



## Sorotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolados no Brasil de 1993 a 2006

Serotypes of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated in Brazil from 1993 to 2006

Suzana Satomi Kuchiishi<sup>1</sup>, Jalusa Deon Kich<sup>2</sup>, Marni Lúcia Fracasso Ramenzoni<sup>2</sup>, Denis Spricigo<sup>3</sup>, Catia Silene Klein<sup>2</sup>, Maria Bernardete Burin Fávero<sup>2</sup> & Itamar Antônio Piffer<sup>4</sup>

### RESUMO

A pleuropneumonia suína (PPS) é uma doença infecto-contagiosa decorrente da infecção e efeitos patológicos do *Actinobacillus (A.) pleuropneumoniae*, caracterizada por pneumonia necrótica e hemorrágica associada à pleurisia fibrinosa. A doença causa prejuízos devido a perdas por morte, pouco desenvolvimento e condenações de carcaças no abatedouro. O isolamento do *A. pleuropneumoniae* é necessário para investigação de resistência a antibióticos e a identificação do sorotipo é importante para estudos epidemiológicos e controle da doença através de programas de vacinações. Este trabalho mostra a ocorrência dos sorotipos da bactéria através da sorotipificação pela composição da cápsula polissacarídea por imunodifusão em gel de agarose contra soros dos sorotipos 1 ao 12. As amostras (399) analisadas foram isoladas no período de 1993 a 2006 em diferentes regiões do Brasil. Houve 171 amostras não sorotificáveis. Durante o período estudado, os sorotipos mais prevalentes foram 5 (14,8%), 3 (13,8%), 10 (7,3%), 6 (6,5%) e 7 (5%). Foi observado diminuição na ocorrência dos sorotipos 5 e 3 a partir do ano de 2000, indicando que as vacinas empregadas possivelmente diminuiram a doença clínica. Neste tempo, outros sorotipos como o 4, 6, 8 e 10 ocorreram, o que requer maior atenção no comércio de animais, assim como o monitoramento dos rebanhos brasileiros.

**Descritores:** *Actinobacillus pleuropneumoniae*, pleuropneumonia suína, sorotipificação, antígeno capsular.

### ABSTRACT

Porcine pleuropneumonia is an infect-contagious disease caused by infection and pathological effects of *Actinobacillus (A.) pleuropneumoniae*, characterized by necrotic and hemorrhagic pneumonia associated to the fibrinous pleurisy. The disease causes economic losses from death, lower weight gain and carcasses depreciation in the slaughterhouse. *A. pleuropneumoniae* isolation is necessary for antibiotic resistance investigation and serotyping, that is important for epidemiological studies and control of the disease by vaccination programs. This work shows the occurrence of *A. pleuropneumoniae* serotypes by the polysaccharide capsule identification using immunodiffusion in agarosis gel with serum against serotypes 1 to 12. The samples (399) analyzed were isolated from 1993 to 2006 at different Brazilian's regions. There was 171 (42,9%) samples that were no serotyping. During the studied time the most prevalent serotypes were 5 (14,8%), 3 (13,8%), 10 (7,3%), 6 (6,5%) and 7 (5%). A decrease in the occurrence of the serotypes 5 and 3 was observed from 2000, indicating that the vaccination programs possibly reduced the clinical disease. In this time other serotypes 4, 6, 8 and 10 occurred, that requests larger attention in the trade of animals as well as the monitoring of the Brazilian herds.

**Key words:** *Actinobacillus pleuropneumoniae*, swine pleuropneumonia, serotyping, capsular antigen.

## INTRODUÇÃO

A pleuropneumonia suína (PPS) é distribuída mundialmente e sua importância é maior nas regiões de produção intensiva de suínos. As perdas econômicas ocorrem devido à piora na conversão alimentar, mortalidade, gastos com medicamentos, vacinações e condenação de vísceras e carcaças no abatedouro. No Brasil, a PPS foi diagnosticada pela primeira vez em Santa Catarina em 1981 [8]. A partir de então vários surtos desta doença foram diagnosticados no sul do Brasil [13].

