

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**RELAÇÃO ENTRE OTITES BACTERIANAS E INFECÇÃO PELO  
CIRCOVÍRUS TIPO 2 (PCV2) EM SUÍNOS**

**William Asanome**

**PORTO ALEGRE, JANEIRO DE 2007.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**RELAÇÃO ENTRE OTITES BACTERIANAS E INFECÇÃO PELO  
CIRCOVÍRUS TIPO 2 (PCV2) EM SUÍNOS**

**Autor: William Asanome**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias

**Orientador: David Emilio Santos Neves de Barcellos**

**PORTO ALEGRE, JANEIRO DE 2007.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**APROVADO POR:**

---

Prof. Dr. Geraldo Camilo Alberton,  
Membro da Banca.

---

Dr<sup>a</sup>. Sandra Maria Borowski,  
Membro da Banca.

---

Prof. Dr. David Driemeier,  
Membro da Banca

## **AGRADECIMENTOS**

Ao prof. David Emilio Santos Neves de Barcellos, pela oportunidade de ingresso no curso e pela orientação, dedicação, amizade e apoio neste período;

Aos professores Ivo Wentz, Fernando P. Bortolozzo e Mari Lourdes Bernardi pela amizade e ensinamentos;

Ao Prof. David Driemeier pela constante colaboração no projeto;

Aos colegas e amigos Evandro Nottar e Fabiano B. Carregaro pelas discussões, sugestões e colaboração na execução do projeto;

Aos colegas e amigos Tania, Ana Paula, André, Cristiana, Cristiane, Wald´ma, Anamaria, Andrea, Marcelo e Ricardo pelo convívio agradável e troca de conhecimentos;

Aos estagiários e bolsistas do Setor de Suínos, em especial à amiga Giseli Heim, pela colaboração e incentivo;

Aos doutorandos, mestrandos, estagiários, bolsistas e funcionários do Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, pelo apoio técnico na realização das necropsias e exames histopatológicos;

À minha família por todo o apoio e incentivo neste período;

Às agroindústrias que confiaram neste projeto e cederam os animais para os estudos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

## RESUMO

### **Relação entre otites bacterianas e infecção pelo circovírus tipo 2 (PCV2) em suínos**

**Autor:** William Asanome

**Orientador:** Prof. Dr. David Emilio Santos Neves de Barcellos

A Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno (SMDS) é uma doença emergente e mundialmente distribuída, que tem trazido sérios prejuízos econômicos para a indústria suinícola. O Circovírus Suíno tipo 2 (PCV2), agente causal da doença, provoca lesões principalmente nos tecidos linfóides, e sugere-se que produza imunossupressão, predispondo o hospedeiro a infecções virais, bacterianas e fúngicas secundárias. Neste trabalho, é descrito um estudo da prevalência e bacteriologia das otites purulentas em suínos apresentando a SMDS, bem como em animais de baixo desenvolvimento e de crescimento normal. No total, foram examinados 385 suínos com idades entre 60 e 130 dias. De 242 animais com a SMDS, 57 (23,5%) apresentaram lesões purulentas no ouvido médio. Dentre 119 animais de baixo desenvolvimento, apenas 1 (0,7%) apresentou a lesão. Não foram detectadas lesões macroscópicas no ouvido médio dos 24 animais com crescimento normal (controles). Os agentes isolados com maior frequência das lesões foram *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos e *Pasteurella multocida*, encontrados em, respectivamente, 37 (43%), 32 (37,2%) e 24 (27,9%) dos 86 ouvidos submetidos à bacteriologia. A alta prevalência de lesões purulentas no ouvido médio de animais com a SMDS sugere que a infecção pelo PCV2 pode tornar o suíno mais suscetível às otites bacterianas. Por outro lado, a prevalência reduzida das lesões em suínos de baixo desenvolvimento sugere que a otite não representa uma causa importante de mau desempenho em suínos nas fases de crescimento e terminação. O isolamento do *A. pyogenes*, de *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos e da *P. multocida* na maioria das lesões está de acordo com relatos anteriores, confirmando a importância desses organismos como agentes causais da otite média em suínos.

**Palavras-chaves:** otite média; PCV2; Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno; baixo desenvolvimento; bacteriologia.

## ABSTRACT

### ***Relationship between bacterial otitis and porcine circovirus type 2 (PCV2) infection in pigs***

**Author:** William Asanome

**Advisor:** Prof. Dr. David Emilio Santos Neves de Barcellos

*Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) is an emerging disease disseminated globally that causes severe losses to the pig industry. Porcine circovirus type 2 (PCV2) is the causal agent of the disease and causes lesions mainly in lymphoid tissue and it is suggested that it can cause immunosuppression, predisposing the host to viral, bacterial and mycotic infections. In the present work we describe a study on prevalence and bacteriology of purulent otitis in pigs with PMWS, as well as in pigs with attrition and pigs with normal growth. A total amount of 385 animals were examined, with ages ranging from 60 to 130 days. Among 242 pigs with PMWS, 57 (23,5%) showed purulent lesions in the middle ear. Among 119 pigs with attrition, only 1 (0,7%) presented the lesion. In 24 control pigs, middle ear lesions were not detected. The agents most frequently isolated from the lesions were Arcanobacterium pyogenes,  $\alpha$ -hemolytic Streptococci and Pasteurella multocida, found respectively in 36 (43%), 32 (37,2%) and 24 (27,9%) of 86 ears bacteriologically examined. The high prevalence of purulent lesions found in middle ear of PMWS affected pigs suggests that PCV2 infection can increase susceptibility of swine to bacterial otitis. On the other hand, the small prevalence of lesions in piglets with attrition suggests that otitis does not represent a significant cause for depressed growth in pigs from growing and finishing ages. The isolation of A. pyogenes,  $\alpha$ -hemolytic Streptococci and P. multocida from most lesions agrees with previous reports, confirming the importance of these organisms as causal agents in the etiology of otitis media in pigs.*

**Keywords:** *otitis media; PCV2, Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome; attrition; bacteriology.*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	9
<b>2.1</b>	<b>Otite média em suínos</b> .....	9
2.1.1	Anatomia e fisiologia do ouvido .....	9
2.1.2	Importância econômica da otite média .....	10
2.1.3	Epidemiologia .....	11
2.1.4	Etiopatogenia .....	12
2.1.5	Lesões .....	14
2.1.6	Sinais clínicos .....	15
<b>2.2</b>	<b>Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno (SMDS)</b> .....	15
2.2.1	Histórico .....	15
2.2.2	Importância econômica .....	17
2.2.3	Etiologia .....	17
2.2.4	Epidemiologia .....	17
2.2.5	Sinais clínicos e lesões .....	19
2.2.6	Patogenia .....	20
2.2.7	PCV2 e imunossupressão .....	23
2.2.8	Diagnóstico .....	25
<b>3</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	27
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	44
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45

## 1 INTRODUÇÃO

A suinocultura é uma atividade que vem se intensificando e profissionalizando de maneira crescente. Anualmente observa-se uma melhoria progressiva nos índices de produtividade e o lucro com a atividade está se tornando cada vez mais dependente da obtenção de resultados zootécnicos superiores e progressivamente melhores. O bom desenvolvimento dos suínos é um processo multifatorial e nesse contexto a sanidade representa um dos pilares básicos para garantir um bom e uniforme crescimento dos animais. Entre os problemas sanitários para a suinocultura destaca-se a infecção pelo Circovírus Suíno tipo 2 (PCV2), que foi diagnosticada pela primeira vez no Rio Grande do Sul por Pescador e Barcellos (2003). Acredita-se que essa infecção, que produz lesões principalmente no tecido linfóide, possa resultar em imunossupressão, favorecendo infecções secundárias por diversos agentes infecciosos bacterianos, virais e fúngicos. Na Faculdade de Veterinária da UFRGS vem sendo desenvolvida uma linha de pesquisa objetivando analisar as infecções associadas à circovirose, como, por exemplo, o estudo da relação entre a infecção viral e infecções dentárias (KOLLER *et al.*, 2006). Uma ampliação desses estudos objetivou analisar a presença de otite em leitões com diagnóstico positivo para circovirose, em leitões de baixo desenvolvimento e em leitões clinicamente normais e será descrita a seguir.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Otite média em suínos

#### 2.1.1 Anatomia e fisiologia do ouvido

O ouvido é um órgão que atua em duas funções, a audição e o equilíbrio. Na função auditiva ele é responsável pela recepção e transdução do estímulo sonoro, gerando impulsos nervosos em direção às regiões apropriadas do cérebro. Participam dessa função o pavilhão auricular, meato acústico, membrana timpânica, cavidade timpânica e ossículos, cóclea e órgão de Corti. Para desempenhar o papel de equilíbrio, as estruturas envolvidas incluem os canais semicirculares, o utrículo e o sáculo. Todos esses componentes estão distribuídos em três regiões: ouvido externo, ouvido médio e ouvido interno (BANKS, 1991).

As estruturas que fazem parte do **ouvido externo** são o pavilhão auricular e o meato acústico externo. O pavilhão auricular é formado por estruturas cartilaginosas, principalmente elásticas, recobertas por pele e fixadas por músculos estriados. Sua função é a de recolher as ondas sonoras. O meato acústico externo é a extensão tubular do pavilhão auricular, e possui superfície revestida por pele típica, com numerosas glândulas sebáceas e ceruminosas (BANKS, 1991).

O **ouvido médio** compreende a membrana timpânica, a cavidade timpânica, os ossículos (martelo, bigorna e estribo) e a tuba auditiva. No interior do ouvido médio, a vibração do ar resulta em movimentos da cadeia de ossículos. Esses estímulos mecânicos são conduzidos até o ouvido interno, onde são transformados em impulso nervoso. A membrana timpânica é formada por três camadas: uma externa, com epitélio semelhante ao do ouvido externo, mas desprovido de anexos; uma média, formada por fibras colágenas e às quais está ligado o martelo; e uma interna, formada por epitélio contínuo ao da cavidade timpânica (BANKS, 1991).

A cavidade timpânica é revestida por uma membrana mucosa fina e delicada, formada por epitélio pavimentoso ou cúbico. Na abertura da tuba auditiva, estão presentes células prismáticas ciliadas. A cavidade contém três ossículos, o martelo, a bigorna e o estribo, que são ligados uns aos outros por articulações diartrosicas e estabilizados por músculos estriados. O martelo está imerso na membrana timpânica, enquanto o estribo está ligado à janela oval, que comunica o ouvido médio com o

ouvido interno (BANKS, 1991; PRACY *et al.*, 1998). A parte ventral da cavidade é denominada bula timpânica, estrutura internamente côncava e formada por numerosas lâminas ósseas (GANDHI, 1986).

A tuba auditiva liga a cavidade timpânica à nasofaringe. Essa estrutura cartilaginosa tem cerca de 3 cm de comprimento e é revestida internamente por epitélio respiratório (epitélio pseudo-estratificado prismático ciliado). Na lâmina própria, próximo à entrada da nasofaringe, há numerosas glândulas serosas e sero-mucosas, além de folículos linfóides (BANKS 1991; PRACY *et al.*, 1998). A tuba auditiva tem três funções fisiológicas básicas: regulação da pressão do ouvido médio em relação à pressão atmosférica; proteção contra secreções e pressões oriundas da nasofaringe; drenagem das secreções produzidas no ouvido médio para a nasofaringe (BLUESTONE, 1996).

O **ouvido interno** está situado no interior da porção petrosa do osso temporal e contém os órgãos responsáveis pela audição e pela orientação do corpo no espaço. A estrutura complexa de inúmeras cavidades formadas dentro do osso temporal é denominada labirinto ósseo, dentro do qual está contido o labirinto membranoso. O estreito espaço que separa os dois labirintos é preenchido pela perilinfa, líquido que entra em contato com o espaço subaracnóideo pelo ducto perilinfático. O labirinto membranoso é composto por sacos e canais interligados, preenchidos de endolinfa, e que incluem o utrículo, o sáculo, o ducto endolinfático, os canais semicirculares, o ductus reuniens e ducto coclear. Este último contém o órgão de Corti, que possui células especializadas na transdução das ondas sonoras. O sáculo, o utrículo e os canais semicirculares têm estruturas celulares que respondem ao movimento e à gravidade, sendo responsáveis pela manutenção do equilíbrio corporal (BANKS, 1991). Os ramos vestibular e coclear do nervo vestibulo-coclear, bem como o nervo facial, adentram a caixa craniana em direção ao cérebro pelo meato acústico interno (GODINHO e GETTY, 1986).

### 2.1.2 Importância econômica da otite média

Com exceção de um relato, não há na literatura qualquer estudo que faça referência a perdas econômicas significativas relacionadas à otite média em suínos. Duff *et al.* (1996) descreveram um surto de otite média e otite interna em uma granja comercial de 800 matrizes, localizada no leste do Reino Unido. Cerca de 400 animais

foram afetados pela doença num período de 12 meses. Os sinais clínicos incluíam torção da cabeça, andar em círculos e falta de equilíbrio, que refletiam na dificuldade dos animais em encontrar comedouros e bebedouros. Não foram notados inapetência ou aumento de temperatura. Antes da instituição do tratamento com antimicrobianos, estimou-se que cerca de 10% dos suínos afetados tenham sido sacrificados devido ao retardo no crescimento, e os animais apresentando sinais clínicos que eram mantidos levavam de duas a três semanas a mais para atingirem o peso de abate.

