sorotipo 2 variando, de acordo com a
14 granja, de 1,20% a 10,20%. A prevalência de 10,20% demonstrada pelos autores em uma das
15 propriedades, embora mais elevada do que as encontradas nos demais estudos, ainda é bem
16 inferior à prevalência relatada nos estudos conduzidos com amostras provenientes de animais
17 doentes (HIGGINS et al., 1990; DEL'ARCO et al., 2008).

18 No Brasil, até o presente momento, dentro do nosso conhecimento, existem quatro trabalhos
19 científicos publicados referentes à prevalência de *S. suis* em suínos portadores sadios, todos
20 concentrados na prevalência do biotipo ou sorotipo 2 (BOSCO et al., 2000; LARA et al., 2007;
21 OLIVEIRA et al., 2008; FARIA et al., 2010). BOSCO et al. (2000), em Botucatu, e LARA et al.
22 (2007), em Santa Catarina, trabalhando com animais sadios, utilizaram provas bioquímicas para a
23 diferenciação do biotipo 1 e biotipo 2. LARA et al. (2007) se referem ao biotipo 2,
24 equivocadamente, como *S. suis* sorotipo 2. Como mencionado anteriormente, a classificação de

1 linhagens de *S. suis* em biotipo 1 e 2, com base em provas bioquímicas, é inapropriada
2 (GOTTSCHALK et al., 1991a). Além disso, biotipo não é o mesmo que sorotipo e, até hoje,
3 nenhum perfil bioquímico pôde ser associado a um sorotipo específico (PERCH et al., 1983;
4 GOTTSCHALK et al., 1989; GOTTSCHALK et al., 1991b; HIGGINS et al., 1995). Portanto, as
5 prevalências encontradas nos estudos de BOSCO et al. (2000) e LARA et al. (2007) não devem,
6 no nosso entendimento, ser consideradas como prevalências de *S. suis* sorotipo 2. OLIVEIRA et
7 al. (2008) e FARIA et al. (2010), em estudos realizados com animais sadios em idade de abate no
8 Estado do Mato Grosso, pesquisaram a prevalência de *S. suis* sorotipo 2 através da técnica de
9 PCR utilizando os primers *cps2J* (MAROIS et al., 2004). No entanto, em ambos os estudos, os
10 autores não comentam que esses primers identificam tanto o sorotipo 2 como o sorotipo 1/2.
11 Portanto, a prevalência descrita nesses estudos, na verdade, é a prevalência do sorotipo 2 somada
12 à prevalência do sorotipo 1/2, uma vez que os autores não mencionam a realização da
13 sorotipificação para a posterior diferenciação entre os dois sorotipos.

14

15 **CONCLUSÃO**

16 *S. suis* é um importante patógeno suíno e agente zoonótico muito pouco estudado no Brasil.
17 Os estudos brasileiros demonstram que o sorotipo 2 é o mais frequentemente isolado de suínos
18 clinicamente doentes, à semelhança da maioria dos países nos quais a indústria suinícola é
19 desenvolvida. No entanto, os estudos se concentram na pesquisa de poucos sorotipos dentre os 35
20 já identificados até o momento, o que não nos revela uma real prevalência do sorotipo 2 dentre as
21 linhagens capsulares isoladas. Além disso, as pesquisas envolvem linhagens provenientes de
22 poucos Estados ou poucas linhagens oriundas de cada Estado, não nos permitindo ter uma idéia
23 concreta da distribuição de sorotipos virulentos e da taxa de ocorrência de doença por *S. suis* nos
24 diferentes Estados brasileiros e, conseqüentemente, no Brasil. As pesquisas envolvendo animais

1 sadios demonstram alta prevalência de suínos portadores de *S. suis* sorotipo 2 e 1/2 no país.
2 Entretanto, não há até o presente momento, uma descrição da distribuição dos diferentes
3 sorotipos nesses animais, os quais são de extrema importância epidemiológica.