O *A. pleuropneumoniae*, a bactéria causadora da PPS possui até o momento 15 sorotipos descritos, sendo que a diferença entre eles é determinada pela composição da cápsula polissacarídea que cobre a parede celular. Com base nessa informação, 12 sorotipos foram anteriormente classificados para o biotipo 1 que requer nicotina amida adenina dinucleotídeo (NAD) para o seu crescimento [10]. Os sorotipos 13 e 14 são NAD independentes, biotipo 2 e o último sorotipo descrito foi o 15 que também é NAD dependente [1,11].

O objetivo do presente trabalho foi mostrar a ocorrência dos sorotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* de amostras isoladas no Brasil através da sorotipificação pela composição da cápsula polissacarídea por imunodifusão em gel de agarose no período de 1993 a 2006.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de *A. pleuropneumoniae* foram isoladas de material proveniente de nódulos pulmonares, biopsia de tonsila, suabes de cavidade nasal ou cultura enviada a Embrapa Suínos e Aves para diagnóstico e sorotipificação. O *A. pleuropneumoniae* cresce em agar sangue com 5% de sangue ovino com estria perpendicular de *Staphylococcus aureus*, fornecedora de NAD, produzindo hemólise. As colônias NAD-dependentes foram submetidas à caracterização bioquímica e classificação das espécies, conforme métodos e tabelas já descritas [6,9]. A técnica utilizada para sorotipagem foi a imunodifusão com extração fenólica de antígeno capsular contra os soros hiperimunes dos 12 sorotipos padrões (1 ao 12) de *A. pleuropneumoniae* [12]. O sorotipo 15 não foi incluído neste trabalho. Os soros foram produzidos em coelhos e aqueles que produziram reação cruzada foram absorvidos com um sorotipo heterólogo, com o intuito de remover anticorpos comuns à espécie [5]. De 1993 a 2006 foram sorotipificados 399 amostras.

## RESULTADOS

Na Tabela 1 encontram-se os resultados das sorotipificações realizadas a cada ano desde 1993 a 2006 em várias regiões do Brasil.

