

IMUNOPROFILAXIA DA PLEUROPNEUMONIA SUÍNA COM VACINA INATIVADA DE *Haemophilus pleuropneumoniae*¹

ITAMAR A. PIFFER², RICARDO A. SONCINI², MARIA APARECIDA V. P. BRITO², JOSÉ RENALDI F. BRITO² e JURIJ SOBESTIANSKY²

ABSTRACT.- Piffer I.A., Soncini R.A., Brito M.A.V.P., Brito J.R.F. & Sobestiansky J. 1985. [Immunoprophylaxis of swine pleuropneumonia with an inactivated vaccine against *Haemophilus pleuropneumoniae*.] Immunoprophylaxia de pleuropneumonia suína com vacina inativada de *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(3):67-72. Centro Nac. Pesq. Suínos e Aves (CNPISA), Embrapa, C. Postal D-3, Concórdia, SC 89700, Brazil.

The effectiveness of a bacterin in the prevention of pleuropneumonia of swine was tested. The bacterin was prepared from a strain of *H. pleuropneumoniae*, serotype 5, and adsorbed to aluminum hydroxide. Six sows were vaccinated at 60 and 100 days of gestation (VS) and seven were not vaccinated (NVS). Piglets born to VS were divided into three treatment groups: unvaccinated; vaccinated at 40 days of age; and vaccinated at 25 and 40 days of age. Those born to the NVS were divided into two groups: unvaccinated and vaccinated at 25 and 40 days of age. On third of the piglets from each treatment groups was challenged with a strain of *H. pleuropneumoniae*, serotype 5, at 70 days of age. In piglets born to VS, respiratory symptoms were observed less frequently, *H. pleuropneumoniae* was found less often in the nasal cavity after challenge, a lower mortality rate was noted, and less severe lesions characteristic of pleuropneumonia were seen than in piglets born to NVS. Piglet vaccination schedules did not interfere with the above mentioned parameters.

INDEX TERMS: Vaccination, *Haemophilus pleuropneumoniae*, swine pleuropneumoniae.

SINOPSE. - Testou-se a eficiência de uma bacterina preparada com *H. pleuropneumoniae*, sorotipo 5, e adsorvida em hidróxido de alumínio, na prevenção de pleuropneumonia suína. Vacinou-se seis matrizes (MV) aos 60 e 100 dias de gestação, e sete não foram vacinadas (MNV). Os leitões originados das MV foram divididos em três tratamentos: não vacinados, vacinados aos 40 dias e aos 25 e 40 dias de idade. Os originados das MNV foram divididos em dois grupos: vacinados aos 25 e 40 dias e não vacinados. Um terço dos leitões de cada tratamento foi inoculado com *H. pleuropneumoniae*, sorotipo 5, aos 70 dias de idade. Leitões originados de MV apresentaram menor ocorrência de sintomas respiratórios, menor presença de *H. pleuropneumoniae* na cavidade nasal após a agressão, menor índice de mortalidade e menor ocorrência de severidade de lesões compatíveis com a pleuropneumonia suína do que aqueles originados de MNV. Os esquemas de vacinação aplicados aos leitões não interferiram nos parâmetros acima mencionados.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Vacinação, *Haemophilus pleuropneumoniae*, pleuropneumonia suína.

INTRODUÇÃO

A pleuropneumonia suína (PPS), causada pelo *Haemophilus pleuropneumoniae* (Hpp), foi diagnosticada recentemente no Brasil (Locatelli et al. 1981). A partir de então, vários surtos foram observados no sul do Brasil, sendo que o sorotipo 5 de Hpp é o prevalente (Piffer et al. 1983).

As perdas econômicas decorrentes da PPS recaem, tanto sobre o produtor, em consequência de perdas de animais, gastos com medicamentos e redução do desenvolvimento corporal, como sobre a indústria, em virtude da condenação de carcaça de animais afetados pela doença. No Brasil, perdas econômicas graves causadas pela PPS foram observadas em sistemas de produção que terminavam leitões obtidos de várias origens, em sistemas contínuos de produção e com unidades terminadoras com capacidade de 600 ou mais animais (Piffer et al. 1982). Em uma destas propriedades, os prejuízos observados por morte de animais e despesas com medicamento, nos três meses correspondentes à fase aguda do surto, representaram perdas equivalentes a 31.681 kg de suínos em condições de abate (Protas et al. 1985).

