

# SOROTIPOS DE *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* ISOLADOS DE SUÍNOS NO BRASIL<sup>1</sup>

ITAMAR A. PIFFER<sup>2</sup>, MARIA APARECIDA V.P. BRITO<sup>2</sup>, JOSÉ REINALDI F. BRITO<sup>2</sup>  
e DAVID EMÍLIO S.N. de BARCELLOS<sup>3</sup>

**ABSTRACT.-** Piffer I.A., Brito M.A.V.P., Brito, J.R.F. & Barcellos D.E.S.N. 1985. [Serotypes of *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* isolated from swine in Brazil.] Sorotipos de *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* isolados de suínos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(3): 79-83. Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Embrapa, Caixa Postal D-3, Concórdia, SC 89700, Brazil.

Thirty-three strains of *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* biovar 1 were isolated from swine lungs with acute or chronic lesions of swine pleuropneumonia, with one exception, which was isolated from the nasal cavity of a pig from a problem herd. These strains originated from 14 herds, ten located in the State of Santa Catarina, three in Rio Grande do Sul and one in São Paulo. Serotyping was done by rapid slide agglutination (RSA), immunofluorescence (IF), counterimmunoelectrophoresis (CIE) and immunodiffusion (ID). Twenty-two (66%) of the 33 strains could be serotyped, 19 belonged to serotype 5 and three to serotype 3. All serotype 3 strains together with those not possible to be serotyped originated from swine of the same herd, Santa Catarina, one in which serotype 5 was also isolated. The IF and CIE were the most sensitive tests, while the ID was the least sensitive. Three strains could not be serotyped by the RSA because they auto-agglutinated.

**INDEX TERMS:** Swine pleuropneumonia, serotypes, *Haemophilus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Brazil.

**SINOPSE.-** Isolaram-se 33 amostras de *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae*, biovar 1, sendo que 32 originaram-se de pulmões de suínos com lesões macroscópicas agudas ou crônicas de Pleuropneumonia Suína (PPS) e uma amostra da cavidade nasal de um suíno de granja problema. Estas amostras foram coletadas em 14 propriedades, sendo dez localizadas no Estado de Santa Catarina, três no Rio Grande do Sul e uma em São Paulo. Para a sorotipagem utilizaram-se as técnicas de soroaglutinação rápida (SAR), imunofluorescência (IF), imunoeletrosmoforesis (IEOF) e imunodifusão (ID). Das 33 amostras, 22 (66%) foram sorotipadas e, entre estas, 19 pertenciam ao sorotipo 5 e três ao sorotipo 3. As amostras do sorotipo 3 e aquelas não sorotipadas originaram-se de suínos de uma mesma propriedade do Estado de Santa Catarina, onde também isolou-se o sorotipo 5. Os testes de IF e IEOF foram os mais sensíveis e o de ID apresentou a menor sensibilidade. Três amostras não puderam ser sorotipadas pelo teste de SAR porque auto-aglutinavam.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Pleuropneumonia suína, sorotipos, *Haemophilus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Brasil.

## INTRODUÇÃO

*Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* (Hpp) é o agente primário da Pleuropneumonia Suína (PPS), que se caracte-

teriza por uma pneumonia necrótica e hemorrágica, frequentemente associada a uma pleurisia fibrinosa (Nicolet & Scholl 1981). O primeiro surto desta doença foi descrito na Inglaterra (Mathews & Pattison 1961); em seguida, nos Estados Unidos (Olander 1963) e na Argentina (Shope 1964). Presentemente já existem relatos da ocorrência da PPS em todos os países onde a produção de suínos é intensiva (Nicolet 1985).

No Brasil, a PPS foi diagnosticada, pela primeira vez, por Locatelli et al. (1981). A partir de então vários surtos desta doença foram diagnosticados no Sul do Brasil, onde a suinocultura é praticada de forma mais intensiva (Piffer et al. 1982). Nestes sistemas, os prejuízos são decorrentes de alta mortalidade, na forma aguda, e pouco desenvolvimento, na forma crônica. Acresce a estas perdas o grande número de condenações de carcaças ao abate.