### 2.1.3 Epidemiologia

A maior parte dos dados referentes à epidemiologia da otite média em suínos é proveniente de estudos realizados entre os anos de 1987 e 1989, por Shimada *et al.* (1992). Nesse período, os autores avaliaram lesões macro e microscópicas de 237 suínos com idades entre 1 dia e 1 ano, provenientes de oito granjas de rebanhos comerciais localizadas no oeste do Japão. Os animais apresentavam sinais clínicos variados e inespecíficos, sendo sacrificados por apresentarem prognóstico desfavorável ou retardo no crescimento. Dos animais examinados, 163 (68,8%) apresentaram otite, dos quais 151 (63,7%) tinham lesões no ouvido médio, 53 (22,4%) no ouvido externo e 39 (16,5%) no ouvido interno. Vinte e três animais apresentavam meningite. A inflamação da tuba auditiva foi o achado mais comum entre os animais com menos de 1 semana de idade, ao passo que a otite média severa prevaleceu na faixa etária de 1 a 4 meses. A partir dessa idade, lesões crônicas predominaram (SHIMADA *et al.*, 1992).

Relatos esporádicos em diversos países, como Marrocos, Tunísia, Austrália, Rússia, Alemanha (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958), Estados Unidos, (OLSON, 1981), França (DESROSIERS, 1985), Japão (SHIMADA *et al.*, 1992) e Reino Unido (DUFF *et al.*, 1996) levam a crer que a otite média é uma patologia endêmica e de distribuição mundial. A estreita relação da otite média com pneumonias bacterianas e rinite atrófica (OLSON, 1981; SHIMADA *et al.*, 1992; DUFF *et al.*, 1996) sugere que ela também é, assim como as doenças respiratórias, de natureza multifatorial, com frequência e severidade dependentes de características dos agentes, da imunidade do rebanho e das condições ambientais de criação.

Os dados referentes ao lado em que se encontram as lesões são variados. No estudo de Shimada *et al.* (1992) e de Harlizius, Kluczniok, Bollwahn (1996), houve a predominância de lesões bilaterais, que estiveram presentes em 75,5% e em 72% dos

casos examinados, respectivamente. Já Olson (1981) e Hipólito, Lamas, Godoy (1958) relataram um maior número de lesões unilaterais, mas o número de casos avaliados por esses autores foi pequeno (28 e 8 casos, respectivamente). Nos relatos de casos isolados descritos por Duff *et al.* (1996) e Desrosiers (1985), foram encontradas lesões unilaterais, mas este último autor não realizou exames histológicos e, portanto, não se pode afirmar que a lesão estava restrita a um único lado.

#### 2.1.4 Etiopatogenia

A etiopatogenia da otite média no suíno ainda não é completamente compreendida. Embora existam apenas evidências indiretas sobre a via de infecção, sugere-se que, na maioria dos casos, ela seja resultante da ascensão de bactérias da nasofaringe pela tuba auditiva.

Em concordância com essa teoria, a análise histológica de lesões encontradas em suínos com otite média sugere que a inflamação da tuba auditiva precede as alterações em outras partes do ouvido. Shimada *et al.* (1992) relataram a inflamação aguda da tuba auditiva como a alteração mais comum entre os animais com menos de 1 semana de idade. Já em animais com idades entre 1 e 4 meses, lesões mais severas foram observadas, envolvendo, além da tuba auditiva, cavidade timpânica, bula timpânica e, em alguns casos, ouvido externo, ouvido interno e cérebro. Lesões crônicas foram observadas em animais com mais de 4 meses de idade (SHIMADA *et al.*, 1992).

Por outro lado, achados microbiológicos também dão suporte à idéia de infecção do ouvido médio via ascendente. A variedade de organismos que têm sido isolados dessas lesões coincide com a microbiota encontrada na nasofaringe, que inclui *Pasteurella multocida*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., corineformes do grupo E, *Fusobacterium necrophorum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Arcanobacterium pyogenes* e *Mycoplasma hyorhinis* (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958; OLSON, 1981; DESROSIERS, 1985; SHIMADA *et al.*, 1992; MORITA *et al.*, 1995; DUFF *et al.*, 1996; HARLIZIUS, KLUCZNIOCK, BOLLWAHN, 1996). Além disso, a otite média é freqüentemente encontrada em animais com pneumonia (SHIMADA *et al.*, 1992; DUFF *et al.*, 1996) e rinite atrófica (OLSON, 1981), de forma que parece haver uma relação entre doenças respiratórias e a ocorrência de infecção no ouvido, assim como já foi relatado em outras espécies (FRANCOZ *et al.*, 2004).

Ao mesmo tempo, esses achados implicam a necessidade de haver algum fator predisponente para o estabelecimento da infecção no ouvido médio, já que a maioria dessas bactérias faz parte da microbiota de animais saudáveis. Nesse aspecto, o papel do *Mycoplasma hyorhinis* já foi avaliado. Esse agente foi isolado a partir de lesões no ouvido médio de suínos naturalmente infectados (MORITA *et al.*, 1995). Ainda, quando inoculado via intratimpânica em leitões livres de patógenos específicos (SPF), resultou em lesões inflamatórias auto-limitantes no ouvido médio, com danos no epitélio ciliado da tuba auditiva (MORITA *et al.*, 1998). Diante desses achados, foi levantada a hipótese de que o *M. hyorhinis* atuasse como agente primário, causando danos temporários no funcionamento do aparelho mucociliar da tuba auditiva e, dessa forma, permitindo a ascensão e o estabelecimento de outros agentes na cavidade timpânica (MORITA *et al.*, 1999). Entretanto, o modelo de infecção experimental proposto por Morita *et al.* (1999) não foi capaz de comprovar essa hipótese. A inoculação intranasal do *Mycoplasma hyorhinis* em suínos SPF foi, por si só, capaz de causar inflamação de grau leve a moderado na tuba auditiva e, eventualmente, na cavidade timpânica. A inoculação simultânea desse agente com a *P. multocida* induziu alterações semelhantes, mas a *P. multocida* não foi reisolada da cavidade timpânica. Já a inoculação apenas da *P. multocida* não resultou em lesões no ouvido ou aparelho respiratório e o organismo não foi isolado do ouvido médio. Os autores fizeram a ressalva de que o tempo entre o desafio e a eutanásia para avaliação das lesões (7 dias) possa não ter sido suficiente para a ascensão e estabelecimento da *P. multocida* na cavidade timpânica.

Em humanos, a otite média é uma das doenças infecciosas mais comuns entre crianças (NOKSO-KOIVISTO, HOVI, PITKÄRANTA, 2006) e a sua patogenia tem sido estudada extensamente. Acredita-se que infecções respiratórias virais tenham um papel fundamental para o desenvolvimento da otite média, causando disfunções da tuba auditiva e permitindo o estabelecimento de infecções secundárias por bactérias como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Moraxella catarrhalis* (WEST, 2002). Os mecanismos exatos pelos quais as infecções virais facilitam o estabelecimento da otite média não são conhecidos, mas sugere-se que a inflamação da mucosa respiratória resulte em obstrução da tuba auditiva e em conseqüente pressão negativa no ouvido médio, que passa a aspirar conteúdo da nasofaringe (WINTHER *et al.*, 2002). O vírus Sincicial Respiratório (RSV) tem sido o mais freqüentemente associado às infecções do ouvido médio humano (NOKSO-KOIVISTO, HOVI,

PITKÄRANTA, 2006). Em contrapartida, não existem estudos relacionando infecções respiratórias virais à ocorrência de otite média no suíno.

Outras vias de infecção do ouvido médio no suíno parecem não ser importantes. De acordo com Pracy *et al.* (1998), o conduto auditivo externo do suíno é relativamente longo e tortuoso; a anatomia dessa estrutura poderia constituir, portanto, uma proteção contra a perfuração da membrana timpânica e, conseqüentemente, contra o estabelecimento de otite média via ouvido externo. Além disso, apesar de estudos em outras espécies terem indicado uma estreita correlação entre a presença de ectoparasitas no ouvido externo e a ocorrência de otite média e interna, parece não haver evidências de que isso também aconteça no suíno (HARLIZIUS, KLUCZNIOK, BOLLWAHN, 1996).

Uma vez estabelecida, a infecção do ouvido médio pode se estender para o ouvido externo, pela lise da membrana timpânica, e para o ouvido interno, pela lise das janelas oval e vestibular (OLSON, 1981). Meninges, cérebro e cerebelo podem ser atingidos por continuidade, através dos nervos vestibulococlear (OLSON, 1981; SHIMADA *et al.*, 1992), facial e trigêmio (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958), ou através da perilinfa, que é drenada para o espaço subaracnóideo pelo ducto perilinfático (SHIMADA *et al.*, 1992). Embora a extensão da infecção do ouvido médio para o ouvido interno e sistema nervoso seja considerada comum (SHIMADA *et al.*, 1992), Madsen *et al.* (2001) constataram que a otite interna é uma seqüela freqüente da meningite estreptocócica. O estudo realizado por esses autores revelou que, dos 28 casos confirmados de meningite, 20 apresentavam otite interna, mas apenas 2 tinham lesões histológicas sugestivas de complicações de otite média.

#### 2.1.5 Lesões

Na tuba auditiva, observa-se aumento do número de células caliciformes e infiltração de neutrófilos, podendo haver, em casos crônicos, espessamento da mucosa devido à proliferação de tecido fibroso e à extensa infiltração de linfócitos. A inflamação frequentemente envolve a abertura nasofaríngea da tuba (SHIMADA *et al.*, 1992; MORITA *et al.*, 1995).

Na demais partes do ouvido médio, as alterações incluem espessamento da membrana mucosa, com acúmulo de linfócitos e exsudação supurativa. Em alguns casos, ocorre lise dos ossículos e da parede óssea da cavidade timpânica e da bula. É

comum a proliferação de tecido fibroso nessas áreas, o que pode ser observado macroscopicamente sob a forma de um estreitamento dos espaços entre os septos ósseos da bula timpânica. O epitélio da mucosa da cavidade timpânica pode estar descamado em algumas áreas, com exposição da lâmina própria. Eventualmente, há lise da membrana timpânica e, dessa forma, pode ser encontrado exsudato purulento no canal do ouvido externo (OLSON, 1981; SHIMADA *et al.*, 1992).

As alterações no ouvido interno, quando presentes, consistem em infiltração de neutrófilos e exsudação serofibrinosa na cóclea e no vestíbulo (OLSON, 1981; SHIMADA *et al.*, 1992), podendo ocorrer a destruição do órgão de Corti e da membrana de Reissner (DUFF *et al.*, 1996).

Microscopicamente, as lesões nervosas associadas à otite interna e média incluem meningite e meningoencefalite supurativa. Os nervos envolvidos apresentam extensas áreas de peri e epineurite supurativa. Macroscopicamente, podem ser observados abscessos ao longo dos nervos afetados e em suas origens, no tronco cerebral (SHIMADA *et al.*, 1992; HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958).

#### 2.1.6 Sinais clínicos

A otite restrita ao ouvido médio não resulta em sinais clínicos aparentes. Não há observação de inapetência ou aumento de temperatura, e o animal afetado permanece alerta e ativo (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958; DESROSIERS, 1985; DUFF *et al.*, 1996).

Entretanto, quando há envolvimento do ouvido interno, observam-se sinais da síndrome vestibular, caracterizada por torção da cabeça, andar em círculos e tendência à queda para o lado afetado (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958; OLSON, 1981; SHIMADA *et al.*, 1992; DUFF *et al.*, 1996). Paralisia do focinho, ptose palpebral e do pavilhão auricular, nistagmo, decúbito lateral e movimentos de pedalagem também podem ser constatados (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958; OLSON, 1981) e são indicativos de extensão da lesão para o sistema nervoso.

## 2.2 Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno (SMDS)

### 2.2.1 Histórico

A Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno (SMDS) é uma enfermidade emergente, causada pelo Circovírus Suíno tipo 2 (PCV2). A SMDS foi primeiramente identificada em 1991 e descrita em 1996, em um rebanho de alto padrão sanitário, situado na região oeste do Canadá (HARDING e CLARK, 1997). O termo SMDS foi proposto na ocasião para descrever a condição clínica dos leitões examinados, que caracterizou-se por definhamento e palidez na fase de creche e por apresentação de lesões em múltiplos órgãos, especialmente nos tecidos linfóides (HARDING *et al.*, 1998). Além da SMDS, o PCV2 tem sido associado a várias outras doenças e síndromes do suíno, incluindo a síndrome dermatite-nefropatia (PDNS), o complexo de doenças respiratórias do suíno (PRDC), falhas reprodutivas, enterite granulomatosa e linfadenite necrosante (CHAE, 2005).

Apesar de apenas recentemente a SMDS ter emergido no mundo como doença significativa na produção de suínos, estudos retrospectivos de tecidos arquivados na Espanha (RODRÍGUEZ-ARRIOJA *et al.*, 2003), no Reino Unido (GRIERSON *et al.*, 2004), no Brasil (ZANELLA *et al.*, 2004), na Suíça (STAEBLER *et al.*, 2005), no Japão (MORI *et al.*, 2000) e na Tailândia (KIATIPATTANASAKUL-BANLUNARA *et al.*, 2004) demonstraram, já no final da década de 1980 e início da década de 1990, lesões características da SMDS associadas à presença abundante do antígeno e/ou ácido nucléico do PCV2. Também em estudos retrospectivos, anticorpos séricos contra o vírus foram detectados em amostras datadas de 1969, na Bélgica, de 1973, na Irlanda do Norte, e de 1985, no Canadá e na Espanha (STAEBLER *et al.*, 2005).