4 Novos estudos devem ser realizados, sobretudo envolvendo parceria entre as Universidades
5 dos diferentes Estados, para que possamos começar a entender, de fato, a real situação do agente
6 no país. A determinação da distribuição dos diferentes sorotipos do agente no Brasil, de forma
7 ampla, é importante uma vez que a prevalência dos sorotipos pode variar entre os países. Além
8 disso, as bacterinas atualmente disponíveis fornecem proteção sorotipo específica. O melhor
9 entendimento da epidemiologia das infecções por *S. suis* em nosso país, nos permitirá o
10 desenvolvimento de medidas mais efetivas de controle.

11

12 REFERÊNCIAS

- 13 AARESTRUP, F.M. et al. Serological characterization and antimicrobial susceptibility of
14 *Streptococcus suis* isolates from diagnostic samples in Denmark during 1995 and 1996.
15 **Veterinary Microbiology**, v.60, n.1, p.59-66, fev. 1998. doi: 10.1016/S0378-1135(98)00147-3.
- 16 AMAAS, S.F. et al. *Streptococcus suis* colonization of piglets during parturition. **Swine Health**
17 **and Production**, v.4, n.6, p.269-272, nov. 1996. Disponível em:
18 <<http://aasv.org/shap/issues/v4n6/v4n6p269.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2011.
- 19 AMASS, S.F. et al. A Pilot Study of the Prevalence of *Streptococcus suis* in Pigs and Personnel
20 at Five Indiana Swine Operations. **Journal of Agromedicine**, v.5, n.1, p.17-24, set. 1998.
21 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1300/J096v05n01_03>. Acesso em: 12 jan. 2011. doi:
22 10.1300/J096v05n01_03.

1 ARENDS, J.P.; ZANEN, H.C. Meningitis caused by *Streptococcus suis* in humans. **Review of**
2 **Infectious Diseases**, v.10, n.1, p.131-137, jan./fev. 1988. Disponível em:
3 <<http://cid.oxfordjournals.org/content/10/1/131.full.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2011.

4 BAELE, M. et al. The gram-positive tonsillar and nasal flora of piglets before and after weaning.
5 **Journal of Applied Microbiology**, v.91, n.6, p.997-1003, dez. 2001. Disponível em:
6 <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.2001.01463.x/pdf>>. Acesso em: 12 jan.
7 2011. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01463.x/pdf.

8 BOETNER, A.G. et al. *Streptococcus suis* infection in Danish pigs and experimental infection
9 with *Streptococcus suis* serotype 7. **Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica**
10 **Scandinavica B**, v.95, n.4, p.233-239, ago. 1987.

11 BOSCO, S.M.G. et al. *Streptococcus suis* tipo II e perfil de susceptibilidade à antimicrobianos.
12 **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, n.2, p.157-160, jul./dez. 2000. Disponível em:
13 <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V67_2/2.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2011.

14 BRISEBOIS, L.M. et al. Prevalence of *Streptococcus suis* in Four to Eight Week Old Clinically
15 Healthy Piglets. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.54, n.1, p.174-177, jan. 1990.
16 Disponível em: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1255624/pdf/cjvetres00045-](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1255624/pdf/cjvetres00045-0176.pdf)
17 0176.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2011.

18 CLOUTIER G. et al. Epidemiology of *Streptococcus suis* serotype 5 infection in a pig herd with
19 and without clinical disease. **Veterinary Microbiology**, v.97, p.135-151, dez. 2003. doi:
20 10.1016/j.vetmic.2003.09.018.

21 COSTA, A.T.R. et al. Serotyping and evaluation of the virulence in mice of *Streptococcus suis*
22 strains isolated from diseased pigs. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**,
23 v.47, n.2, p.113-115, mar./abr. 2005. Disponível em:

1 <<http://www.scielo.br/pdf/rimtsp/v47n2/23952.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2011. doi:
2 10.1590/S0036-46652005000200012.

3 DEL'ARCO, A.E. et al. Swine infection by *Streptococcus suis*: a retrospective study. **Arquivo**
4 **Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.878-883, ago. 2008. Disponível
5 em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v60n4/16.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2011. doi:
6 10.1590/S0102-09352008000400016.