Na avaliação do desempenho econômico de uma unidade de terminação (Protas et al. 1985), acometida de um surto agudo, os prejuízos por morte de animais e despesas com medicamentos equivaleram-se a 31.681 kg de peso de suíno para a venda. Estas perdas referem-se às médias anteriores e posteriores aos três meses de surto.

Baseado nas características de polisacarídeos capsulares foram descritos para o Hpp, biovar 1 (Pohl et al. 1983), nove sorotipos (Nicolet 1971, Gunnarsson et al. 1977, Killian et al. 1978, Rosendal & Boyd 1982, Nielsen & O'Conner 1983, Nielsen 1985, Nicolet 1985).

A importância de se conhecer os sorotipos de Hpp que afetam uma determinada região, reside no fato de que o diagnóstico sorológico é tipo específico (Gunnarsson 1979) e a imunidade obtida por vacinação é expressa somente contra o sorotipo que está

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 23 de abril de 1987.

<sup>2</sup> Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Embrapa, Caixa Postal D-3, Concórdia, Santa Catarina 89700.

<sup>3</sup> Instituto de Pesquisa Veterinária "Desidério Finamor" (IPVDF), Caixa Postal 2976, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 90000.

contido na vacina (Nielsen 1985). Portanto, o objetivo deste trabalho foi o de identificar sorologicamente as amostras de Hpp isoladas no Brasil, como subsídio ao diagnóstico, estudos epidemiológicos e imunoprophylaxia.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras padrões

Amostras de Hpp, representando os sorotipos de 1 a 5, foram cedidas pelo Dr. Richard F. Ross do Instituto de Pesquisas em Medicina Veterinária, Ames, Iowa, USA. A fonte e referência destas amostras encontram-se indicadas no Quadro 1.

### Amostras de campo

No Quadro 2 estão relacionados os dados referentes às amostras oriundas dos Estados do Rio Grande do Sul, de Santa Catarina e de São Paulo. Estas amostras foram isoladas de pulmões ou da cavidade nasal de suínos.

Quadro 1. Sorotipos de *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae*

| Sorotipo | Amostras padrões  | Referências                                  |
|----------|-------------------|--|
| 1        | 4074              | Shope 1964, Nicolet 1971, Kilian et al. 1978 |
| 2        | 1536              | Nicolet 1971, Kilian et al. 1978             |
| 3        | 1421              | Nicolet 1971, Kilian et al. 1978             |
| 4        | 1168              | Gunnarsson et al. 1977, Kilian et al. 1978   |
| 4        | 1162 <sup>a</sup> | Gunnarsson et al. 1977, Kilian et al. 1978   |
| 5        | 111               | Gunnarsson et al. 1977, Kilian et al. 1978   |

<sup>a</sup> Recebida em agosto de 1986.

As secreções nasais foram coletadas através de swabs. Tanto os swabs como os fragmentos de pulmões foram semeados em meio de ágar com 5% de sangue desfibrinado de carneiro.

Os fragmentos de pulmão foram semeados através de contato direto dos mesmos com a superfície dos meios ou pela técnica de diluições descrita por Little & Harding (1980). Para suprir o fator V, perpendicularmente à semeadura nas placas, cultivou-se em uma linha contínua, uma amostra de *Staphylococcus aureus (S. aureus)*. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, quando então procedeu-se à leitura.

### Identificação das amostras isoladas

As características culturais e morfológicas foram determinadas em cultivos de 24 horas. A dependência do fator X foi determinada utilizando-se o meio de "triptose soy ágar" (TSA), com e sem 5% de sangue de carneiro e utilizando-se *S. aureus* como fornecedor do fator V. A produção de hemólise foi observada no meio TSA e a dependência ao fator V, a presença de urease, reação de "CAMP-test" e utilização de esculina, trealose, monitol e rafinose foram determinadas de acordo com técnicas descritas por Kilian & Frederiksen (1981). Amostras que foram "CAMP-test" negativas ou de reação duvidosa, foram submetidas a este teste, nos moldes descritos por Kilian & Frederiksen (1981), mas utilizando-se ágar sangue contendo 0,1% de nicotinamidaadeninadineucleotídeo (NAD)<sup>4</sup>.