Os possíveis motivos que levaram à emergência da doença no cenário mundial ainda permanecem em debate. A disseminação global da doença após sua primeira descrição, em 1996, sugere que o vírus pode ter sofrido mutações para formas mais virulentas, ou que a susceptibilidade do hospedeiro possa ter aumentado devido à presença de co-fatores e/ou práticas adotadas na suinocultura moderna (BOLIN e ALLAN, 2002). Entretanto, até hoje, todos os isolados de PCV2 submetidos à caracterização por seqüenciamento genético, incluindo amostras virais originadas de áreas geográficas distintas e de diferentes manifestações clínicas, mostraram-se virtualmente idênticos, com similaridade acima de 94% (KRAKOWKA *et al.*, 2003). Além disso, a SMDS já foi experimentalmente reproduzida com um isolado de 1993, obtido de um animal clinicamente sadio de um rebanho da Suécia (HASSLUNG *et al.*, 2005). Por outro lado, estudos epidemiológicos não foram capazes de identificar, até o

presente momento, quaisquer co-fatores, incluindo novos agentes infecciosos e práticas da indústria moderna, que possam, em particular, ter aumentado a predisposição dos rebanhos à SMDS nos últimos anos (HASSLUNG *et al.*, 2005).

### 2.2.2 Importância econômica

De todas as doenças causadas pelo PCV2, a SMDS é a que tem produzido maior impacto econômico na produção de suínos. Estima-se que as doenças relacionadas ao PCV2 custem cerca de 600 milhões de Euros por ano para a União Européia. As perdas diretas são resultantes de mortalidade nas fases de creche e recria/terminação, e de leitões que não atingem peso de abate. Perdas indiretas são provenientes de uso aumentado de antibióticos na tentativa de controlar infecções bacterianas concomitantes e de mudanças nas práticas de manejo na tentativa de minimizar o impacto da SMDS no rebanho (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005).

### 2.2.3 Etiologia

O PCV2 pertence à recentemente estabelecida família *Circoviridae*, composta por vírus pequenos, icosaédricos, não envelopados, com DNA circular e de fita única. O PCV2 constitui, juntamente com o Circovírus Suíno tipo 1 (PCV-1), o gênero *Circovirus* (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). O PCV-1 é um contaminante persistente de linhagens celulares de rim suíno (PK-15) e é considerado não patogênico (CHAE, 2004). Outros membros da família *Circoviridae* são os vírus da anemia infecciosa das galinhas e o vírus da doença das penas e do bico dos psitacídeos (ZANELLA e MORÉS, 2003).

Atualmente, o PCV2 é reconhecido como o agente causal da SMDS. A informação está embasada na demonstração do ácido nucléico e do antígeno do PCV2 em quantidades abundantes em lesões de suínos apresentando a SMDS, no isolamento viral e no êxito em reproduzir experimentalmente a doença na ausência de outros agentes (ALLAN *et al.*, 2004; CHAE *et al.*, 2004; SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005).

### 2.2.4 Epidemiologia

Posteriormente ao primeiro relato, em 1996, a SMDS já foi diagnosticada na Ásia, América do Sul, América do Norte, Europa e Nova Zelândia (LAVAL, 2004). No Brasil, o primeiro registro da doença foi no estado de Santa Catarina, em 2000 (CIACCI-ZANELLA e MORÉS, 2003). No estado do Rio Grande do Sul, a SMDS foi diagnosticada pela primeira vez por Pescador e Barcellos (2003). Atualmente, a SMDS tem sido identificada nos rebanhos dos principais estados produtores de suínos do país, onde ela poder ser considerada uma doença endêmica (ZANELLA, 2005).

A faixa etária mais comumente afetada pela SMDS situa-se entre 2-4 meses (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). No entanto, nota-se que a epidemiologia da doença tem apresentado modificações desde sua primeira descrição, evidenciadas por uma maior amplitude de faixa de idade atingida. Existem relatos da doença em leitões com 2 dias e com até 6 meses de idade (LAVAL, 2004; ZANELLA *et al.*, 2006).

A SMDS tem atingido granjas de praticamente todos os tipos de produção, incluindo unidades de ciclo completo e unidades produtoras de leitões de tamanhos variados (normalmente com mais de 30 matrizes), e granjas de segundo e terceiro sítios, como crechários e terminadores, e de sítios múltiplos (ZANELLA e MORÉS, 2003; LAVAL, 2004). As taxas de morbidade observadas nas granjas atingidas situam-se geralmente entre 4 e 30%, e a taxa de letalidade típica é de 70-80%, mas as perdas podem variar dependendo da granja e do lote (LAVAL, 2004). Alguns fatores de risco causadores de estresse como densidade elevada, baixa qualidade do ar e misturas de lotes com idades diferentes podem exacerbar os sintomas e a gravidade da doença (ZANELLA, 2005). Dos animais que sobrevivem, a maioria evolui para definhamento extremo, sem possibilidade de recuperação (ZANELLA e MORÉS, 2003). As taxas de mortalidade encontradas variam entre 4 e 20% (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). A maioria dos leitões afetados é proveniente de poucas leitegadas, o que sugere um papel importante da porca na epidemiologia da doença (MADEC *et al.*, 2000; LAVAL, 2004).

A transmissão do PCV2 por via oronasal é provavelmente a mais freqüente; por sinal, essa tem sido a forma utilizada com êxito na maioria dos trabalhos que descrevem a infecção experimental da SMDS em suínos (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). Estudos realizados em granjas comerciais demonstraram que a maioria dos suínos apresenta soroconversão para o PCV2 entre 2 e 4 meses de idade, indicando que a transmissão horizontal do vírus ocorre de maneira eficiente (KRAKOWKA *et al.*, 2003; SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). A associação do PCV2 com abortos e

natimortos indica que a transmissão vertical transplacentária também pode ser importante (ZANELLA e MORÉS, 2003). A presença do DNA do PCV2 já foi demonstrada no sêmen de machos suínos infectados, mas a transmissão do vírus por inseminação artificial e monta natural ainda necessita de comprovação (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005).

#### 2.2.5 Sinais clínicos e lesões

A faixa etária mais comumente atingida é de 8 a 16 semanas. O principal sinal clínico da doença é a perda progressiva de peso, mas com frequência também são observados dispnéia, aumento de linfonodos inguinais superficiais, palidez, diarreia e, ocasionalmente, icterícia (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). Infecções concomitantes ocorrem com frequência em rebanhos afetados pela SMDS, incluindo doença de Aujeszky, Síndrome Reprodutiva e Respiratória Suína (PRRS), infecção pelo parvovírus, doença de Glässer, meningite estreptocócica e pneumonias bacterianas (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005).

O aumento dos linfonodos é a alteração macroscópica mais proeminente em estágios iniciais da doença e é observado principalmente nos inguinais superficiais, mesentéricos, mediastínicos e submandibulares (ROSELL *et al.*, 1999). Ocasionalmente, os linfonodos apresentam áreas de necrose multifocais, macroscopicamente visíveis (SEGALÉS, ROSELL, DOMINGO, 2004). O timo normalmente apresenta-se atrofiado (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). Pulmões não colapsados, com áreas de consolidação crânio-ventral e apresentando edema interlobular também são achados bastante frequentes, bem como ulceração na área aglandular do estômago (ROSELL *et al.*, 1999; SEGALÉS, ROSELL, DOMINGO, 2004; CORRÊA *et al.*, 2006). O fígado pode apresentar-se sem alterações ou aumentado de tamanho, pálido, com consistência firme e com superfície irregular. Em casos mais avançados da doença, pode ainda apresentar-se flácido, reduzido de tamanho e com coloração alaranjada, alterações que normalmente coincidem com a manifestação de icterícia generalizada (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). Alguns animais podem apresentar rins com múltiplos pontos brancos na superfície (SEGALÉS, ROSELL, DOMINGO, 2004; CORRÊA *et al.*, 2006) e intestinos, principalmente íleo e cólon, com parede afinada e conteúdo líquido (DARWICH, SEGALÉS, MATEU, 2004). Edema da

serosa e do mesentério intestinal, com evidenciação de seus vasos linfáticos, também já foi descrito (CORRÊA *et al.*, 2006).

As lesões histopatológicas nos órgãos linfóides de animais com a SMDS são bastante características. Um grau variável de depleção linfocitária com perda da arquitetura folicular é visto em praticamente todos os animais apresentando a doença, achado que é acompanhado de uma infiltração multifocal ou difusa e de grau leve ou intenso, de histiócitos e/ou células gigantes multinucleadas. Em um grande número de casos, inclusões citoplasmáticas de tamanhos variados, esféricas, basofílicas e bem demarcadas do PCV2 são vistas em histiócitos e em células dendríticas (SEGALÉS, ROSELL, DOMINGO, 2004). No timo, atrofia cortical é um achado proeminente (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). Ocasionalmente, em animais severamente afetados, podem ser vistas lesões de necrose coagulativa nos linfonodos (DARWICH, SEGALÉS, MATEU, 2004).

Nos pulmões, observa-se pneumonia intersticial com infiltrado mononuclear, composto predominantemente por macrófagos e linfócitos. Outras lesões freqüentes incluem broncopneumonia purulenta dos lobos anteriores ou pneumonia necrótica, atribuídas a infecções bacterianas concorrentes (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). No fígado, as alterações encontradas incluem infiltrado linfo-histiocitário periportal, necrose individual de hepatócitos e presença de corpos apoptóticos (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005; CORRÊA *et al.*, 2006). Nos rins, observa-se nefrite intersticial, com zonas de proliferação de fibroblastos ao redor dos focos inflamatórios (CHAE, 2004). No intestino delgado pode haver dilatação linfática, que se estende das vilosidades, passando pelas camadas submucosa, muscular e serosa e atingindo vasos linfáticos do mesentério e linfonodos. Aparentemente, nesses casos, há uma obstrução do fluxo de linfa, o que causa encurtamento das vilosidades e diminuição da profundidade das criptas (DRIEMEIER, 2006). Outras lesões microscópicas que podem ser detectadas correspondem à presença de infiltrados inflamatórios linfo-histiocitários em virtualmente todos os tecidos (SEGALÉS, ROSELL, DOMINGO, 2004).

#### 2.2.6 Patogenia

A patogenia tem sido tema de grande parte das pesquisas desenvolvidas nos últimos anos a respeito da SMDS, mas respostas definitivas para muitos de seus

aspectos ainda não foram obtidas. No entanto, não existem dúvidas de que a interação do PCV2 com o sistema imune desempenha papel determinante na expressão da doença (MCCULLOUGH *et al.*, 2003).

Embora a infecção pelo PCV2 seja hoje considerada necessária para o completo desenvolvimento da SMDS, outros elementos parecem influenciar a severidade da doença, de forma que a sua reprodução tem sido obtida de forma mais consistente e repetível com a utilização de co-fatores infecciosos e não infecciosos (ALLAN *et al.*, 2004; SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). A doença clínica severa já foi obtida experimentalmente em leitões gnotobióticos ou privados de colostro quando a inoculação do PCV2 foi associada ao Parvovírus Suíno (PPV) ou ao vírus da Síndrome Reprodutiva e Respiratória Suína (PRRSV) (ALLAN *et al.*, 2004). De fato, a associação do PCV2 com esses e com outros agentes virais e bacterianos tem sido observada com frequência no campo, em rebanhos apresentando a SMDS (ELLIS *et al.*, 2004).

Igualmente, a doença pôde ser reproduzida com êxito em leitões gnotobióticos submetidos, simultaneamente, à infecção pelo PCV2 e à injeção com um imunostimulador potente (KRAKOWKA *et al.*, 2001). Esses resultados são reforçados por dados oferecidos por experimentos realizados a campo, com animais naturalmente infectados pelo PCV2, em que se observou que a estimulação não específica do sistema imune por uma vacina ou por droga imunomoduladora pode potencializar a expressão da doença durante um surto de SMDS (KYRIAKIS *et al.*, 2002).

Os mecanismos pelos quais outros vírus ou a imunostimulação podem desencadear o desenvolvimento da SMDS em suínos infectados pelo PCV2 ainda permanecem desconhecidos. Especula-se que a estimulação antigênica por agentes infecciosos e não infecciosos possam aumentar o número de células em fase S do ciclo celular, que apresentam em seu núcleo polimerases indispensáveis para a replicação do PCV2 (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005; DARWICH, SEGALÉS, MATEU, 2004).

Ainda não foram identificados os tipos celulares que sustentam a replicação do PCV2 *in vivo*. As ferramentas que têm sido utilizadas para esses estudos incluem a imuno-histoquímica com anticorpos monoclonais específicos para o nucleocapsídeo e para a proteína Rep (enzima replicase) do PCV2, e a hibridização *in situ* com uma variedade de sondas específicas para o ácido nucléico do vírus (KRAKOWKA *et al.*, 2003).

Os antígenos e o ácido nucléico do vírus já foram detectados em uma grande variedade de células, mas esses materiais virais são encontrados principalmente no citoplasma de histiócitos, células gigantes multinucleadas e outras células da linhagem monocítica, tais como macrófagos alveolares, células de Kupfer e células dendríticas foliculares de tecidos linfóides (DARWICH, SEGALÉS, MATEU, 2004). A presença do PCV2 nas células da linhagem monocítica parece ser o resultado, essencialmente, de acúmulo de partículas virais por endocitose, e não um resultado de replicação ativa nessas células. Estudos *in vitro* mostraram que o título de partículas infectantes, o número de moléculas de DNA e os intermediários de replicação viral não aumentam durante a infecção dessas células, ao contrário do que é observado quando o PCV2 é inoculado em cultivos celulares da linhagem PK15 (VINCENT *et al.*, 2003; GILPIN *et al.*, 2003).