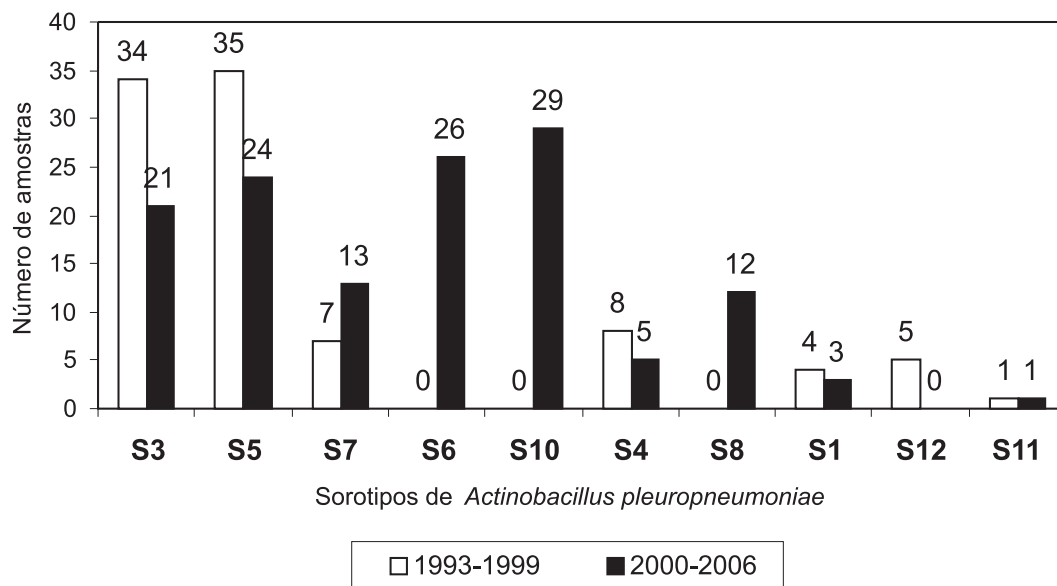
## DISCUSSÃO

A sorotipificação do *A. pleuropneumoniae* no Brasil iniciou-se na década de 80. De 1981 a 1993 foram sorotipificadas 55 amostras de *A. pleuropneumoniae*, das quais 30 pertenciam ao sorotipo 5, quinze ao sorotipo 3 e sete ao sorotipo 7 [14]. Os autores demonstraram a maior prevalência do sorotipo 5 no Brasil, seguido do 3 e 7 e um aumento da ocorrência do sorotipo 3 considerado menos virulento, cuja disseminação pode ter ocorrido pelo comércio de animais. Houve um aumento do número de sorotipos presentes no país, de 1981-1985 foram diagnosticados os sorotipos 5 e 7, de 1986-1989, os sorotipos 3, 5 e 7, de 1990-1993, os sorotipos 1, 3, 5, 7 e 9 e no presente trabalho de 1993-2006 a ocorrência dos sorotipos 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11 e 12 conforme a Figura 1, ou seja, neste período, a ocorrência de sorotipos que ainda não haviam sido relatados no Brasil (sorotipos 4, 8 e 11). Em 1999 isolou-se pela primeira vez no Brasil o sorotipo 12 e no mesmo ano através de soroaaglutinação rápida em placa, demonstrou-se a ocorrência do sorotipo 6 (9/24) [3,7]. Em 2002, houve o primeiro relato de surto pelo sorotipo 10 em Minas Gerais, a partir de então ocorreu um aumento de casos de PPS causados por este sorotipo [4]. Nota-se que até 1999, era grande o número de isolamentos dos sorotipos 5 e 3, mas que de 2000 em diante houve uma considerável diminuição, enquanto que outros sorotipos apareceram e aumentaram sua importância. O que pode ter acontecido é que as vacinas conseguiram diminuir a doença clínica nos rebanhos que era causada pelos sorotipos 3 e 5, oportunizando o diagnóstico de outros sorotipos. Somando todas as amostras, observa-se que o sorotipo 5 ainda é o mais prevalente (59/399) seguido dos sorotipos 3, 10, 6, 7, 4 e 8. Em todo o período, houve 171 amostras não sorotipáveis, fato que pode ter ocorrido devido a algumas amostras perderem a capacidade de produzir cápsula, por limitação do método utilizado, presença do sorotipo 15 ou outros sorotipos ainda não descritos. Esses resultados demonstram a dinâmica epidemiológica entre os sorotipos no Brasil e chamam a atenção para a necessidade de identifica-

**Tabela 1.** Número de amostras sorotipificadas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* através de imunodifusão em agarose durante o período de 1993 a 2006 em diferentes regiões do Brasil.

	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Total
S1	-	2	-	-	-	-	2	-	3	-	-	-	-	-	7
S2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
S3	2	10	18	1	2	1	-	-	-	-	1	-	4	16	55
S4	-	-	-	8	-	-	-	1	1	1	-	-	2	-	13
S5	27	7	1	-	-	-	-	1	-	5	7	7	3	1	59
S6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	18	2	1	26
S7	5	-	2	-	-	-	-	2	1	1	-	1	-	8	20
S8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	12
S9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
S10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	8	11	7	29
S11	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
S12	-	-	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
NS	2	-	19	61	-	1	8	2	13	4	5	11	38	7	171

S = sorotipo; NS = não sorotificável.



**Figura 1.** Ocorrência de sorotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* durante o período de 1993-1999 e 2000-2006 no Brasil.