### Produção de antisoros

Antisoros contra as amostras referência foram produzidos em coelhos de acordo com procedimentos descritos por Gunnarsson et al. (1977). Cada antisoro foi absorvido com um sorotipo heterólogo com o intuito de remover anticorpos comuns à espécie.

### Técnicas de sorotipagem utilizadas

As técnicas utilizadas para a sorotipagem das amostras isoladas foram:

<sup>4</sup> Sigma.

Quadro 2. Amostras de *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* isoladas de suínos no Brasil

| Amostras    | Localidade         | Ano  | Estado | Propriedade | Sorotipo | Técnica de sorotipagem utilizada <sup>a</sup> |    |      |    |
|-------------|--------------------|------|--------|-------------|----------|---|----|------|----|
|             |                    |      |        |             |          | SAR   | IF | IEOF | ID |
| 463/81      | Chapecó            | 1981 | SC     | 1           | 5        | +   | +  | +    | +  |
| PS/SR       | Santa Rosa         | 1981 | RS     | 2           | 5        | +   | +  | +    | +  |
| 362/82      | Concórdia          | 1982 | SC     | 3           | 5        | +   | +  | +    | +  |
| PS/225      | Seara              | 1982 | SC     | 4           | 5        | +   | +  | +    | +  |
| 596/82      | Criciúma           | 1982 | SC     | 5           | 5        | +   | +  | +    | +  |
| 1 amostra   | Faxinal dos Guedes | 1982 | SC     | 6           | NS       | -   | -  | -    | -  |
| 400/83      | São Sebastião      | 1983 | SC     | 7           | 5        | +   | +  | +    | +  |
| 401/83      | Rondinha           | 1983 | SC     | 8           | 5        | +   | +  | +    | +  |
| 361/83      | Faxinal dos Guedes | 1983 | SC     | 6           | 3        | AA <sup>b</sup>                               | +  | +    | +  |
| 991/83      | Faxinal dos Guedes | 1983 | SC     | 6           | 5        | +   | +  | +    | +  |
| PS/ER       | Erechim            | 1983 | RS     | 9           | 5        | -   | -  | +    | -  |
| 515/84      | Faxinal dos Guedes | 1984 | SC     | 6           | 3        | +   | +  | +    | -  |
| FG/10/P1    | Faxinal dos Guedes | 1984 | SC     | 6           | 5        | NR  | +  | -    | -  |
| FG/10/P5    | Faxinal dos Guedes | 1984 | SC     | 6           | 5        | NR  | +  | +    | -  |
| 592/84      | Faxinal dos Guedes | 1984 | SC     | 6           | 5        | AA  | +  | +    | -  |
| PS/85       | Seara              | 1985 | SC     | 10          | 5        | +   | +  | +    | +  |
| 374/85      | Irani              | 1985 | SC     | 11          | 5        | +   | +  | +    | +  |
| 487/85      | Xanxerê            | 1985 | SC     | 12          | 5        | +   | +  | +    | +  |
| 691/85      | Campinas           | 1985 | SP     | 13          | 5        | +   | NR | +    | NR |
| 1016/85     | Xanxerê            | 1985 | SC     | 12          | 5        | +   | +  | +    | NR |
| 1151/85     | Casca              | 1985 | RS     | 14          | 5        | +   | +  | +    | NR |
| 1169/85     | Faxinal dos Guedes | 1985 | SC     | 6           | 3        | +   | +  | +    | NR |
| 334/85      | Xanxerê            | 1985 | SC     | 12          | 5        | +   | +  | NR   | NR |
| 10 amostras | Faxinal dos Guedes | 1985 | SC     | 6           | NS       | -   | -  | -    | NR |

<sup>a</sup> SAR = Soroaglutinação rápida, IF = imunofluorescência direta, IEOF = imunoelctrosmofores, ID = imunodifusão.