Nestes sistemas, a vacinação pode ser uma alternativa para auxiliar no controle da doença. Vários autores tem estudado o efeito da vacinação, em diferentes esquemas, para o controle da PPS (Nielsen 1979, Mason et al. 1982, Kielstein et al.

¹ Aceito para publicação em 20 de maio de 1986.

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

1982, Nielsen 1984 e Nakai et al. 1985). Sintetizando-se o trabalho destes autores; pode-se dizer que, a vacinação das matrizes associada com a subsequente vacinação dos leitões (duas ou mais vezes) é essencial para uma boa proteção. Além disso, a vacina deve conter os sorotipos prevalentes em determinada região. Na ausência de vacina disponível no mercado contra o Hpp, no Brasil, objetivamos, neste trabalho, desenvolver e testar uma bacterina produzida com o sorotipo prevalente, adsorvida em hidróxido de alumínio, em diferentes esquemas de vacinação, para o controle da PPS.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais experimentais

Utilizou-se 13 matrizes e suas leitogadas, sendo nove da raça Landrace e quatro da raça Large White. Estas matrizes originaram-se de um rebanho que, até então, não apresentara sinais clínicos de PPS.

Bacterina

Empregou-se uma bacterina produzida com a amostra 463/81 de *H. pleuropneumoniae*, sorotipo 5, isolada de um surto de pleuropneumonia suína, no Estado de Santa Catarina (Piffer et al. 1983). Esta amostra foi cultivada com garrafas de Roux que continham, como substrato para multiplicação, "Trypticase soy agar" acrescido de 5% de extrato de levedura fresco. Após 18 horas de incubação a 37°C, o induto bacteriano foi coletado, com salina, padronizado para conter 10⁹ unidades formadoras de colônia por ml (UFC), inativado com formalina a 0,2% e adsorvido em hidróxido de alumínio.

Delineamento experimental

As matrizes foram divididas em dois grupos: seis vacinadas (MV) e sete não vacinadas (MNV). As MV foram aos 60 e 100 dias de gestação, com a bacterina experimental, via subcutânea, na tábua do pescoço, na dosagem de 4 ml. Os leitões originados de todas as matrizes foram desmamados aos 35 dias de idade.

Após o desmame de todos os leitões, formou-se os tratamentos. Cada leitogada de MV foi dividida, aleatoriamente, em três tratamentos; A, B e C, e cada leitogada de MNV foi dividida, aleatoriamente, em dois tratamentos; D e E.

- Tratamento A - 18 leitões não vacinados;
- Tratamento B - 18 leitões vacinados aos 25 e 40 dias de idade;
- Tratamento C - 15 leitões vacinados aos 40 dias de idade;
- Tratamento D - 32 leitões vacinados aos 25 e 40 dias de idade;
- Tratamento E - 28 leitões não vacinados.

A vacinação nos leitões foi subcutânea, na dobra da virilha, na dosagem de 2 ml.

Os animais de cada tratamento foram alojados em uma única baia e cada animal contou com o mesmo espaço físico e espaço em comedouros e bebedouros.

Todos os tratamentos eram contíguos, separados por partições sólidas de madeira, onde os animais foram inoculados e os sobreviventes permaneceram até o abate, aos 150 dias de idade.

Inoculação

Aos 70 dias de idade, 1/3 dos leitões de cada tratamento foi inoculado, com 1 ml, em cada narina, com um cultivo de 6 horas de incubação a 37°C da amostra 463/81 em "Trypticase soy broth" com 5% de extrato de levedura fresco. O inóculo continha 3 x 10⁷ UFC/ml.

Exame clínico

A cada três dias, os animais eram movimentados, duas vezes por dia, durante dois minutos, registrando-se o percentual de animais que apresentavam sintomatologia respiratória.

Exame sorológico

Soro de todas as matrizes foi coletado antes da vacinação. Dois leitões, coletou-se no terceiro e décimo quinto dia de vida e, a seguir, quinzenalmente, até os 150 dias de idade. Estes soros foram estocados a -20°C, até o momento de submetê-los ao teste de soroaglutinação.

O teste de soroaglutinação com 2-mercaptoetanol em microplacas (Cooke Engineering Co. Alexandria Va) foi conduzido de acordo com os procedimentos descritos por Piffer et al. (1985). Um animal foi considerado positivo quando apresentava títulos iguais ou superiores a 1:8.