7 ELLIOTT, S.D.; TAI, J.Y. The type-specific polysaccharides of *Streptococcus suis*. **Journal of**
8 **Experimental Medicine**, v.148, p.1699-1704, dez. 1978. Disponível em:
9 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2185096/pdf/je14861699.pdf>>. Acesso em: 11
10 jan. 2011.

11 FARIA, A.C.S. et al. Prevalência de *Streptococcus suis* tipo 2 por meio da técnica de reação em
12 cadeia da polimerase em suínos abatidos no Estado do Mato Grosso. **Ciência Rural**, v.40, n.1,
13 p.130-134, jan./fev. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v40n1/a433cr1905.pdf>>.
14 Acesso em: 12 jan. 2011. doi: 10.1590/S0103-84782009005000238.

15 FITTIPALDI, N. et al. Serotype distribution and production of muramidase-released protein,
16 extracellular factor and suilysin by field strains of *Streptococcus suis* isolated in the United
17 States. **Veterinary Microbiology**, v.139, p.310-317, nov. 2009. doi:
18 10.1016/j.vetmic.2009.06.024.

19 FLORES, J.L.M. et al. Distribution of the different capsular types of *Streptococcus suis* in
20 nineteen swine nurseries. **Canadian Veterinary Journal**, v.34, p.170-171, mar. 1993.
21 Disponível em: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686519/pdf/canvetj00364-](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686519/pdf/canvetj00364-0044.pdf)
22 0044.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2011.

1 GALINA, L. et al. Porcine *Streptococcus suis* in Minnesota. **Journal of Veterinary Diagnostic**
2 **Investigation**, v.4, p.195-196, 1992. Disponível em: <<http://jvdi.org/cgi/reprint/4/2/195.pdf>>.
3 Acesso em: 11 jan. 2011.

4 GOTTSCHALK, M. et al. Description of 14 new capsular types of *Streptococcus suis*. **Journal**
5 **of Clinical Microbiology**, v.27, n.12, p.2633-2636, dez. 1989. Disponível em:
6 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC267098/pdf/jcm00072-0025.pdf>>. Acesso em:
7 11 jan. 2011.

8 GOTTSCHALK, M. et al. Isolation and Characterization of *Streptococcus suis* capsular types 9-
9 22. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.3, p.60-65, 1991a. Disponível em:
10 <<http://jvdi.org/cgi/reprint/3/1/60>>. Acesso em: 11 jan. 2011.

11 GOTTSCHALK, M. et al. Characterization of six new capsular types (23 through 28) of
12 *Streptococcus suis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.29, n.11, p.2590-2594, nov. 1991b.
13 Disponível em: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC270378/pdf/jcm00047-](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC270378/pdf/jcm00047-0244.pdf)
14 0244.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2011.

15 GOTTSCHALK, M. et al. Use of polyvalent coagglutination reagents for serotyping of
16 *Streptococcus suis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.31, n.8, p.2192-2194, ago. 1993.
17 Disponível em: <<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/31/8/2192.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2011.

18 GOTTSCHALK, M. et al. Immunomagnetic Isolation of *Streptococcus suis* Serotypes 2 and 1/2
19 from Swine Tonsils. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, n.9, p.2877-2881, set. 1999.
20 Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC85402/pdf/jm002877.pdf>>.
21 Acesso em: 11 jan. 2011.

22 GOTTSCHALK, M. et al. *Streptococcus suis* infections in humans: the Chinese experience and
23 the situation in North America. **Animal Health Research Reviews**, v.8, p.29-45, ago. 2007. doi:
24 10.1017/S1466252307001247.

1 HALEISIS, A. et al. Meningitis caused by *Streptococcus suis* serotype 14, North America.
2 **Emerging Infectious Disease**, v.15, n.2, p.350-352, fev. 2009. Disponível em:
3 <<http://www.cdc.gov/eid/content/15/2/pdfs/350.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2011.

4 HAN, D.U. et al. Prevalence, capsular type and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis*
5 isolated from slaughter pigs in Korea. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.65, n.3,
6 p.151-155, jul. 2001. Disponível em:
7 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1189668/pdf/cjvetres00003-0017.pdf>>. Acesso
8 em: 12 jan. 2011.