<sup>b</sup> Autoaglutinação.

soroaglutinação rápida (SAR) (Rapp et al. 1985), imunofluorescência direta (IF), imunoelctrosmoforescência (IEOF) (Piffer et al. 1986) e imunodifusão (ID) (Nielsen & O'Connor 1983).

Para o teste de IF utilizou-se globulinas precipitadas por sulfato de amônio, dos antisoros obtidos contra as amostras padrões, e conjugadas com isotiocianato de fluoresceína, pela técnica de diálise (Goldman 1968). Fluoresceína livre foi removida através de filtração em Sephadex-G-25. O teste de IF foi conduzido como segue: esfregaços de colônias dos sorotipos padrões e das amostras a serem tipadas, em lâminas de vidro, foram fixados em solução tamponada de formol a 10%, por 10 minutos. A coloração das lâminas foi realizada segundo Goldman (1968). Os soros conjugados foram titulados com amostras homólogas através de diluições duplas (1:2 até 1:128). A fluorescência foi avaliada como segue: 0 = sem fluorescência, 1 = leve vislumbre das bactérias esverdeadas, sem formas definidas e brilho, 2 = bactérias com forma distinguível, esverdeada, sem contornos bem definidos e brilho, 3 = bactéria com a periferia bem delimitada, apresentando uma cor amarela esverdeada com brilho e 4 = similar a 3 mas com brilho mais intenso. Somente os graus 3 e 4 foram considerados com reações específicas. A diluição de trabalho de cada soro foi aquela que apresentou o grau mais intenso de fluorescência e que não apresentou reação cruzada com os outros sorotipos.

## RESULTADOS

Todas as amostras isoladas, exceto uma, originaram-se de pulmões de suínos com sinais clínicos e lesões macroscópicas agudas ou crônicas de pleuropneumonia.

A amostra 991/83 (Quadro 1) foi isolada da cavidade nasal de um suíno pertencente a uma granja com um surto agudo de pleuropneumonia.

Em sangue desfibrinado de carneiro, as colônias de Hpp isoladas apresentaram satelitismo ao *S. aureus*, crescimento em 24 horas, com colônias variando entre 1 e 2 mm e com grau diverso de hemólise. Ao Gram apresentaram-se como pequenos bastonetes pleomórficos e Gram-negativos. Todas as amostras eram NAD-dependentes, urease positivas, utilizaram monitol e não o fizeram com esculina e trealose. Ao "CAMP-test", utilizando-se apenas ágar sangue, 16 amostras foram positivas, variando a reação de fraca a moderada; sete apresentaram reação duvidosa e nove foram negativas. Quando se utilizou NAD no meio de ágar sangue o número de amostras positivas subiu para 27, havendo seis negativas. Aqui também observaram-se reações fracas a moderadas.

Nos testes de SAR, IEOF e ID, onde o antisoro era utilizado sem diluir, algumas reações cruzadas entre os sorotipos padrões foram observadas. No teste de IF, o processo de diluição dos antisoros eliminou quase que por completo as reações cruzadas. Após a adsorção dos soros hiperimunes com uma amostra padrão heteróloga, as reações cruzadas foram eliminadas, exceto entre os sorotipos 4 e 5. Procedendo-se a adsorção cruzada entre estes sorotipos eliminou-se totalmente, tanto as reações cruzadas como as homólogas, em todos os testes, sugerindo identidade sorológica. Por outro lado, a amostra 463/81 (Quadro 2) foi sorotipada pelo Dr. Nicolet, Universidade de Berna, Suíça, como sendo sorotipo 5. Esta amostra apresentou reação positiva, em todos os testes, frente aos antisoros 4 e 5, adsorvidos com o sorotipo 1, indicando que o antisoro contra o sorotipo 4 não era específico. Além disso, utilizando-se uma nova amostra 1162 (Quadro 1) para o sorotipo 4, observou-se que no teste de SAR, já na diluição de 1:2, o antisoro contra o sorotipo 5 não apresentava reação cruzada. Estes fatos eliminaram o antisoro contra o sorotipo 4 do diagnóstico.