Considerando a falta de indícios de replicação do PCV2 em células da linhagem monocítica, a interação do vírus com outros tipos celulares ainda precisa ser estudada. A presença do PCV2 no núcleo celular tem sido detectada com mais frequência em hepatócitos e outras células epiteliais, sugerindo que essas células podem ser os locais primários para replicação do vírus. Reforçam essa idéia a observação de um caráter epiteliotrópico em outros vírus da família *Circoviridae* e o fato de uma linhagem celular do tipo epitelial (PK15) ser a que melhor permite a replicação *in vitro* do PCV2 (DARWICH, SEGALÉS, MATEU, 2004).

Apesar da aparente ausência de replicação em células da linhagem monocítica, estudos *in vitro* mostraram que o PCV2 mantém, por vários dias ou até semanas, a sua infectividade quando associado a macrófagos e células dendríticas (VINCENT *et al.*, 2003; GILPIN *et al.*, 2003). Essa associação prolongada e estável implica a existência de um mecanismo pelo qual o vírus é capaz de evadir ou inibir sua degradação endossomal (VINCENT *et al.*, 2003; GILPIN *et al.*, 2003). Ainda, sugere uma forma eficiente de disseminação do PCV2 pelo organismo do hospedeiro, considerando a grande capacidade migratória apresentada pelas células dendríticas (GILPIN *et al.*, 2003). Por outro lado, de acordo com estudos *in vitro*, não há indícios de que o PCV2 cause, em células dendríticas, modulação de moléculas de superfície celular, indução de apoptose, ou transmissão da infecção para linfócitos T cultivados simultaneamente (VINCENT *et al.*, 2003). Essa interação também não traz prejuízos para as células dendríticas no que diz respeito à sua diferenciação, à sua produção de citocinas e à sua

capacidade de processamento e apresentação de antígenos para linfócitos T (VINCENT *et al.*, 2005).

A infiltração de histiócitos e células gigantes multinucleadas nos tecidos linfóides parece ser um dos eventos iniciais durante a infecção pelo PCV2, e essa alteração coincide com a linfadenopatia macroscópica (SEGALÉS, ROSELL, DOMINGO, 2004). O mecanismo através do qual ocorre o recrutamento de monócitos e desenvolvimento da lesão granulomatosa ainda não é compreendido, mas sugere-se que a presença do vírus provoca a expressão de MCP-1 (quimiocina atrativa de macrófagos) nos tecidos linfóides (CHAE, 2004). À medida que as lesões nesses tecidos progridem, observam-se depleção linfocitária sistêmica severa e lesões inflamatórias e proliferativas em outros tecidos, como pulmão, fígado, rins e intestino (SEGALÉS, ROSELL, DOMINGO, 2004; KRAKOWKA *et al.*, 2003). A insuficiência hepática progressiva é normalmente a causa da morte em suínos com a SMDS, o que é observado tanto em casos naturais como experimentais da doença (KRAKOWKA *et al.*, 2003).

#### 2.2.7 PCV2 e imunossupressão

A imunossupressão do hospedeiro é uma conseqüência comum a determinadas doenças virais, e alguns dos mecanismos responsáveis por esse efeito são bem conhecidos. De um modo geral, a imunossupressão induzida por vírus pode resultar da replicação do agente em células do sistema imune ou em locais onde essas células se concentram, ou ainda, da resposta imune normal do hospedeiro contra o invasor. Mais especificamente, os vírus podem agir interferindo na apresentação de antígenos, induzindo apoptose, inibindo ou desregulando o sistema de sinalização por citocinas e inibindo componentes do sistema complemento (SEGALÉS e CLARK, 2002).

Uma característica comum aos vírus da família *Circoviridae* é a sua associação com lesões nos tecidos linfóides e imunossupressão (ZANELLA e MORÉS, 2003). Embora inúmeras evidências reunidas a partir do estudo de animais com a SMDS sugiram também um caráter imunossupressor para o PCV2 (SEGALÉS *et al.*, 2004), os mecanismos pelos quais esse vírus pode atuar prejudicando as defesas imunológicas do hospedeiro ainda não foram completamente esclarecidos.

Dentre os aspectos clínicos que dão suporte ao caráter imunossupressor do PCV2 está o fato de que tem sido observada com freqüência a presença de outras

doenças concomitantes em rebanhos com a SMDS, tais como a Síndrome Reprodutiva e Respiratória Suína, doença de Aujeszky, infecção por parvovírus, Influenza suína, salmonelose, doença de Glässer, meningite estreptocócica, colibacilose pós-desmame e pneumonias bacterianas (RODRIGUEZ-ARRIOJA *et al.*, 1999; ROSELL *et al.*, 1999; ELLIS *et al.*, 2000; MADEC *et al.*, 2000; KIM *et al.*, 2001; PALLARÉS *et al.*, 2002; SEGALÉS *et al.*, 2002; SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). Além disso, um dos achados mais sistematicamente relatados nas primeiras descrições da doença era a presença de infecções bacterianas recorrentes, não responsivas ao tratamento com antimicrobianos (SEGALÉS *et al.*, 1997; HARDING *et al.*, 1998; MADEC *et al.*, 2000).

A ocorrência de infecções por patógenos oportunistas em animais com a SMDS fornece evidência adicional ao possível estado de imunossupressão induzido pelo PCV2. Há na literatura relatos de co-infecções por *Pneumocystis carinii* (SANCHES, 2007), *Chlamydia* spp. (CARRASCO *et al.*, 2000), *Aspergillus* spp. (SEGALÉS *et al.*, 2003), *Cryptosporidium parvum* (NÚÑES *et al.*, 2003) e *Candida albicans* (ZLOTOWSKI *et al.*, 2006).

Por outro lado, as lesões nos tecidos linfóides e as alterações nas populações celulares do sistema imune observadas em animais com a SMDS são os mais fortes indícios de que o PCV2 induz um estado de imunossupressão. As lesões iniciais nos tecidos linfóides correspondem a uma inflamação granulomatosa, com infiltração de histiócitos e/ou células gigantes multinucleadas de forma multifocal ou difusa. A essa alteração, segue-se caracteristicamente a depleção linfocitária de graus variados nas zonas centrolímbicas e parafoliculares, com redução ou perda completa de linfócitos B e diminuição de linfócitos T, afetando principalmente as células CD4+ e, em menor escala, células CD8+ (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005; DARWICH, SEGALÉS, MATEU, 2004). Em animais afetados severamente, normalmente todos os órgãos linfóides apresentam a lesão, incluindo linfonodos, tonsilas, placas de Peyer, baço e timo (DARWICH, SEGALÉS, MATEU, 2004).

Esses achados coincidem com a alteração nas populações de células circulantes, caracterizada pela diminuição de linfócitos B e T, de células NK e de granulócitos maduros, e aumento de monócitos (SEGALÉS e CLARK, 2002; MCCULLOUGH *et al.*, 2003). A forma pela qual a infecção pelo PCV2 leva à depleção linfocitária ainda permanece obscura. O efeito do vírus sobre esse tipo celular parece ocorrer de forma indireta, pois o antígeno do PCV2 é raramente encontrado em linfócitos, tanto em casos

naturais como experimentais da doença (SEGALÉS *et al.*, 2004). Análises *in vitro* demonstraram que a cultura conjunta de monócitos infectados pelo PCV2 e linfócitos não resulta em apoptose em qualquer um desses tipos celulares (VINCENT *et al.*, 2003). Pesquisas mais recentes sugerem que a depleção linfocitária é provavelmente resultado da redução da atividade proliferativa de linfócitos no timo e em outros órgãos linfóides secundários (MANDRIOLI *et al.*, 2004).

Suínos afetados pela SMDS apresentam ainda um perfil alterado de expressão de citocinas nos tecidos linfóides, sugerindo uma disfunção de linfócitos T. Esse desequilíbrio é caracterizado por aumento da expressão de mRNA de IL-10 no timo e por diminuição da expressão de IL-2, IL-4 e IL-12 em órgãos linfóides secundários (SEGALÉS e MATEU, 2006).

Foi também observada a existência de um efeito imunomodulatório do PCV2 sobre células especializadas em produção de interferon (NIPC, *Natural Interferon Producing Cells*) (VINCENT *et al.*, 2005). Em condições normais, as NIPC respondem à presença de determinados componentes de DNA de agentes virais e bacterianos (oligonucleotídeos CpG) com a produção de quantidades abundantes de Interferon-alfa (IFN- $\alpha$ ) e Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), elementos com funções importantes na imunidade, tais como atividade antiviral direta, maturação de células dendríticas (CD), ativação de células NK e promoção de respostas específicas em células B e T (COLONNA, KRUG, CELLA, 2003). Estudos *in vitro* mostram que as NIPC, quando infectadas pelo PCV2, tornam-se refratárias às sinalizações de perigo, não respondendo com a produção de IFN- $\alpha$  e TNF- $\alpha$  e, conseqüentemente, afetando indiretamente a maturação de CD. Considerando o papel chave desempenhado pelas CD na ligação das respostas imunes humoral e celular (BANCHEREAU e STEINMANN, 1998), é provável que o efeito do PCV2 sobre as NIPC resulte em uma menor capacidade do organismo do hospedeiro em lidar com outras infecções (VINCENT *et al.*, 2005).

#### 2.2.8 Diagnóstico

Para que seja estabelecido o diagnóstico definitivo da SMDS, três itens são considerados indispensáveis: 1) observação de sinais clínicos, tais como retardo no crescimento e refugagem, freqüentemente acompanhados de dispnéia e aumento de linfonodos e, ocasionalmente, de icterícia; 2) presença de lesões histopatológicas características (depleção linfóide com inflamação granulomatosa e, em alguns casos,

presença de corpúsculos de inclusão); 3) detecção de quantidades moderadas a altas do PCV2 nas lesões dos órgãos linfóides e de outros tecidos (SORDEN, 2000).

Para a detecção do PCV2 nos tecidos, têm sido empregadas as técnicas de imuno-histoquímica (IHQ) e hibridização *in situ* (HIS), que permitem a análise da arquitetura histológica em relação à presença do agente (CHAE, 2004). Ambos os testes são realizados em cortes histológicos preparados a partir de tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina. Anticorpos mono ou policlonais têm sido utilizados para a IHQ, e várias sondas foram desenvolvidas para a detecção do ácido nucléico do PCV2 (SORDEN, 2000). Em geral, a IHQ é mais rápida e econômica que a HIS, mas a HIS é menos suscetível às alterações estruturais causadas pela fixação em formalina (CHAE, 2004).

O diagnóstico diferencial vai depender dos sinais clínicos dominantes observados em cada rebanho examinado. Nessa lista devem ser incluídas todas as doenças e condições que causem retardo no crescimento/refugagem, como PRRS, doença de Glässer, peste suína clássica, colibacilose pós-desmame, disenteria suína, colite espiroquetel, enteropatia proliferativa suína, pneumonia micoplásmica e intoxicação por carbadox/olaquinox (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005).

### 3 ARTIGO CIENTÍFICO

O trabalho será submetido à Pesquisa Veterinária Brasileira (Brazilian Journal of Veterinary Research) do Colégio Brasileiro de Patologia Animal.

**TÍTULO: Relação entre otites bacterianas e infecção pelo Circovírus tipo 2 em suínos.**

**RESUMO:** Neste trabalho, foi estudada a prevalência e a bacteriologia das otites purulentas em suínos apresentando três condições clínicas distintas: Síndrome Multissistêmica do Definhamento dos Suínos (SMDS), baixo desenvolvimento (porém sem apresentação de sinais clínicos da SMDS) e crescimento normal. No total, foram examinados 385 animais com idades entre 60 e 130 dias. De 242 animais com a SMDS, 57 (23,5%) apresentaram lesões purulentas no ouvido médio. Dentre os 119 animais de baixo desenvolvimento, apenas 1 (0,7%) apresentou a lesão. Não foram detectadas lesões macroscópicas no ouvido médio dos 24 animais com crescimento normal. Os agentes isolados com maior frequência foram *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococci*  $\alpha$ -hemolíticos e *Pasteurella multocida*, encontrados em, respectivamente, 36 (43%), 32 (37,2%) e 24 (27,9%) dos 86 ouvidos submetidos à bacteriologia. A alta prevalência de lesões purulentas no ouvido médio de animais com a SMDS indica que a infecção pelo PCV2 pode tornar o suíno mais suscetível às otites bacterianas. A prevalência reduzida dessas lesões em suínos de baixo desenvolvimento, sem a manifestação clínica da SMDS, sugere que a otite média não representa uma causa importante de mau desempenho em leitões nas fases de crescimento e terminação. O envolvimento do *A. pyogenes*, de *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos e da *P. multocida* na maioria das lesões apontam a importância desses organismos como agentes causais da otite média em suínos.

**Termos de indexação:** otite média; PCV2; Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno; baixo desenvolvimento; bacteriologia.