9 HIGGINS, R. et al. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types In Quebec and Western
10 Canadá. **Canadian Veterinary Journal**, v.33, p.27-30, jan. 1992. Disponível em:
11 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1481170/pdf/canvetj00050-0029.pdf>>. Acesso
12 em: 11 jan. 2011.

13 HIGGINS, R. et al. Description of six new capsular types (29–34) of *Streptococcus suis*. **Journal**
14 **of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p.405–406, 1995. Disponível em:
15 <<http://jvdi.org/cgi/reprint/7/3/405.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2011.

16 HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M. An update on *Streptococcus suis* identification. **Journal of**
17 **Veterinary Diagnostic Investigation**, v.2, p.249-252, 1990. Disponível em:
18 <<http://www.jvdi.org/cgi/reprint/2/3/249>>. Acesso em: 11 jan. 2011.

19 HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types in Canada
20 in 1992. **Canadian Veterinary Journal**, v.34, n.7, p.442, jul. 1993. Disponível em:
21 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686475/pdf/canvetj00368-0060a.pdf>>. Acesso
22 em: 11 jan. 2011.

23 HIGGINS, R.; GOTTSCHALK, M. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types in 2000.
24 **Canadian Veterinary Journal**, v.42, n.3, p.223, 2001. Disponível em:

1 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1476471/pdf/canvetj00003-0065.pdf>>. Acesso
2 em: 09 fev. 2011.

3 HIGGINS R.; GOTTSCHALK M. Streptococcal diseases. In: STRAW B.E.; D'ALLAIRE S.;
4 MENGELING W.L.; TAYLOR D.J. **Diseases of swine**. Ames, IA: Iowa State University, 2005.
5 p.769–83.

6 JACOBS, A.A. et al. Production of suilysin, the thiol-activated haemolysin of *Streptococcus suis*
7 by field isolates from diseased pigs. **Veterinary Record**, v.137, n.12, p.295-296, set. 1995.

8 KATAOKA, Y. Detection of *Streptococcus suis* type 2 in tonsils of slaughtered pigs using
9 improved selective and differential media. **Veterinary Microbiology**, v.28, n.4, p.335-342, ago.
10 1991. doi: 10.1016/0378-1135(91)90068-Q.

11 KATAOKA, Y. et al. The epidemiological studies of *Streptococcus suis* infections in Japan from
12 1987 to 1991. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.55, n.4, p.623-626, ago. 1993.

13 KATSUMI, M. et al. Bacterial isolation from slaughtered pigs associated with endocarditis,
14 especially the isolation of *Streptococcus suis*. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.59,
15 n.1, p.75-78, jan. 1997. Disponível em: <http://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/59/1/75/_pdf>.
16 Acesso em: 11 jan. 2011.

17 LARA, A.C. et al. Prevalência de *Streptococcus suis* sorotipo 2 em tonsilas de suínos sadios em
18 idade de abate no Estado de Santa Catarina. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.2, p.31-34,
19 2007. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/veterinary/article/view/9906/6816>>.
20 Acesso em: 12 jan. 2011.

21 LUQUE, L. et al. *Streptococcus suis* serotypes associated with different disease conditions in
22 pigs. **Veterinary Record**, v.142, n.26, p.726-727, jun.1998. doi: 10.1136/vr.142.26.726.

1 LUN, Z.R. et al. *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen. **Lancet Infectious**
2 **Diseases**, v.7, p.201-209, mar. 2007. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70001-4)
3 [3099\(07\)70001-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70001-4)>. Acesso em: 30 set. 2009. doi: 10.1016/S1473-3099(07)70001-4.

4 MACLENNAM, M. et al. *Streptococcus suis* serotypes 7, 8 and 14 from diseased pigs in
5 Scotland. **Veterinary Record**, v.139, n.17, p.423-424, out. 1996.

6 MADUREIRA JÚNIOR, S.; SONCINI, R. Meningite estreptocócica, experiência da
7 agroindústria. In: SIMPÓSIO SOBRE MENINGITE ESTREPTOCÓCICA SUÍNA E
8 PLEUROPNEUMONIA SUÍNA, 1999, Lages, Embrapa, CNPSA. **Anais**. 1999. p.24-27.