No Quadro 2 estão sumarizados os dados referentes às amostras isoladas. Observa-se que das 33 amostras de Hpp, 22 (66%) foram sorotipadas e, entre estas, 19 (86%) pertenciam ao soroti-

Quadro 3. Amostras de *Haemophilus* (*Actinobacillus*) *pleuropneumoniae* isoladas de suínos da propriedade 6

| Amostra   | Ano  | Sorotipo        | Técnicas de sorotipagem utilizadas <sup>a</sup> |    |      |    |
|-----------|------|-----------------|---|----|------|----|
|           |      |                 | SAR   | IF | IEOF | ID |
| 3921/82   | 1982 | NS <sup>b</sup> | -   | -  | -    | -  |
| 361/83    | 1983 | 3               | AA <sup>c</sup>                                 | +  | +    | +  |
| 991/83    | 1983 | 5               | +   | +  | +    | +  |
| 515/84    | 1984 | 3               | +   | +  | +    | +  |
| FG/10/P1  | 1984 | 5               | NR <sup>d</sup>                                 | +  | -    | -  |
| FG/10/P5  | 1984 | 5               | NR  | +  | +    | -  |
| 592/84    | 1984 | 5               | AA  | +  | +    | -  |
| 924/P1    | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 924/P2    | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 924/08B   | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 941/91-7  | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 960/91-1  | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 960/91-6  | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 960/91-12 | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 960/91-16 | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 960/91-19 | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 960/91-22 | 1985 | NS              | -   | -  | -    | NR |
| 1169/85   | 1985 | 3               | +   | +  | +    | NR |

<sup>a</sup> SAR = Soroaglutinação rápida, IF = imunofluorescência direta, IEOF = imunoelctrosmoforescência, ID = imunodifusão;

<sup>b</sup> Não sorotipado;

<sup>c</sup> Autoaglutinação;

<sup>d</sup> Não realizado.

po 5, enquanto que três ao sorotipo 3. O sorotipo 3 foi detectado em apenas uma propriedade (Quadro 3), enquanto que o sorotipo 5 o foi em todas as 14 propriedades onde houve a ocorrência da doença clínica, inclusive naquela onde se isolou o sorotipo 3 (Quadro 3). Desta propriedade originaram-se também todas as amostras não sorotipadas.

Entre as amostras sorotipadas o SAR foi eficiente em 17/19 oportunidades (89%), o IF e o IEOF em 20/21 (95%) e o ID em apenas 12/17 (70%). Além disso, três amostras foram autoaglutinantes e portanto impróprias ao SAR. Nota-se ainda que a amostra PS/ER e a FG/10/PI foram sorotipadas apenas por uma das técnicas, ou seja, respectivamente pelo IEOF e IF.

## DISCUSSÃO

As características culturais, tintoriais e bioquímicas de todas as amostras isoladas são consistentes com aquelas descritas por Hpp (Biberstein et al. 1977) e, de acordo com Pohl et al. (1983), todas elas pertenciam ao biovar 1 de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, por serem todas NAD-dependentes. O não isolamento de amostras NAD-independentes (biovar-2) talvez esteja relacionado à ausência destas amostras em nosso meio ou devido a sua menor patogenicidade (Pohlenz et al. 1978), uma vez que os isolamentos foram obtidos de pulmões afetados e/ou devido a que, no isolamento primário, houve preocupação apenas com bactérias que apresentaram satelitismo ao *S. aureus*. Amostras NAD-independentes foram isoladas na Europa (Bertschinger & Seifert 1978), mas não nos Estados Unidos (Rapp et al. 1985). A existência destas amostras foi um dos critérios que levou a proposta de transferência do gênero *Haemophilus* para *Actinobacillus* (Pohl et al. 1983).