ção do sorotipo, pois para o controle da doença, o conhecimento dos sorotipos de *A. pleuropneumoniae* existentes numa região é importante, pois nem sempre as vacinas disponíveis contemplam o sorotipo presente. A monitoria de cepas novas introduzidas no rebanho, assim como infecções associadas de sorotipos podem ser limitantes à eficiência de programas de controle específicos [2].

#### CONCLUSÕES

O trabalho mostra o aumento da ocorrência dos sorotipos 4, 6, 8 e 10 de *Actinobacillus pleuropneumoniae* no Brasil, o que requer maior atenção no comércio de animais, assim como o monitoramento dos rebanhos brasileiros, demonstrando a importância da identificação do sorotipo para utilizar-se vacina correta e diminuir os efeitos da doença.

#### REFERÊNCIAS

- 1 **Blackall P.J., Klaasen H.L., Van Den Bosch H., Kuhnert P. & Frey J. 2002.** Proposal of a new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 15. *Veterinary Microbiology*. 84 (Suppl 1): 47-52.
- 2 **Chiers K., Donne E., Van Overbeke I., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. 2002.** *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in closed swine herds: infection patterns and serological profiles. *Veterinary Microbiology*. 85: 343-352.
- 3 **Costa A.T.R, Reis R., Ferreira H.B.C. & Reis F.T. 1999.** Sorotipificação de *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolados de lesões pulmonares de suínos. In: Resumos do IX Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos (Belo Horizonte, Brasil). p.179-180.
- 4 **Costa A.T.R, Reis R. & Ferreira H.B.C. 2003.** Isolamento e controle do *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) sorotipo 10 de um surto de pleuropneumonia suína. In: XI Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos (Goiânia, Brasil). p.29-30.
- 5 **Gunnarson A., Biberstein E.L. & Hurvell B. 1977.** Serologic studies on porcine strains of *Haemophilus paraahaemolyticus* (*pleuropneumoniae*). Agglutination reactions. *American Journal of Veterinary Research*. 38: 1111-1114.
- 6 **Gutierrez C.B., Tascon R.I. & Rodríguez-Barbosa J.I. 1993.** Characterization of V factor-dependent organisms of the family *Pasteurellaceae* isolated from porcine pneumonic lungs in Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease*. 6: 123-130.
- 7 **Kich J.D., Piffer I.A., Barcellos D.E.S.N., Guidoni A.L. & Klein C.S. 1999.** Utilização de um teste de ELISA polivalente para detecção de anticorpos para *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 51 (Suppl 5). 409-414.
- 8 **Locatelli J.C., Machado A. & Silva A.S. 1981.** Ocorrência de pleuropneumonia suína devido a *Haemophilus pleuropneumoniae*. In: Resumos do VI Congresso Estadual de Medicina Veterinária (Gramado, Brasil). p.36-37.
- 9 **Möller K. & Killian M. 1990.** V Factor-dependent members of the family *Pasteurellaceae* in the porcine upper respiratory tract. *Journal of Clinical Microbiology*. 28: 2711-2716.
- 10 **Nielsen R. 1986.** Serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) strains and proposal of a new serotype: 9. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 27: 453-455.
- 11 **Nielsen R., Andresen L.O. & Plambeck T. 1997.** Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 2 strains isolated from pigs in two Danish herds. *Veterinary Microbiology*. 54: 35-46.
- 12 **Nielsen R. & O'Conner P.J. 1983.** Serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* strains and proposal of a new serotype: serotype 8. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 25: 96-106.
- 13 **Piffer I.A., Brito M.A.V.P. & Brito J.R.F. 1987.** Sorotipos de *Haemophilus* (*Actinobacillus*) *pleuropneumoniae* isolados de suínos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 7: 79-83.
- 14 **Piffer I.A., Klein C. & Fávero M.B.B. 1997.** Caracterização bioquímica e sorológica de amostras de *Actinobacillus pleuropneumoniae* isoladas no Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 49 (Suppl 1). 123-129.