***TITLE: Relationship between bacterial otitis and Porcine Circovirus type 2 infection in pigs***

***ABSTRACT:*** *In the present work, we describe a study on prevalence and bacteriology of purulent otitis in pigs with 3 different clinical conditions: Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS), pigs with attrition and pigs with normal growth. A total amount of 385 animals were examined, with ages ranging from 60 to 130 days. Among 242 pigs with PMWS, 57 (23,5%) showed purulent lesions in the middle ear. Among 119 pigs with attrition, only 1 (0,7%) presented the lesion. In 24 control pigs, middle ear lesions were not detected. The agents most frequently isolated from the lesions were Arcanobacterium pyogenes,  $\alpha$ -hemolytic Streptococci and Pasteurella multocida, found respectively in 36 (43%), 32 (37,2%) and 24 (27,9 %) of 86 ears bacteriologically examined. The high prevalence of purulent lesions found in middle ear of PMWS affected pigs indicates that PCV2 infection can increase susceptibility of swine to bacterial otitis. The small prevalence of lesions in piglets with attrition suggests that otitis does not represent a significant cause for depressed growth in pigs from growing and finishing ages. The isolation of A. pyogenes,  $\alpha$ -hemolytic Streptococci and P. multocida from most lesions emphasizes the importance of these organisms as causal agents of otitis media in pigs.*

***Index terms:*** *otitis media; PCV2, Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome; attrition; bacteriology.*

## INTRODUÇÃO

A Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno (SMDS) é uma enfermidade emergente, identificada primeiramente em 1991, em um rebanho de alto padrão sanitário do Canadá (HARDING e CLARK, 1997). Hoje, a doença tem distribuição mundial e é considerada endêmica em muitos países produtores de suínos (CHAE, 2004), incluindo o Brasil, onde tem causado sérios prejuízos econômicos (ZANELLA e MORÉS, 2003). O agente etiológico da SMDS é o Circovírus Suíno tipo 2 (PCV2), que também tem sido associado a outras síndromes/doenças, como a Síndrome da Dermatite e Nefropatia (PDNS), o Complexo de Doenças Respiratórias dos Suínos (PRDC), falhas reprodutivas, enterite granulomatosa e linfadenite necrosante (CHAE, 2005).

A faixa etária mais comumente atingida pela SMDS é de 8 a 16 semanas. Clinicamente, a doença é caracterizada por perda progressiva de peso, dispnéia, aumento de linfonodos inguinais superficiais, palidez, diarreia e, ocasionalmente, icterícia (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). As principais lesões ocorrem nos tecidos linfóides, onde se observam graus variáveis de depleção linfocitária, perda da arquitetura folicular e infiltração multifocal ou difusa de histiócitos e/ou células gigantes multinucleadas (SEGALÉS, ROSELL, DOMINGO, 2004).

Infecções virais e bacterianas concomitantes ocorrem com frequência em rebanhos afetados pela SMDS (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005), o que indica, juntamente com outros aspectos patológicos e imunológicos observados em animais com a doença, um estado de imunossupressão induzido pelo PCV2 (SEGALÉS *et al.*, 2004). Em estudos desenvolvidos na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, infecções bacterianas associadas à SMDS também têm sido notadas com frequência, incluindo pneumonias, artrites, doença de Glässer, colibacilose,

salmonelose, abscessos dentários e infecções purulentas do ouvido médio. Este último achado, usualmente pouco investigado na rotina de exame macroscópico de suínos, motivou o presente trabalho.

As doenças do ouvido do suíno têm recebido pouca atenção veterinária por envolverem órgãos de difícil acesso ao exame e por, aparentemente, não estarem associadas a perdas econômicas significativas. Há indicativos patológicos e microbiológicos de que a infecção do ouvido médio seja resultado da ascensão de bactérias do trato respiratório superior através da tuba auditiva (SHIMADA *et al.*, 1992). Em concordância, os organismos que têm sido isolados dessas lesões incluem bactérias comumente encontradas na nasofaringe de animais saudáveis ou com doença respiratória, como *Pasteurella multocida*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., corineformes do grupo E, *Fusobacterium necrophorum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Arcanobacterium pyogenes* e *Mycoplasma hyorhinis* (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958; OLSON, 1981; DESROSIERS, 1985; SHIMADA *et al.*, 1992; MORITA *et al.*, 1995; DUFF *et al.*, 1996; HARLIZIUS, KLUCZNIOCK, BOLLWAHN, 1996). Por extensão a partir do ouvido médio, a infecção pode atingir estruturas do ouvido interno e do sistema nervoso, causando síndrome vestibular, que é caracterizada por inclinação da cabeça para o lado correspondente à lesão, andar em círculos, falta de equilíbrio, nistagmo e ptose palpebral e auricular (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958; OLSON, 1981; DESROSIERS, 1985; SHIMADA *et al.*, 1992; DUFF *et al.*, 1996; HARLIZIUS, KLUCZNIOCK, BOLLWAHN, 1996).

O objetivo deste trabalho foi estudar a prevalência e os agentes bacterianos envolvidos nas infecções purulentas do ouvido médio em três grupos distintos: suínos

apresentando a SMDS; suínos de baixo desenvolvimento, porém sem sinais clínicos da SMDS; e suínos clinicamente normais.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram necropsiados 385 suínos, oriundos de 66 granjas localizadas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Duzentos e quarenta e dois animais, com idades variando entre 60 e 100 dias, apresentavam sinais clínicos da SMDS, que incluíam má condição corporal, atraso no crescimento, linfonodos inguinais superficiais aumentados, dispnéia, diarreia e palidez cutânea. Dentre estes, três demonstravam sinais de síndrome vestibular, com torção de cabeça, ptose palpebral, andar em círculos, desequilíbrio e queda freqüente (Figura 1). Foram investigados outros dois grupos, compostos por, respectivamente, 119 animais apresentando baixo desenvolvimento, porém sem definhamento característico da SMDS, e 24 com crescimento normal (controles). Nestes dois últimos grupos, as idades variavam entre 85 e 130 dias e não foram notados sinais clínicos evidentes da SMDS ou de síndrome vestibular.

O exame macroscópico dos animais foi realizado após eutanásia por atordoamento elétrico, seguido de sangria. Fragmentos de pele, linfonodos, baço, intestinos, fígado, estômago, rins, pulmão, coração e sistema nervoso central foram coletados, fixados em formalina tamponada a 10% e processados por métodos convencionais para histologia, utilizando as colorações por hematoxilina-eosina (HE) e Ácido Periódico de Schiff (PAS) (PROPHET *et al.* 1992). O exame de imunohistoquímica para detecção do PCV2 foi realizado pela técnica descrita por Corrêa *et al.* (2006). O exame do ouvido médio foi realizado através de dois cortes no crânio com serra manual: o primeiro, no plano horizontal, na porção ventral das bulas timpânicas; o segundo, transversal do crânio, alguns milímetros à frente da abertura dos condutos

auditivos externos. Com esses acessos, buscou-se verificar a existência de exsudato purulento no interior da cavidade e/ou bula timpânica. Quando presente, foi coletado assepticamente e cultivado em ágar-sangue de carneiro 5% e em ágar MacConkey, a 37°C, em atmosfera aeróbica. O crescimento foi avaliado por até 96 horas e a identificação dos organismos isolados foi realizada segundo métodos padrões (BARROW e FELTHAM, 1999). A relação entre a presença de otites purulentas e a SMDS foi analisada pelo teste do  $\chi^2$ .

## **RESULTADOS**

### **Lesões macro e microscópicas gerais**

Dentre os animais apresentando sinais clínicos da SMDS, todos apresentavam lesões compatíveis com as da infecção com o PCV2, predominando as alterações nos órgãos linfóides, pulmão, rins e fígado. Na análise macroscópica, os linfonodos apresentaram-se aumentados de tamanho e, em alguns casos, congestos ou hemorrágicos. Microscopicamente, as lesões nesses órgãos e em outros tecidos linfóides caracterizaram-se por depleção linfocitária e infiltrado linfo-histiocitário ou granulomatoso de graus variáveis, com presença frequente de inclusões basofílicas, de tamanhos variados e PAS positivas no citoplasma de células gigantes multinucleadas. Nos casos de congestão e hemorragia de linfonodos, observou-se necrose de coagulação, alteração que também foi notada no baço, quando este se apresentava aumentado e com áreas de infarto no exame macroscópico. Na maioria dos casos, os pulmões mostraram-se não colapsados, com edema interlobular e com áreas de consolidação crânio-ventrais, lesões que coincidiram histologicamente com pneumonia intersticial e broncopneumonia purulenta, respectivamente. Nos rins, as lesões mais salientes foram aumento de tamanho e superfície com pontos brancos, achados que

corresponderam, na histologia, à nefrite intersticial. As alterações no fígado incluíram redução de tamanho, presença de manchas vermelho-escuras no parênquima e, eventualmente, icterícia. Hepatite periportal e necrose individual de hepatócitos foram as lesões microscópicas encontradas no órgão. O exame imuno-histoquímico mostrou a presença do antígeno do PCV2 na maioria das as lesões histológicas características encontradas nos órgãos linfóides, pulmão, rins e fígado.

No exame dos animais com baixo desenvolvimento e crescimento normal, foram constatadas lesões variadas como pneumonias e pleurisas, polisserosites, úlceras gástricas e abscessos. Em muitos casos foram observadas lesões macro e microscópicas compatíveis com a infecção pelo PCV2, associadas ou não à presença do antígeno viral, a maioria em grau leve. A descrição detalhada desses achados consta no estudo de Nottar (2007).

#### **Lesões no ouvido médio**

Dos 242 animais apresentando sinais clínicos e lesões características da SMDS, 57 (23,5%) tinham otite média purulenta (Figura 2), perfazendo um total de 87 ouvidos afetados. Dentre os animais afetados, 30 (52,6%) apresentaram lesão bilateral e, em pelo menos seis, observou-se lise da parede ventral da bula timpânica, evidenciada pela formação de abscesso no tecido subjacente ou pela fragilidade e/ou deformidade na superfície externa dessa estrutura óssea. Nos exames bacteriológicos, foram obtidas culturas puras ou mistas com até duas bactérias diferentes. Os agentes isolados com maior frequência foram *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos e *Pasteurella multocida*, encontrados em, respectivamente, 36 (42,3%), 32 (37,6%) e 24 (28,2%) dos 85 ouvidos submetidos à bacteriologia.

No grupo composto por 119 animais de baixo desenvolvimento, sem sinais clínicos da SMDS, apenas 1 apresentou otite média purulenta. Nesse único caso, a lesão

foi unilateral e houve isolamento de *A. pyogenes* em cultura pura. Os animais com crescimento normal, por sua vez, não apresentaram lesões macroscópicas no ouvido médio.

A prevalência das lesões nos três grupos analisados e os resultados da bacteriologia constam nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

## **DISCUSSÃO**

As lesões macro e microscópicas, associadas à presença do antígeno do PCV2, confirmaram o diagnóstico da SMDS nos 242 animais que apresentavam sinais clínicos da doença. Embora tenham sido observadas lesões histológicas – na maioria dos casos discretas – e presença do antígeno viral nos outros 143 animais, incluindo os suínos de baixo desenvolvimento e os de crescimento normal, sinais clínicos característicos da doença como definhamento, refugagem e dispnéia não foram notados, o que sugere a apresentação da doença na sua forma subclínica ou em estágio inicial de desenvolvimento. O estudo de Nottar (2007) indica que a infecção pelo PCV2, mesmo quando não associada às manifestações clínicas da SMDS, pode ser uma causa de baixo desempenho em animais nas fases de recria e terminação. A razão pela qual somente alguns dos animais infectados pelo PCV2 desenvolvem a doença na sua forma severa ainda não está clara. Há, porém, indícios de que um perfil alterado de citocinas nos tecidos linfóides de determinados indivíduos – incluindo um aumento de interleucina 10 e a incapacidade de produzir interferon logo no início do processo infeccioso – esteja relacionado à expressão completa da SMDS (SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005).

Infecções bacterianas concomitantes têm sido observadas com frequência em rebanhos apresentando a SMDS, nos quais é comum a presença de salmonelose, doença de Glässer, meningite estreptocócica, colibacilose e pneumonias por *Mycoplasma*

*hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica* e *Actinobacillus pleuropneumoniae* (MADEC *et al.*, 2000; KIM *et al.*, 2002; PALLARÉS *et al.*, 2002; SEGALÉS, ALLAN, DOMINGO, 2005). No presente estudo, uma alta percentagem (23,5%) de animais com a SMDS apresentou lesões purulentas no ouvido médio. Em contrapartida, a infecção foi observada em apenas um suíno (0,7%) no grupo de animais clinicamente normais. A diferença encontrada indica que os animais com a SMDS são mais suscetíveis às infecções do ouvido médio. Há vários aspectos clínicos, patológicos e imunológicos que apontam o PCV2 como responsável por um estado de imunossupressão do hospedeiro, ainda que não se conheçam perfeitamente os mecanismos pelos quais ele ocorre (SEGALÉS *et al.*, 2004). Dentre esses aspectos, estão a presença freqüente de infecções bacterianas concorrentes, não responsivas ao tratamento com antimicrobianos (SEGALÉS *et al.*, 1997; MADEC *et al.*, 2000); ocorrência de infecções por agentes oportunistas como *Pneumocystis carinii* (SANCHES, 2007), *Chlamydia* spp. (CARRASCO *et al.*, 2000), *Aspergillus* spp. (SEGALÉS *et al.*, 2003), *Cryptosporidium parvum* (NÚÑES *et al.*, 2003) e *Cândida albicans* (ZLOTOWSKI *et al.* 2006); lesões severas nos tecidos linfóides causadas pelo PCV2, resultando em depleção linfocitária e alteração das populações de células circulantes do sistema imune (SEGALÉS e CLARK, 2002; MCCULLOUGH *et al.*, 2003); perfis alterados de expressão de citocinas em tecidos linfóides (SEGALÉS e MATEU, 2006); e a observação de um efeito imunomodulatório do PCV2 sobre células especializadas em produção de interferon (NIPC, *Natural Interferon Producing Cells*) (VINCENT *et al.*, 2005).