Hpp é descrito como "CAMP-test" positivo, enquanto que amostras de *Haemophilus* sp, "Grupo menor" e *Haemophilus* sp, "Grupo C" são negativas (Nicolet & School 1981). Por outro lado, o sorotipo 7 de *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* foi descrito por Rosendal & Boyd (1982) como "CAMP-test" negativo. Esta mesma amostra e a amostra padrão para o "Grupo menor" apresentaram reação fraca de "CAMP-test" quando o mesmo foi realizado em meio enriquecido (Rapp et al. 1985). A utilização de diferentes meios pode explicar a discrepância observada, assim como a subjetividade em discriminar uma reação fraca de uma reação negativa. Estes fatos limitam a utilização do "CAMP-test" na classificação de *Haemophilus* sp isolados de suínos.

Os resultados são claros quanto a importância do sorotipo 5 para o Sul do Brasil, principalmente para o Estado de Santa Catarina. O porquê da ocorrência deste sorotipo pode ser especulado em duas direções: importações e intensificação das condições de criação de suínos nos últimos anos. De acordo com os relatórios da Associação Brasileira de Criadores de Suínos (ABCS), no período de 1971 a 1975, o Brasil importou 3243 reprodutores, sendo que 40% originaram-se dos Estados Unidos, 21% da Holanda, 20% da Alemanha e 10% da Inglaterra. Além disso, menores importações ocorreram da Bélgica, Suécia e Dinamarca. No período de 1976 a 1979 praticamente não houve importações. Porém, de acordo com relatórios da ABCS e da Federação das Associações de Suinocultores do Brasil, observou-se um aumento de importações no período de 1980 a 1983. Em 1980, ano que antecedeu o diagnóstico da PPS no Brasil, ocorreram maiores importações da Holanda, Estados Unidos, Suécia e Canadá. Para o Estado de Santa Catarina foram destinados animais de todos estes países, menos da Suécia. Nos anos de 1981 a 1983 as maiores importações foram da França, Estados Unidos e Holanda. Observando-se a prevalência de sorotipos de Hpp nos países acima mencionados, observa-se que o sorotipo 5 é prevalente nos Estados Unidos, Canadá, Holanda e Bélgica (Rosendal et al. 1981, Schultz et al. 1982, Sebunya & Saunders 1983, Nicolet 1985). Estes fatos sugerem que a infecção por Hpp, sorotipo 5, possa ter sido introduzida por importações de suínos dos Estados Unidos, Canadá e Holanda, principalmente para o Estado de Santa Catarina. Um rastreamento sorológico poderia comprovar ou não esta hipótese.

Outro aspecto a considerar é de que esta infecção existiria há bastante tempo em nosso meio e, em função do confinamento e intensificação da produção a doença realmente apareceu. Isto é corroborado pelo fato de que Piffer et al. (1982), estudando a ocorrência da PPS, na Região Sul do Brasil, onde a mesma ocorreu com graves prejuízos econômicos, identificaram alguns pontos em comum entre os sistemas afetados: a) produção de terminados a partir de leitões de várias origens; b) utilização de sistema contínuo de produção; e c) terminações com capacidade superior a 600 animais.

O sorotipo 3 foi isolado em apenas uma propriedade, apesar deste sorotipo ocorrer em todos os países citados, exceção da Holanda e Dinamarca (Nicolet 1985). É bom salientar que as tentativas de isolamento de Hpp ocorreram em materiais com lesões sugestivas de PPS e, sendo o sorotipo 3 menos patogênico do que os outros (Pehlenz et al. 1978) sua ocorrência e conseqüente importância podem estar subestimadas. Por outro lado, amostras pertencentes ao sorotipo 3 já foram isoladas de pulmões com pneumonias agudas (Hunter et al. 1983). As amostras não sorotipadas também originaram-se da mesma propriedade (Quadro 3). Elas podem representar um novo sorotipo ou serem mu-

tantes dos sorotipos 5 e 3 já isolados destas propriedades. Presentemente produz-se antisoros contra o restante dos sorotipos, os quais servirão para elucidar a composição antigênica destas amostras. A ocorrência de amostras não sorotipáveis é um fato comum (Schultz et al. 1982 e Rapp et al. 1985) e pode significar dissociação de lisa para rugosa.