9 MAROIS, C. et al. Multiplex PCR Assay for Detection of *Streptococcus suis* Species and
10 Serotypes 2 and 1/2 in Tonsils of Live and Dead Pigs. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42,
11 n.7, p.3169-3175, jul. 2004. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/42/7/3169.pdf>>.
12 Acesso em: 11 jan. 2011. doi: 10.1128/JCM.42.7.3169-3175.2004.

13 MAROIS, C. et al. Detection and molecular typing of *Streptococcus suis* in tonsils from live pigs
14 in France. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.71, n.1, p.14-22, jan. 2007. Disponível
15 em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1635993/pdf/cjvr71pg14.pdf>>. Acesso em:
16 11 jan. 2011.

17 MESSIER, S. et al. Distribution of *Streptococcus suis* capsular types from 2001 to 2007.
18 **Canadian Veterinary Journal**, v.49, n.5, p.461-462, mai. 2008. Disponível em:
19 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2359489/pdf/cvj49pg461.pdf>>. Acesso em: 11
20 jan. 2011.

21 OKWUMABUA, O. et al. A polymerase chain reaction (PCR) assay for *Streptococcus suis*
22 based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase. **Federation of European**
23 **Microbiological Societies - Microbiology Letters**, v.218, n.1, p.79-84, jan. 2003. Disponível em:

1 <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6968.2003.tb11501.x/pdf>>. Acesso em: 11
2 jan. 2011. doi: 10.1016/S0378-1097(02)01127-8.

3 OLIVEIRA, J.T. **Prevalência e sensibilidade aos antimicrobianos de *Streptococcus suis***
4 **sorotipo 2 em suínos abatidos em frigoríficos de Mato Grosso**. Dissertação (Mestrado) –
5 Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Mato Grosso.

6 PAGNANI, K.J.R. et al. Sorotipagem de amostras de *Streptococcus suis* isoladas de suínos em
7 granjas dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**,
8 v.22, n.1, p.1-5, jan./mar. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v22n1/8864.pdf>>.
9 Acesso em: 12 jan. 2011. doi: 10.1590/S0100-736X2002000100002.

10 PERCH, B. et al. Serology of capsulated streptococci pathogenic for pigs: six new serotypes of
11 *Streptococcus suis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.17, n.6, p.993-996, jun. 1983.
12 Disponível em: <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC272789/pdf/jcm00143-](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC272789/pdf/jcm00143-0065.pdf)
13 [0065.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC272789/pdf/jcm00143-0065.pdf)>. Acesso em: 11 jan. 2011.

14 SALA, V. et al. Distribution of capsular types and hemolysin production of *Streptococcus suis*
15 isolates in northern Italy. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS,
16 1996, Bologna, Point. **Proceedings**. Bologna, 1996. v.14. p.307.

17 SANTOS, J.L. et al. Distribuição de sorotipos de *Streptococcus suis* em suínos clinicamente
18 doentes no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS
19 EM SUÍNOS (ABRAVES), 1999, Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte, 1999. p. 239-240.

20 SERHIR, B. et al. Detection of immunoglobulin-G-binding proteins in *Streptococcus suis*.
21 **Journal of General Microbiology**, v.139, p.2953-2958, 1993. Disponível em:
22 <<http://mic.sgmjournals.org/cgi/reprint/139/12/2953>>. Acesso em: 11 jan. 2011. doi:
23 10.1099/00221287-139-12-2953.

1 SEPÚLVEDA, E.M.C. et al. Detection of antibodies against *Streptococcus suis* capsular serotype
2 using a purified polysaccharide antigen-based indirect ELISA. **Veterinary Microbiology**, v.52,
3 n.1-2, p.113-125, set. 1996. doi: 10.1016/0378-1135(96)00056-9.

4 SIHVONEN, L. et al. *Streptococcus suis* isolated from pigs in Finland. **Acta Veterinaria**
5 **Scandinavica**, v.29, n.1, p.9-13, 1988.