Os resultados obtidos no presente trabalho podem constituir mais uma evidência do caráter imunossupressor que tem sido proposto para o PCV2, embora seu papel também não tenha ficado claro nas infecções aqui descritas. Os mecanismos de

imunidade do ouvido médio são similares aos encontrados no aparelho respiratório: a mucosa da tuba auditiva é revestida por epitélio prismático ciliado, e a submucosa possui células produtoras de muco e quantidades variáveis de folículos linfóides, concentrados na região da abertura nasofaríngea (PRACY *et al.*, 1998). Em humanos, a otite média é uma doença normalmente associada a infecções respiratórias virais. Acredita-se que a inflamação da mucosa respiratória decorrente dessas infecções cause a obstrução tubária, o que leva à formação de pressão negativa na cavidade timpânica e à conseqüente aspiração de conteúdo da nasofaringe, resultando em infecção bacteriana secundária do ouvido médio (WINTHER *et al.*, 2002). Um mecanismo semelhante de patogenia pode ser proposto para as otites observadas neste estudo. É possível que a hiperplasia do tecido linfóide da tuba auditiva, provocada pelo PCV2, tenha contribuído para a obstrução deste órgão, desencadeando a mesma seqüência de eventos que é observada durante a infecção do ouvido humano. Alternativamente, supõe-se que o organismo dos animais com a SMDS responda de forma ineficiente frente aos estímulos antigênicos presentes na mucosa do ouvido médio, caracterizando um efeito imunossupressor propriamente dito. Ainda, considerando a existência de uma estreita relação da otite média com pneumonias bacterianas e rinite atrófica (SHIMADA *et al.*, 1992; DUFF *et al.*, 1996; OLSON, 1981), supõe-se que o PCV2 possa ter atuado aumentando a suscetibilidade a essas infecções respiratórias e, indiretamente, às infecções do ouvido médio. Há a possibilidade, até mesmo, de que todos os fatores acima mencionados tenham agido sinergisticamente, resultado numa maior predisposição dos animais com a SMDS à otite média.

A bacteriologia confirmou o *A. pyogenes* como importante agente em lesões supurativas no suíno (TAYLOR, 1999) e está de acordo com os resultados obtidos por outros autores, que relataram o isolamento de organismos similares, em cultura pura ou

mista, de lesões purulentas no ouvido médio (HIPÓLITO, LAMAS, GODOY, 1958; OLSON, 1981; DESROSIERS, 1985; SHIMADA *et al.*, 1992; HARLIZIUS, KLUCZNIOCK, BOLLWAHN, 1996). A ausência de crescimento em um número considerável de amostras (10,6%) pode refletir o tratamento recente com antimicrobianos ou evidenciar a presença de organismos anaeróbicos ou fastidiosos, já que não foram utilizados processamentos laboratoriais que contemplassem essas exigências diferenciadas de crescimento.

Os cortes adotados para a obtenção de acesso ao ouvido médio não possibilitaram uma avaliação precisa da integridade de todas as suas estruturas. Entretanto, a simples existência de exsudato purulento na bula ou na cavidade timpânica é um indicativo de uma lesão de grau e extensão considerável. Olson *et al.* (1981) e Shimada *et al.* (1992) relataram que a presença de inflamação supurativa do ouvido médio esteve freqüentemente associada à lise das estruturas ósseas que o compõe (ossículos, septos da bula e paredes da cavidade) e da membrana timpânica. De fato, em seis dos animais aqui examinados, foi possível observar macroscopicamente a lise dos septos e da parede da bula timpânica. No estudo de Shimada *et al.* (1992), apenas 40 dos 151 animais com lesões microscópicas apresentaram uma quantidade considerável de exsudato inflamatório; destes, somente 20 eram purulentos. Como não foi realizada análise histológica no presente trabalho, não foi possível detectar essas lesões de menor grau. Porém, cabe lembrar que a faixa etária dos suínos examinados no presente estudo (60-130 dias) corresponde àquela em que prevalecem as lesões mais severas (SHIMADA *et al.*, 1992). Por outro lado, apesar da gravidade das lesões, a observação de apenas três animais com sinais de síndrome vestibular indica que, na maioria dos casos, a infecção não se estendeu para o ouvido interno e para o sistema nervoso, ou

que, pelo menos, não danificou as estruturas responsáveis pela manutenção do equilíbrio corporal.

Por fim, a reduzida prevalência das otites purulentas em suínos com baixo desenvolvimento (0,8%) sugere que a doença não é uma causa comum de mau desempenho entre animais pertencentes à faixa etária examinada, pelo menos naqueles sem as manifestações clínicas da SMDS.

### CONCLUSÕES

Os resultados indicam que a manifestação clínica da infecção pelo PCV2, de alguma forma, pode tornar o suíno mais suscetível às otites bacterianas. Aparentemente, as infecções purulentas do ouvido médio não constituem uma causa comum de mau desempenho entre leitões sem a manifestação clínica da SMDS. O envolvimento do *A. pyogenes*, de *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolíticos e da *P. multocida* na maioria das lesões apontam a importância desses organismos como agentes causais da otite média em suínos.

### REFERÊNCIAS

BARROW, G.I.; FELTHAM, R.K.A. **Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria**. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999, 331p.

CARRASCO, L.; SEGALÉS, J.; BAUTISTA, M. J.; GOMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; ROSELL, C.; RUIZ-VILLAMOR, E.; SIERRA, M. A. Intestinal chlamydial infection concurrent with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. **The Veterinary Record**. v. 146, n. , p. 21-23, 2000.

CHAE, C. A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. **The Veterinary Journal**. v. 169, p. 326–336, 2005.

CHAE, C. Postweaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. **The Veterinary Journal**. v. 168, n. 1, p. 41-49, 2004.

CORRÊA, A. M. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; ZLOTOWSKI, P.; ROZZA, D. B.; OLIVEIRA, E. C.; BARCELLOS, D. E.; DRIEMEIER, D. Aspectos clínico-patológicos associados à circovirose suína no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 26, n. 1, p. 9-13, 2006.

DESROSIERS, R. Les otites. **Méd. Vet Québec**. v. 15, n. 4, p. 201-202, 1985.

DUFF, J. P.; SCOTT, W. A.; WILKES, M. K.; HUNT, B. Otitis in weaned pig: a new pathological role for *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*. **The Veterinary Record**. v. 139, n., p. 561-563, 1996.

HARDING, J. C. S.; CLARK, E. G. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (SMDS). **Swine Health and production**. v. 5, n. 5, p. 201-203, 1997.

HARLIZIUS, J.; KLUCZNIOK, C.; BOLLWAHN, W. Clinical and Radiological Findings in Middle and Inner Ear Infections. 14<sup>th</sup> IPVS Congress, 1996, Bologna. **Proceedings**. Bologna: Faculty of Veterinary Medicine University of Bologna, 1996. p. 705.

HIPOLITO, O.; LAMAS, J. M.; GODOY, A. M. Otite média dos suínos. **Arquivos da Escola Superior de Veterinária de Minas Gerais**. v. 11, n. , p. 351-356, 1958.

KIM, J.; CHUNG, H.; JUNG, T.; CHO, W.; CHOI, C.; CHAE, C. Postweaning multisystemic wasting syndrome of pigs in Korea: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. **Journal of Veterinary Medical Science**. v. 64, n. 1, p. 57-62, 2002.

KRAKOWKA, S.; RINGS, D. M.; ELLIS, J. A.; ALLAN, G. M.; MCNEILLY, F.; MEEHAN, B. M.; MCCULLOUGH, K. C.; BETNER, A.; NAUWYNCK, H. J.; CHARREYRE, C.. The Immunology of PCV2 Infections and SMDS. In: Merial (ed.). **PCV2 Diseases: Intimate relationships between host and pathogen & a close up on Asia**. Seoul: Merial, 2003, p. 25-34. 4<sup>th</sup> Merial Symposium on SMDS.

MADEC, F.; EVENO, E.; MORVAN, P.; HAMON, L.; BLANCHARD, P.; CARIOLET, R.; AMENNA, N.; MORVAN, H.; TRUONG, C.; MAHÉ, D.; ALBINA, E.; JESTIN, A. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (SMDS) in pigs in France: clinical observations from follow-up studies on affected farms. **Livestock Production Science**. v. 63, p. 223–233, 2000.

MORITA, T.; FUKUDA, H.; AWAKURA, T.; SHIMADA, A.; UMEMURA, T.; KAZAMA, S.; YAGIHASHI, T. Demonstration of *Mycoplasma hyorhinis* as a possible primary pathogen for porcine otitis media. **Veterinary Pathology**. v. 32, n. 2., p. 107-111, 1995.

NOTTAR, E. **Avaliação de causas infecciosas de baixo desenvolvimento em suínos nas fases de recria e terminação**. 2007, 46f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), PPGCV, Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, 2007.

NÚÑES, A.; MCNEILLY, F.; PEREA, A.; SÁNCHEZ-CORDÓN, P. J.; HUERTA, B.; ALLAN, G.; CARRASCO, L. Coinfection by *Cryptosporidium parvum* and Porcine Circovirus Type 2 in Weaned Pigs. **Journal of Veterinary Medicine B**. v. 50, n., p. 255-258, 2003.

OLSON, L. D. Gross and microscopic lesions of middle and inner ear infections in swine. **American Journal of Veterinary Research**. v. 42, n. 8, p. 1433-1440. Aug. 1981.

PALLARÉS, F. J.; HALBUR, P. G.; OPRIESSNIG, T.; SORDEN, S. D. VILLAR, D.; JANKE, B. H.; YAEGER, M. J.; LARSON, D. J.; SCHWARTZ, K. J.; YOON, K. J.; HOFFMAN, L. J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) coinfections in US field cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (SMDS). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 14, p. 515-519, 2002.

PRACY, J. P.; WHITE, A.; MUSTAFA, Y.; SMITH, D.; PERRY, M. E. The comparative anatomy of the pig middle ear cavity : a model for middle ear inflammation in the human? **Journal of Anatomy**. v. 192, n. 3, p. 359-368, 1998.

PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. **Laboratory Methods in Histotechnology**. Washington D.C.: Armed Forces Institute of Pathology, 1992, 279p.

SANCHES, E. M. C. ***Pneumocystis* sp. e Circovírus (PCV2) em pulmões de suínos de abate, procedentes dos estados do Rio Grande do Sul e Mato Grosso e estudo das relações filogenéticas das amostras de *Pneumocystis* sp.** 2006. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SEGALÉS, J., ALLAN, G. M. ; DOMINGO, M. Porcine circovirus diseases. **Animal Health Research Reviews**. V. 6, n. 2, p. 119-142, 2005.

SEGALÉS, J.; CLARK, E. G. Immunostimulation and Immunosuppression: two faces of the same coin. In: Merial (ed.). **SMDS and PCV2 Diseases: Beyond the debate**. Ames: Merial, 2002, p. 33-43. 3<sup>rd</sup> Merial Symposium on SMDS.

SEGALÉS, J.; DOMINGO, M.; CHIANINI, F.; MAJÓ, N.; DOMÍNGUEZ, J.; DARWICH, L.; MATEU, E. Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. **Veterinary Microbiology**. v. 98, n. 1, p. 151-158, 2004.

SEGALÉS, J.; DOMINGO, M.; COLLELL, M.; JENSEN, H. E.; BLANCO, J. L. Pulmonary aspergillosis in a postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected pig. **The Pig Journal**. v. 52, n. , p. 41-47, 2003.

SEGALÉS, J.; MATEU, E. Immunosuppression as a feature of postweaning multisystemic wasting syndrome. **The Veterinary Journal**. v. 171, n. 3, p. 396-397, 2006.

SEGALÉS, J.; ROSELL, C.; DOMINGO, M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. **Veterinary Microbiology**. v. 98, n. 2, p. 137-149, 2004.

SEGALÉS, J.; SITJAR, M.; DOMINGO, M.; DEE, S.; DEL POZO, M.; NOVAL, R.; SACRISTAN, C.; DE LAS HERAS, A.; FERRO, A.; LATIMER, K. S. First report of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Spain. **The Veterinary Record**. v. 141, n. p. 600-601, 1997.

SHIMADA, A; ADACHI, T.; UMEMURA, T.; KOHNO, K.; SAKAGUCHI, Y.; ITAKURA, Y. A pathologic and bacteriologic study on otitis media in swine. **Veterinary Pathology**. v. 29, n. 4, p. 337-342, 1992.

TAYLOR, D. J. Miscellaneous bacterial infections. In: STRAW, B.E.; ALLAIRE, S.D.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**, 8<sup>th</sup> Edn. Ames: Iowa State University Press, p. 613-642, 1999.

VINCENT, I. E.; CARRASCO, C. P.; GUZYLACK-PIRIOU, L.; HERRMANN, B.; MCNEILLY, F.; ALLAN, G. M.; SUMMERFIELD, A.; MCCULLOUGH, K. C. Subset-dependent modulation of dendritic cell activity by PCV2. **Immunology**. v. 115, n.3, p. 388-398, 2005.

WINTHER, B.; HAYDEN, F.; ARRUDA, E.; DUTKOWSKI, R.; WARD, P.; HENDLEY, O. Viral respiratory Infection in Schoolchildren: effects on middle air pressure. **Pediatrics**, v. 109, n. 5, p. 826-832, 2002.

ZANELLA, J. R.C., MORES, N. Circovirose suína. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2003. **Circular Técnica**. Disponível em <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/cit37.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/cit37.pdf)> Acesso em: 29 de dezembro de 2006.