No que tange aos métodos para sorotipagem observou-se que nenhum deles sozinho foi suficiente para sorotipar toda as amostras isoladas, embora o IF e o IEOF falhassem em apenas uma oportunidade.

O teste de SAR, embora simples, rápido e sensível (Rapp et al. 1985) apresenta o inconveniente de ser inaplicável em amostras autoaglutinantes (Quadros 2 e 3). Os testes de IF e IEOF possuem a mesma sensibilidade e são superiores ao teste de ID (Piffer et al. 1986). Em relação a especificidade não se observaram maiores problemas, pois a utilização do processo de diluição e a adsorção heteróloga eliminaram completamente as reações cruzadas, devido aos antígenos comuns à espécie.

Uma explicação, porém bastante especulativa, para a aparente identidade entre os sorotipos 4 e 5, poderia ser a da ocorrência dos antígenos 4 e 5 no clone utilizado para imunizar contra o sorotipo 4, como foi observado em amostra de campo (Rapp et al. 1985) associada a uma resposta imune fraca dos coelhos imunizados.

Em relação a sorotipagem pode-se concluir que o melhor procedimento seria submeter primeiro as amostras isoladas ao SAR e, caso negativo aos testes de IF e/ou IEOF.

*Agradecimentos.*- A assistência técnica de Ana A.F. Botovchenco, Maria B.B. Fávero, Marni Ramenzoni e Mauro Alves Ribeiro.

## REFERÊNCIAS

- Bertschinger H.V. & Seifert P. 1978. Isolation of a *Pasteurella haemolytica*-like organism from porcine necrotic pneumonia (Abstr. 1119). In: Proc. 5th Int. Pig Vet. Soc. World Congr., Zagreb, Yugoslavia.
- Biberstein E.L., Gunnarsson A. & Huvell B. 1977. Cultural and Biochemical criteria for the identification of *Haemophilus* spp from swine. Am. J. Vet. Res. 38:7-11.
- Goldman M. 1968. Fluorescent antibody methods. H.B. Jonanovich, New York.
- Gunnarsson A., Biberstein E.L. & Huvell B. 1977. Serologic studies on porcine strains of *Haemophilus paraahaemolyticus (pleuropneumoniae)*. Agglutination reactions. Am. J. Vet. Res. 38: 1111-1114.
- Gunnarsson A. 1979. Evaluation of different antigens in the complement-fixation test for diagnosis of *Haemophilus pleuropneumoniae (paraahaemolyticus)* infections in swine. Am. J. Vet. Res. 40(11): 1564-1567.
- Hunter D., Junes M.A. & McKenchy T. 1963. Serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* isolates using ring precipitated test. Vet. Res. 113: 158.
- Killian M., Nicolet J. & Biberstein E.L. 1978. Biochemical and serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* (Mathews and Pattison 1961) Shope 1964 and proposal of a neotype strain. Int. J. Syst. Bacteriol. 18: 20-26.
- Killian M. & Frederiksen W. 1981. Identification tables for the *Haemophilus-Pasteurella-Actinobacillus* group, p. 281-290. In: Killian M., Frederiksen W. & Biberstein E.E. (ed.), Academic Press, London.
- Little T.W.A. & Harding J.D.J. 1980. Interaction of *Haemophilus paraahaemolyticus* and *Pasteurella multocida* in the respiratory tract of the pig. Br. Vet. J. 136(4): 371-383.
- Locatelli J.C., Machado A. & Silva A.S. 1981. Ocorrência de pleuropneumonia suína devido a *Haemophilus pleuropneumoniae*, p. 203. In: Anais do 2º Ciclo de Atualização em Medicina Veterinária, Lages, SC. (Resumo)