6 SMITH, H.E. et al. Rapid PCR test for *Streptococcus suis* serotype 7. **Federation of European**
7 **Microbiological Societies - Microbiology Letters**, v.178, p.265-270, set. 1999a. Disponível em:
8 <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6968.1999.tb08686.x/pdf>>. Acesso em: 11
9 jan. 2011. doi: 10.1016/S0378-1097(99)00365-1.

10 SMITH, H.E. et al. The *cps* Genes of *Streptococcus suis* Serotypes 1, 2, and 9: Development of
11 Rapid Serotype-Specific PCR Assays. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, n.10, p.3146-
12 3152, out. 1999b. Disponível em:
13 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC85514/pdf/jm003146.pdf>>. Acesso em: 11 jan.
14 2011.

15 SOBESTIANSKY, J. et al. **Clínica e Patologia Suína**. Goiás: Goiânia, 2001. 464p.

16 STAATS, J.J. et al. *Streptococcus suis*: past and present. **Veterinary Research**
17 **Communications**, v.21, n.6, p.381-407, ago. 1997. doi: 10.1023/A:1005870317757.

18 TOUIL, F. et al. Isolation of *Streptococcus suis* from diseased pigs in Canada. **Veterinary**
19 **Microbiology**, v.17, p.171-177, jun. 1988. doi: 10.1016/0378-1135(88)90008-9.

20 VELA, A.I. et al. Analysis of Genetic Diversity of *Streptococcus suis* Clinical Isolates from Pigs
21 in Spain by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, n.6,
22 p.2498-2502, 2003. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/41/6/2498>>. Acesso em: 30
23 jan. 2011. doi: 10.1128/JCM.41.6.2498.2502.2003.

1 VILAICHONE, R.K. et al. *Streptococcus suis* peritonitis: case report. **Journal of The Medical**
2 **Association of Thailand**, v.83, n.10, p.1274-1277, out. 2000.

3 WEI, Z. et al. Characterization of *Streptococcus suis* isolates from the diseased pigs in China
4 between 2003 and 2007. **Veterinary Microbiology**, v.137. n.1-2, p.196-201, mai. 2009. doi:
5 10.1016/j.vetmic.2008.12.015.

6 WISSELINK, H.J. et al. Detection of virulent strains of *Streptococcus suis* type 2 and highly
7 virulent strains of *Streptococcus suis* type 1 in tonsillar specimens of pigs by PCR. **Veterinary**
8 **Microbiology**, v.67, n.2, p.143-157, jun. 1999. doi: 10.1016/S0378-1135(99)00036-X.

9 WISSELINK, H.J. et al. Distribution of capsular types and production of muramidase released
10 protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased
11 pigs in seven European countries. **Veterinary Microbiology**, v.74, n.3, p.237-248, jun. 2000.
12 doi: 10.1016/S0378-1135(00)00188-7.

13 WISSELINK, H.J. et al. Multiplex PCR Assays for Simultaneous Detection of Six Major
14 Serotypes and Two Virulence-Associated Phenotypes of *Streptococcus suis* in Tonsillar
15 Specimens from Pigs. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, n.8, p.2922-2929, ago. 2002.
16 Disponível em: <<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/40/8/2922.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2011. doi:
17 10.1128/JCM.40.8.2922-2929.2002.

18 ZHANG, C.P. et al. Prevalence of *Streptococcus suis* Isolated from Clinically Healthy Sows in
19 China. **Agricultural Science in China**, v.8, n.5, p.638-642, mai. 2009. doi: 10.1016/S1671-
20 2927(08)60257-6.

CIÊNCIA RURAL

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo .doc, .pdf).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo .doc, .pdf).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** (Modelo .doc, .pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Wiley, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests ***Tribolium confusum*** (Coleoptera: Tenebrionidae), ***Tenebrio molitor*** (Coleoptera: Tenebrionidae), ***Sitophilus granarius*** (Coleoptera: Curculionidae) and ***Plodia interpunctella*** (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaeophilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: [http://www. Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