ZLOTOWSKI, P.; ROZZA, D. B.; PESCADOR, C.A.; BARCELLOS, D. E.; FERREIRO, L.; SANCHES, E. M. C.; DRIEMEIER, D. Muco-cutaneous candidiasis in two pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. **The Veterinary Journal**.v.171, n. , p. 566-569, 2006.

**Tabela 1. Prevalência e apresentação clínica da otite média purulenta em suínos com idades entre 60-130 dias, provenientes de 66 granjas do estado do Rio Grande do Sul, Brasil:**

<b>Grupo</b>	<b>Prevalência da otite média purulenta</b>	<b>Apresentação de síndrome vestibular</b>
Suínos com sinais clínicos e lesões característicos da SMDS* (n=242)	57 (23,5%) **	3/57 (5,3%)
Suínos de baixo desenvolvimento, mas sem manifestação clínica da SMDS (n=119)	1 (0,7%) **	0
Suínos com crescimento normal (n=24)	0	0

\*SMDS: Síndrome do Definhamento Multissistêmico dos Suínos

\*\*p<0,01 (teste  $\chi^2$ )

**Tabela 2. Agentes isolados da cavidade/bula timpânica (n=86) de suínos com otite média purulenta**

<b>Agente</b>	<b>Ouvidos afetados</b>	<b>%</b>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	37	43,0%
<i>Streptococcus</i> $\alpha$ -hemolíticos	32	37,2%
<i>Pasteurella multocida</i>	24	27,9%
<i>Escherichia coli</i>	4	4,6%
<i>Corynebacterium</i> sp.	1	1,2%
Crescimento negativo	9	10,5%
Inconclusivo	8	9,3%



Figura 1: Leitão com sinais clínicos da Síndrome do Definhamento dos Suínos (SMDS) apresentando síndrome vestibular: cabeça inclinada e ptose palpebral e auricular

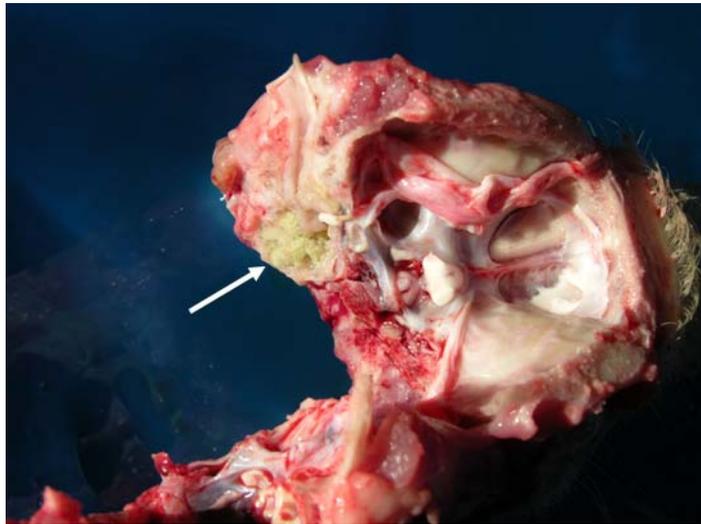


Figura 2: Conteúdo purulento na bula timpânica esquerda (seta) de um suíno apresentando infecção do ouvido médio.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde seu primeiro relato, em 1996, a SMDS já foi diagnosticada em todos os continentes, afetando alguns dos principais países produtores de suínos no mundo. Apesar do número crescente de pesquisas desenvolvidas nos últimos anos visando a compreender melhor a patogenia e a epidemiologia da SMDS, muitas questões ainda precisam ser respondidas. Qual o motivo da emergência global da doença, considerando que o vírus já está, segundo estudos retrospectivos, há pelo menos 35 anos difundido em rebanhos de alguns países? Por que apenas alguns animais desenvolvem a forma severa da doença, apesar de a infecção pelo PCV2 estar amplamente distribuída? Quais são os tipos celulares que permitem a replicação do vírus? Como o PCV2 interage com o sistema imune do hospedeiro, de forma a criar um aparente estado de imunossupressão? Estas dúvidas têm motivado vários grupos de pesquisa pelo mundo, principalmente em países onde a doença tem trazido sérios prejuízos econômicos, lista que inclui o Brasil.

Em estudos realizados na Faculdade de Veterinária da UFRGS, tem sido observada uma alta prevalência de infecções bacterianas associadas à infecção pelo PCV2, o que vem fornecendo quantidades abundantes de material para pesquisa. Dentre essas infecções, estão incluídas pneumonias, doença de Glässer, salmonelose, colibacilose, artrites, abscessos dentários e infecções purulentas do ouvido médio, sendo esta última doença a motivadora do trabalho aqui descrito. Todos esses achados vão ao encontro do que tem sido descrito na literatura, fornecendo ainda mais evidências do papel imunossupressor que vem sendo proposto para o PCV2.

Seguramente, as infecções bacterianas, virais e fúngicas associadas à SMDS contribuem de forma importante para o definhamento, refugagem e morte dos animais afetados. Na indisponibilidade de vacinas comerciais com eficiência comprovada e na falta da perfeita compreensão da patogenia e epidemiologia da doença, o entendimento das relações entre o PCV2 e agentes secundários é ponto crítico para o desenvolvimento de estratégias que tenham como objetivo minimizar o impacto da SMDS nos rebanhos.

## REFERÊNCIAS

- ALLAN, G. M. MCNEILLY, F.; ELLIS, J.; KRAKOWKA, S.; BOTNER, A.; MCCULLOUGH, K.; NAUVYNCK, H.; KENNEDY, S.; MEEHAN, B., CHARREYRE, C. SMDS: experimental model and co-infections. **Veterinary Microbiology**. v. 98, p. 165-168, 2004.
- BANCHEREAU, J.; STEINMAN, R. M. Dendritic cells and the control of immunity. **Nature**. v. 392, p. 345-352, 1998.
- BANKS, W. J. Olho e ouvido. In: **Histologia Veterinária Aplicada**. 2ª ed. São Paulo: Manole, 1991. cap. 28, p. 589-617.
- BARROW, G.I.; FELTHAM, R.K.A. **Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria**. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999, 331p.
- BLUESTONE, C. D. Pathogenesis of otitis media: role of eustachian tube. **The Pediatric Infectious Disease Journal**. n. 15, n. 4, p. 281-291, 1996.
- BOLIN, S. R.; ALLAN, G. M. Old virus or new virus – in a world of continuous changes. In: Merial (ed.). **SMDS and PCV2 Diseases: Beyond the debate**. Ames: Merial, 2002, p. 33-43. 3<sup>rd</sup> Merial Symposium on SMDS.
- CARRASCO, L.; SEGALÉS, J.; BAUTISTA, M. J.; GOMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; ROSELL, C.; RUIZ-VILLAMOR, E.; SIERRA, M. A. Intestinal chlamydial infection concurrent with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. **The Veterinary Record**. v. 146, n. , p. 21-23, 2000.
- CHAE, C. A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. **The Veterinary Journal**. v. 169, p. 326–336, 2005.
- CHAE, C. Postweaning multisystemic wasting syndrome: a review of aetiology, diagnosis and pathology. **The Veterinary Journal**. v. 168, n. 1, p. 41-49, 2004.
- CIACCI-ZANELLA, J.R.; MORES, N. Diagnosis of post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Brazil caused by porcine circovirus type 2. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 55, n. 5, p. 522-527, 2003.
- COLONNA, M.; KRUG, A.; CELLA, M. Interferon-producing cells: on the front line in immune responses against pathogens. **Current Opinion in Immunology**. v. 14, p. 373–379, 2002.
- CORRÊA, A. M. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; ZLOTOWSKI, P.; ROZZA, D. B.; OLIVEIRA, E. C.; BARCELLOS, D. E.; DRIEMEIER, D. Aspectos clínico-patológicos associados à circovirose suína no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 26, n. 1, p. 9-13, 2006.

DARWICH, L.; SEGALÉS, J.; MATEU, E. Pathogenesis of postweaning multisystemic wasting syndrome caused by *Porcine circovirus 2*: an immune riddle. **Archives of Virology**. v. 149, n. 5, p857-874, 2004.

DESROSIERS, R. Les otites. **Méd. Vet Québec**. v. 15, n. 4, p. 201-202, 1985.

DRIEMEIER, D. Aspectos patológicos da infecção pelo PCV2 no Rio Grande do Sul. In: I Simpósio UFRGS sobre Produção, Reprodução e Sanidade Suína, 2006, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: Comissão Organizadora, 2006. p. 34-45.

DUFF, J. P.; SCOTT, W. A.; WILKES, M. K.; HUNT, B. Otitis in weaned pig: a new pathological role for *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*. **The Veterinary Record**. v. 139, n., p. 561-563, 1996.

ELLIS, J. A.; BRATANICH, A.; CLARK, E. G.; ALLAN, G.; MEEHAN, B.; HAINES, D. M.; HARDING, J.; WEST, K. H.; KRAKOWKA, S.; KONOBY, C.; MARTIN, K.; MCNEILLY, F. Coinfection by porcine circoviruses and porcine parvovirus in pigs naturally acquired postweaning multisystemic wasting syndrome. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 12, p. 21-27, 2000.

FRANCOZ, D.; FECTEAU, G.; DESROCHERS, A.; FORTIN, M. Otitis media in dairy calves: A retrospective study of 15 cases (1987 to 2002). **Canadian Veterinary Journal**. v. 45, n. 8, p. 661-666, 2004.

GANDHI, S. S. Órgãos dos sentidos e tegumento comum do suíno. In: GETTY, R. (ed.). **Anatomia dos animais domésticos**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. v. 2, cap. 47, p. 1320-1332.

GILPIN, D. F.; MCCULLOUGH, K.; MEEHAN, B.M.; MCNEILLY, F.; MCNAIR, I.; STEVENSON, L.S.; FOSTER, J.C.; ELLIS, J.A.; KRAKOWKA, S.; ADAIR B.M.; ALLAN, G. M. In vitro studies on the infection and replication of porcine circovirus type 2 in cells of the porcine immune system. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 94, n. 3-4, p. 149-161, 2003.

GODINHO, H. P.; GETTY, R. Sistema nervoso do suíno. In: GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. v. 2, cap. 46, p. 1274-1319.

GRIERSON, S. S.; KING, D. P.; SANDVIK, T.; HICKS, D.; SPENCER, Y.; DREW, T. W.; BANKS, M. Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK. **Archives of Virology**. v. 149, n. 6, p. 1171-1183, 2004.

HARDING, J. C. S.; CLARK, E. G. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (SMDS). **Swine Health and production**. v. 5, n. 5, p. 201-203, 1997.

HARDING, J. C.; CLARK, E. G.; STROKAPPE, J. H.; WILLSON, P.I.; ELLIS, J. A. Post-weaning multisystemic wasting syndrome: preliminary epidemiology and clinical presentation. **Swine Health and Production**. v. 6, n. , p. 249-254, 1998.

HARLIZIUS, J.; KLUCZNIOK, C.; BOLLWAHN, W. Clinical and Radiological Findings in Middle and Inner Ear Infections. 14<sup>th</sup> IPVS Congress, 1996, Bologna. **Proceedings**. Bologna: Faculty of Veterinary Medicine University of Bologna, 1996. p. 705.

HASSLUNG, F.; WALLGREN, P.; LADEKJÆR-HANSEN, A.-S.; BØTNER, A.; NIELSEN, J.; WATTRANG, E.; ALLAN, G.M.; MCNEILLY, F.; ELLIS, J.; TIMMUSK, S.; BELÁK, K.; SEGALL, T.; MELIN, L.; BERG, M.; FOSSUM, C. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome (SMDS) in pigs in Sweden and Denmark with a Swedish isolate of porcine circovirus type 2. **Veterinary Microbiology**. v. 106, n. 1-2, p. 49-60, 2005.

HIPOLITO, O.; LAMAS, J. M.; GODOY, A. M. Otite média dos suínos. **Arquivos da Escola Superior de Veterinária de Minas Gerais**. v. 11, n. , p. 351-356, 1958.

KIATIPATTANASAKUL-BANLUNARA, W.; TANTILERTCHAROEN, R.; SUZUKI, K.; ALBARENQUE, S.M.; THANAWONGNUWECH, R.; NAKAYAMA, H.; DOI, K. Detection of Porcine Circovirus 2 (PCV2) DNA by nested PCR from formalin-fixed tissues of post-weaning multisystemic wasting syndrome (SMDS) in pigs in Thailand. **Journal of Veterinary Medical Science**. v. 64, n. 5, p. 449-452, 2002.

KIM, J.; CHUNG, H.; JUNG, T.; CHO, W.; CHOI, C.; CHAE, C. Postweaning multisystemic wasting syndrome of pigs in Korea: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. **Journal of Veterinary Medical Science**. v. 64, n. 1, p. 57-62, 2002.

KOLLER, F. L.; BOROWSKI, S. M., ASANOME, W.; HEIM, G.; BARCELLOS, D. E. S. N. Prevalence of periapical abscesses in piglets with porcine multisystemic wasting syndrome. 19<sup>th</sup> IPVS Congress, 2006, Copenhagen. **Proceedings**. Copenhagen: Narayana Press, 2006. v. 2, p. 77.

KRAKOWKA, S.; ELLIS, J. A.; MCNEILLY, F.; RINGLER, S.; RINGS, D. M.; ALLAN, G. Activation of the Immune System is the Pivotal Event in the Production of Wasting Disease in Pigs Infected with Porcine Circovirus-2 (PCV2). **Veterinary Pathology**. v. 38, n. , p. 31-42, 2001.