- Mathews P.R.J. & Pattison I.H. 1961. The identification of a *Haemophilus*-like organism associated with pneumonia and pleurisy in the pig. *J. Comp. Pathol.* 71:44-52.
- Nicolet J. 1971. Sur l'hémophilase du porc. III. Différenciation serologique de *Haemophilus parahaemolyticus*. *Zbl. Bakt.* 1. 16: 487-495.
- Nicolet J. & School E. 1981. *Haemophilus* infections, p. 368-377. In: Lemmon A.D., Glock R.D. & Mengeling W.L. et al. (ed): *Disease of Swine*. 5th ed. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
- Nicolet J. 1985. *Haemophilus pleuropneumoniae* bacteriology and epidemiology, p. 7-11. In: Schultz R.A. (ed.): *Compendium on swine Haemophilus pleuropneumoniae*. Singler Printing, Ames, Iowa.
- Nielsen R. & O'Conner P.J. 1983. Serological characterization of *Haemophilus pleuropneumoniae* strains and proposal of a new serotype: serotype 8. *Acta Vet. Scand.* 25: 96-106.
- Nielsen R. 1985. *Haemophilus pleuropneumoniae*. Diagnosis, immunity and control, p. 18-22. In: Schultz R.A. (ed.), *Compendium on swine Haemophilus pleuropneumoniae*. Singler Printing, Ames, Iowa.
- Olander H.J. 1963. A septicemic disease of swine and its causative agent, *Haemophilus parahaemolyticus*. PhD Thesis, Univ. California, Davis.
- Piffer I.A., Brito M.A.V.P., Sobestiansky J. & Wentz I. 1982. Pleuropneumonia suína. I. Alguns aspectos epidemiológicos da doença em nosso meio, p. 45. In: An. Congr. Bras. Med. Vet., Camboriu, Santa Catarina.
- Piffer I.A., Carter G.R. & Botovchenco A.A.F. 1986. Identification of serotypes of *Haemophilus pleuropneumoniae* by counterimmunoelectrophoresis. *Vet. Res.* 118: 252-294.
- Pohl S., Bertschinger H.V., Frederiksen W. & Mannheim W. 1983. Transfer of *Haemophilus pleuropneumoniae* and the *Pasteurella hemolytica*-like organism causing porcine necrotic pleuropneumoniae to the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness. *Int. Syst. Bact.* 33: 510-514.
- Pohlenz J., Bertschinger H.V., Ehrensperger F. & Seifert P. 1978. Pathomorphologic lesions in lungs of pigs spontaneously or experimentally infected with *Pasteurella hemolytica*-like organism. In: Proc. 5th Int. Pig Vet. Soc. World Congr., Zagreb, Yugoslavia.
- Rapp V.J., Ross R.F. & Zirmmermann B.E. 1985. Serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* by rapid slide agglutination and indirect fluorescent antibody test in swine. *Am. J. Vet. Res.* 46: 185-192.
- Rosendal S., Lambin L. & Moor J. 1981. Serotyping and detection of *Haemophilus pleuropneumoniae* by indirect fluorescent antibody technique. *Can. J. Com. Med.* 45: 271-274.
- Rosendal S. & Boyd D.A. 1982. *Haemophilus pleuropneumoniae* serotyping. *J. Clin. Microbiol.* 16: 840-843.
- Protas J.F. da S., Sobestiansky J., Wentz I. & Piffer I.A. 1985. Custo de um surto de pleuropneumonia suína. *Pesq. Agropec. Bras.* 20(2): 241-244.
- Sebunya T.N.K. & Saunders J.R. 1983. *Haemophilus pleuropneumoniae* infection in swine: A review. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 182: 1331-1337.
- Shope R.F. 1964. Porcine contagious pleuropneumonia. I. Experimental transmission, etiology and pathology. *J. Exp. Med.* 119: 357-358.
- Schultz R.A., Young T.F., Ross R.F. & Jeske B.R. 1982. Prevalence of antibodies to *Haemophilus pleuropneumoniae* in Iowa swine. *Am. J. Vet. Res.* 43: 1848-1851.