LISTA DE VERIFICAÇÃO

Lista de verificação – Ciência Rural

Esta lista de verificação foi elaborada para que os autores possam fazer a conferência do formato de seus manuscritos ANTES de submetê-los para publicação. A lista foi elaborada com base nas normas da revista. São perguntas diretas. Respostas AFIRMATIVAS estabelecem uma concordância com as normas. O trabalho poderá ser enviado e será protocolado rapidamente e enviado aos consultores. Caso as respostas sejam NEGATIVAS o trabalho deverá ser adaptado às normas da revista. *O envio do trabalho com respostas NEGATIVAS implicará no arquivamento do artigo até que os problemas sejam sanados.*

A- Referente ao trabalho:

1. O trabalho é original?
2. O trabalho representa uma contribuição científica para a área de Ciências Agrárias?
3. O trabalho está sendo enviado com exclusividade para a Ciência Rural?
4. O idioma usado está de acordo com as normas?
5. As normas da revista foram seguidas rigorosamente (lembre-se que caso as mesmas não tenham sido seguidas seu trabalho não irá tramitar. Retarde o envio mais alguns dias, mas confira as normas várias vezes e, principalmente, visite um trabalho de sua área para usar como modelo. Lembre-se, os mesmos estão disponíveis com acesso sem custos no site do SCIELO www.scielo.br/cr/)?

B- Documentação e normas:

1. O tamanho da folha é A4 (210x297mm), as margens superior, inferior, direita e esquerda têm pelo menos 2,5cm, o manuscrito tem no máximo 25 linhas por página (OBS.: As tabelas não devem ultrapassar as margens da página e não devem estar em modo “paisagem”)?
2. O trabalho está de acordo com as normas da revista, 20 páginas para revisão, 15 para artigo científico e 8 para nota (OBS.: O texto não deve estar em colunas, lembre-se cada figura ou tabela será uma página, o equivalente a uma lauda)?

- 3.** O espaçamento de todo artigo é duplo, inclusive nas referências, e foi usada fonte times New Roman 12?
- 4.** Todas as páginas estão numeradas, inclusive a primeira, preferencialmente no canto inferior direito?
- 5.** Está sendo enviada a taxa de tramitação (referente a depósito bancário, o código verificador refere-se ao CPF pessoa física e CNPJ pessoa jurídica) e a mesma está bem identificada (nome do remetente do numerário e título do trabalho)?
- 6.** O valor da taxa de tramitação está correta (verifique mais de uma vez, muitos trabalhos não tem tramitado por erros no valor enviado)?
- 7.** No caso de pagamento com cheque o mesmo está nominal a FATEC (OBS.: O artigo só será tramitado após o recebimento do cheque)?
- 8.** No caso de pagamento com cartão de crédito VISA, todas as identificações foram seguidas corretamente?
- 9.** As especificações para emissão do recibo estão claras?
- 10.** O nome dos autores está por extenso (ex.: Pedro Paulo Fulano e não Fulano, P.P.)?
- 11.** O endereço do autor de correspondência está completo (inclusive Cep e e-mail)?
- 12.** Todas as afiliações estão corretamente identificadas, o departamento, a instituição, a cidade o estado e o país para todos os autores?
- 13.** Todas as referências estão citadas ao longo do texto?
- 14.** Todas as referências citadas ao longo do texto estão corretamente descritas, conforme as normas da Ciência Rural, e aparecem listadas (grande parte dos trabalhos enviados apresentam problemas no referido item e a aprovação é retardada por isso retenha o trabalho por mais alguns dias e confira as mesmas por duas ou mais vezes)?
- 15.** As figuras e tabelas têm chamada ao longo do texto e aparecem individualmente depois das referências conforme as normas?
- 16.** A(s) tabela(s) se existentes estão no formato retrato (Ciência Rural não aceita mais trabalhos com tabelas no formato paisagem devido dificuldades de formatação mas principalmente pela péssima visualização que as mesmas apresentam no trabalho final)?
- 17.** As figuras apresentam qualidade superior?
- 18.** As figuras foram salvas em arquivos a parte do texto (conforme normas)?

19. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética e biossegurança da instituição, quando necessário (vide normas)?

Obs.: Se você respondeu afirmativamente as perguntas que se aplicam a seu trabalho envie o mesmo, caso contrário, o mesmo não será protocolado.