KRAKOWKA, S.; RINGS, D. M.; ELLIS, J. A.; ALLAN, G. M.; MCNEILLY, F.; MEEHAN, B. M.; MCCULLOUGH, K. C.; BETNER, A.; NAUWYNCK, H. J.; CHARREYRE, C. The pathogenesis of PCV2 infection and SMDS. In: Merial (ed.). **PCV2 Diseases: Intimate relationships between host and pathogen & a close up on Asia**. Seoul: Merial, 2003, p. 9-23. 4<sup>th</sup> Merial Symposium on SMDS.

KYRIAKIS, S. C.; SAOULIDIS, K.; LEKKAS, S.; MILIOTIS, CH. C.; PAPOUTSIS, P. A.; KENNEDY, S. The Effects of Immuno-modulation on the Clinical and Pathological Expression of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome. **Journal of Comparative Pathology**. v. 126, p. 38-46, 2002.

LAVAL, A. SMDS: Worldwide epidemiological review and updated situation in France and United Kingdom. In: Merial (ed.). **SMDS and PCV2 Diseases: From research back to the field again**. Hamburg: Merial, 2004, p. 47-56. 5<sup>th</sup> Merial Symposium on SMDS.

MADEC, F.; EVENO, E.; MORVAN, P.; HAMON, L.; BLANCHARD, P.; CARIOLET, R.; AMENNA, N.; MORVAN, H.; TRUONG, C.; MAHÉ, D.; ALBINA, E.; JESTIN, A. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (SMDS) in pigs in France: clinical observations from follow-up studies on affected farms. **Livestock Production Science**. v. 63, p. 223–233, 2000.

MADSEN, L. W.; SVENSMARK, B.; ELVESTAD, K.; JENSEN, H. E. Otitis interna is a frequent sequela to *Streptococcus suis* meningitis in pigs. **Veterinary Pathology**. v. 38, n. 2, p. 190-195, 2001.

MANDRIOLI, L.; SARLI, G.; PANARESE, S.; BALDONI, S.; MARCATO, P. S. Apoptosis and proliferative activity in lymph node reaction in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 97, p. 25–37, 2004.

MCCULLOUGH, K. C.; VINCENT, I.; SUMMERFIELD, A.; NIELSEN, J.; KRAKOWKA, S.; ELLIS, J. A.; NAUWYNCK, H. J.; CHARREYRE, C.; MCNEILLY, F.; ALLAN, G. M. The Immunology of PCV2 Infections and SMDS. In: Merial (ed.). **PCV2 Diseases: Intimate relationships between host and pathogen & a close up on Asia**. Seoul: Merial, 2003, p. 25-34. 4<sup>th</sup> Merial Symposium on SMDS.

MORI, M. SATO, K.; AKACHI, S.; ASAHI, S.; TANIGUCHI, S.; NARITA, M. Retrospective study of porcine circovirus 2 infection in Japan: seven cases in 1989. **Veterinary Pathology**. v. 37, 667–669, 2000.

MORITA, T.; FUKUDA, H.; AWAKURA, T.; SHIMADA, A.; UMEMURA, T.; KAZAMA, S.; YAGIHASHI, T. Demonstration of *Mycoplasma hyorhinis* as a possible primary pathogen for porcine otitis media. **Veterinary Pathology**. v. 32, n. 2., p. 107-111, 1995.

MORITA, T.; OHIWA, S.; SHIMADA, A.; KAZAMA, S.; YAGIHASHI, T.; UMEMURA, T. Intranasally inoculated *Mycoplasma hyorhinis* causes eustachitis in pigs. **Veterinary Pathology**. v. 36, n. 2, p. 174-178, 1999.

MORITA, T.; SASAKI, A.; KAJI, N.; SHIMADA, A.; KAZAMA, S.; YAGIHASHI, T.; UMEMURA, T. Induction of temporary otitis media in specific-pathogen-free pigs by intratympanic inoculation of *Mycoplasma hyorhinis*. **American Journal of Veterinary Research**. v. 59, n. 7, p. 869-873., 1998.

NOKSO-KOIVISTO, J.; HOVI, T.; PITKÄRANTA, A. Viral upper respiratory tract infections in young children with emphasis on acute otitis media. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**. v. 70, n. 8, p. 1333-1342, 2006.

NOTTAR, E. **Avaliação de causas infecciosas de baixo desenvolvimento em suínos nas fases de recria e terminação.** 2007, 46f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), PPGCV, Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, 2007.

NÚÑES, A.; MCNEILLY, F.; PEREA, A.; SÁNCHEZ-CORDÓN, P. J.; HUERTA, B.; ALLAN, G.; CARRASCO, L. Coinfection by *Cryptosporidium parvum* and Porcine Circovirus Type 2 in Weaned Pigs. **Journal of Veterinary Medicine B.** v. 50, n., p. 255-258, 2003.

OLSON, L. D. Gross and microscopic lesions of middle and inner ear infections in swine. **American Journal of Veterinary Research.** v. 42, n. 8, p. 1433-1440. Aug. 1981.

PALLARÉS, F. J.; HALBUR, P. G.; OPRIESSNIG, T.; SORDEN, S. D. VILLAR, D.; JANKE, B. H.; YAEGER, M. J.; LARSON, D. J.; SCHWARTZ, K. J.; YOON, K. J.; HOFFMAN, L. J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) coinfections in US field cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (SMDS). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.** v. 14, p. 515-519, 2002.

PESCADOR, C.; BARCELLOS, D.E.S.N. Circovirose em suínos. **Suinocultura em foco,** v.3, n.6, p.3, 2003.

PRACY, J. P.; WHITE, A.; MUSTAFA, Y.; SMITH, D.; PERRY, M. E. The comparative anatomy of the pig middle ear cavity : a model for middle ear inflammation in the human? **Journal of Anatomy.** v. 192, n. 3, p. 359-368, 1998.

PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H. **Laboratory Methods in Histotechnology.** Washington D.C.: Armed Forces Institute of Pathology, 1992, 279p.

RODRÍGUEZ-ARRIOJA, G. M.; SEGALÉS, J.; ROSELL, C.; QUINTANA, J.; AYLLÓN, S.; CAMPRODÓN, A.; DOMINGO, M. Aujeszky's disease virus infection concurrent with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. **The Veterinary Record.** v. 144, p. 152-153, 1999.

RODRÍGUEZ-ARRIOJA, G. M.; SEGALÉS, J.; ROSELL, C.; RVIRA, A.; PUJOLS, J.; PLANA-DURÁN, J.; DOMINGO, M. Retrospective study on porcine circovirus type 2 infection in pigs from 1985 to 1997 in Spain. **Journal of Veterinary Medicine Series B.** v. 50, n. 2, p. 99-101, 2003.

ROSELL, C.; SEGALÉS, J.; PLANA-DURÁN, J.; BALASCH, M.; RODRÍGUEZ-ARRIOJA, G. M.; KENNEDY, S.; ALLAN, G. M.; MCNEILLY, F.; LATIMER, K. S.; DOMINGO, M. Pathological, Immunohistochemical, and In-situ Hybridization Studies of Natural Cases of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in Pigs. **Journal of Comparative Pathology.** v. 120, p. 59-78, 1999.

SANCHES, E. M. C. ***Pneumocystis* sp. e Circovírus (PCV2) em pulmões de suínos de abate, procedentes dos estados do Rio Grande do Sul e Mato Grosso e estudo das relações filogenéticas das amostras de *Pneumocystis* sp.** 2006. Tese (Doutorado

em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SEGALÉS, J., ALLAN, G. M. ; DOMINGO, M. Porcine circovirus diseases. **Animal Health Research Reviews**. V. 6, n. 2, p. 119-142, 2005.

SEGALÉS, J.; CALSAMIGLIA, M. ROSELL, C.; SOLER, M.; MALDONADO, J.; MARTÍN, M.; DOMINGO, M. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection status in pigs naturally affected with post weaning multisystemic wasting syndrome (SMDS) in Spain. **Veterinary Microbiology**. v. 85, n. 1, p. 23-30, 2002.

SEGALÉS, J.; CLARK, E. G. Immunostimulation and Immunosuppression: two faces of the same coin. In: Merial (ed.). **SMDS and PCV2 Diseases: Beyond the debate**. Ames: Merial, 2002, p. 33-43. 3<sup>rd</sup> Merial Symposium on SMDS.

SEGALÉS, J.; DOMINGO, M.; CHIANINI, F.; MAJÓ, N.; DOMÍNGUEZ, J.; DARWICH, L.; MATEU, E. Imunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. **Veterinary Microbiology**. v. 98, n. 1, p. 151-158, 2004.

SEGALÉS, J.; DOMINGO, M.; COLLELL, M.; JENSEN, H. E.; BLANCO, J. L. Pulmonary aspergillosis in a postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected pig. **The Pig Journal**. V. 52, n. , p. 41-47, 2003.

SEGALÉS, J.; MATEU, E. Imunosuppression as a feature of postweaning multisystemic wasting syndrome. **The Veterinary Journal**. v. 171, n. 3, p. 396-397, 2006.

SEGALÉS, J.; ROSELL, C.; DOMINGO, M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. **Veterinary Microbiology**. v. 98, n. 2, p. 137-149, 2004.

SEGALÉS, J.; SITJAR, M.; DOMINGO, M.; DEE, S.; DEL POZO, M.; NOVAL, R.; SACRISTAN, C.; DE LAS HERAS, A.; FERRO, A.; LATIMER, K. S. First report of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Spain. **The Veterinary Record**. v. 141, n. p. 600-601, 1997.

SHIMADA, A; ADACHI, T.; UMEMURA, T.; KOHNO, K.; SAKAGUCHI, Y.; ITAKURA, Y. A pathologic and bacteriologic study on otitis media in swine. **Veterinary Pathology**. v. 29, n. 4, p. 337-342, 1992.

SORDEN, S. D. Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (SMDS). **Swine Health and Production**. v. 8, n. 3, p. 136, 2000.

STAEBLER, S.; SYDLER, T.; BUERGI, E.; MCCULLOUGH, K.; MCNEILLY, F.; ALLAN, G.; POSPISCHIL, A. SMDS: an emerging disease identified in archived porcine tissues. **The Veterinary Journal**. v. 170, n. 1, p. 132-134, 2005.

TAYLOR, D. J. Miscellaneous bacterial infections. In: STRAW, B.E.; ALLAIRE, S.D.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**, 8<sup>th</sup> Edn. Ames: Iowa State University Press, p. 613-642, 1999.

VINCENT, I. E.; CARRASCO, C. P.; GUZYLACK-PIRIOU, L.; HERRMANN, B.; MCNEILLY, F.; ALLAN, G. M.; SUMMERFIELD, A.; MCCULLOUGH, K. C. Subset-dependent modulation of dendritic cell activity by PCV2. **Immunology**. v. 115, n.3, p. 388-398, 2005.

VINCENT, I. E.; CARRASCO, C. P.; HERRMANN, B.; MEEHAN, B. M.; ALLAN, G. M.; SUMMERFIELD, A.; MCCULLOUGH, K. C. Dendritic Cells Harbor Infectious Porcine Circovirus Type 2 in the Absence of Apparent Cell Modulation or Replication of the Virus. **Journal of Virology**. 77, n. 24, p. 13288–13300, 2003.

WEST, J. V. Acute upper airway infections. **British Medical Bulletin**. v. 61, n. p. 215–230, 2002.

WINTHER, B.; HAYDEN, F.; ARRUDA, E.; DUTKOWSKI, R.; WARD, P.; HENDLEY, O. Viral respiratory Infection in Schoolchildren: effects on middle air pressure. **Pediatrics**, v. 109, n. 5, p. 826-832, 2002.

ZANELLA, J. R.C. Controle e prevenção da circovirose suína. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2005. **Artigo**. Disponível em <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_artigos/artigos\\_c2u59z5.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_artigos/artigos_c2u59z5.pdf)> Acesso em: 29 de dezembro de 2006.

ZANELLA, J. R.C., MORES, N. Circovirose suína. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2003. **Circular Técnica**. Disponível em <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/cit37.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/cit37.pdf)> Acesso em: 29 de dezembro de 2006.

ZANELLA, J. R.C.; ASCOLI, K.; SIMON, N.; MORÉS, N.; OLIVEIRA, S. R.; KRAMER, B. Identificação no Brasil do Circovírus Suíno tipo 2 (PCV2) em tecidos arquivados em parafina desde 1988. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2004. **Comunicado Técnico**. Disponível em <<http://www.cnpsa.embrapa.br/index.php?ids=Sn6l70p11&idl=&pg=3&tipo=2>> Acesso em: 29 de dezembro de 2006.

ZANELLA, J. R.C.; GAVA, D.; GAVA, A; FELÍCIO, R. P.; MORÉS, N.; OLIVEIRA, S. R.. Novas Manifestações Clínicas da Síndrome da Circovirose Suína: Leitões de Maternidade. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves, 2006. **Comunicado Técnico**. Disponível em <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/publicacao\\_r8v4m2p.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_r8v4m2p.pdf)> Acesso em: 29 de dezembro de 2006.

ZLOTOWSKI, P.; ROZZA, D. B.; PESCADOR, C.A.; BARCELLOS, D. E.; FERREIRO, L.; SANCHES, E. M. C.; DRIEMEIER, D. Muco-cutaneous candidiasis in two pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. **The Veterinary Journal**.v. 171, n. , p. 566-569, 2006.