Exame bacteriológico

Processaram-se exames semanais das secreções nasais de todos os leitões e de secreções traqueais de fragmentos de pulmões e outros órgãos afetados dos animais que morreram após a inoculação e dos sobreviventes acompanhados ao abate. As secreções nasais e traqueais foram coletadas através de "swabs". Tanto os "swabs" como os fragmentos de pulmões foram semeados em meio de ágar com 5% de sangue de carneiro desfibrinado (AS) e em ágar MacConkey (MC). Perpendicularmente à semeadura em AS, cultivou-se, em uma linha contínua, uma amostra de *Staphylococcus aureus*. As placas de AS foram incubadas a 37°C por 24 horas e as de MC por 48 horas. Os fragmentos de pulmão foram semeados através do contato direto dos mesmos com a superfície dos meios, e porções destes fragmentos foram congelados a -20°C, para posterior tentativa de isolamento pela técnica de diluições (Little & Harding 1980), quando os resultados eram negativos pelo cultivo direto. Colônias β hemolíticas, que apresentaram satelitismo e efeito CAMP a *S. aureus* e formadas por cocobacilos Gram negativos, foram consideradas como de *H. pleuropneumoniae*.

Exame morfofpatológico

Todos os animais que morreram durante o experimento e aqueles sobreviventes e acompanhados ao matadouro tiveram seus pulmões e pleuras examinados, registrando-se a ocorrência de congestão e hepatização pulmonar, bem como aquelas lesões características de infecção por *H. pleuropneumoniae*. As lesões de pleurisia parietal, observadas ao abate, foram classificadas de acordo com o percentual de cada pleura afetada. Um escore total de severidade de pleurisia foi obtido pela soma dos escores parciais de ambas as pleuras. A graduação das lesões foi a seguinte: 0 = sem lesões, 0,5 = 0,1 a 1 cm; 1 = 3 até 25%; 2 = de 26 a 50%; 3 = 51 a 75% e 4 = de 76 a 100% de pleura afetada.

Exame histopatológico

Coletou-se fragmentos de todas as lesões pulmonares e, também fragmentos sempre do mesmo local, daqueles lobos que não apresentaram lesões. Estes fragmentos foram fixados em formol a 10%, embebidos em parafina e, em cortes histológicos, corados pela hematoxilina-eosina.

Análise estatística

Os tratamentos foram comparados entre si, pelo teste de qui-quadrado, com respeito à taxa de mortalidade, ocorrência de *H. pleuropneumoniae* nas cavidades nasais após a agressão, ocorrência e severidade das lesões compatíveis com a pleuropneumonia suína.

RESULTADOS

Sintomas clínicos

Respiração pouco profunda e acelerada foram os primeiros sinais clínicos observados após a agressão (AA). Estes sintomas ocorreram com maior frequência entre leitões oriundos de MNV do que entre aqueles originados de MV. Observou-se, ainda, que, nos leitões oriundos de MV, este quadro respiratório restringiu-se aos primeiros quatro dias após AA, mas que, entre os leitões originados da MNV, o mesmo persistiu por 41 dias.

Quadro 1. Ocorrência de *Haemophilus pleuropneumoniae*, nas fossas nasais dos leitões, após a agressão

Semanas após a agressão	Leitões oriundos de matrizes vacinadas				Leitões oriundos de matrizes não vacinadas		
	Não vacinados A(a)	Vacinados 25 e 40 dias B	Vacinados 40 dias C	Total*	Vacinados 25 e 40 dias D	Não vacinados E	Total
1	2/18(b)	2/19	0/15	4/52	12/28	11/29	23/56
2	1/18	3/18	1/15	5/51	1/24	3/27	4/49
3	2/18	4/18	1/15	7/51	1/24	2/26	3/49
4	0/18	2/18	0/15	2/51	0/24	0/26	0/49
5	0/18	1/18	0/15	1/51	0/24	0/26	0/49
6 - 8	0/18	0/17	0/15	0/50	0/24	0/25	0/49
9	0/18	1/17	0/14	1/49	0/24	0/25	0/49

(a) Em relação à primeira semana, os tratamentos A e B diferem de D e E ($t' < 0.05$) e C difere de D e E ($P < 0.005$);

(b) Número de leitões positivos sobre número de leitões observados.

* A ocorrência de Hpp nas cavidades nasais de leitões originados de MV após uma semana de agressão, é menor do que naquelas originados de MNV ($P < 0.005$).

Tosse, também, foi observada. Nos leitões das MV, a mesma começou a se manifestar a partir de 38 dias AA, enquanto que nos leitões originados das MNV este sintoma iniciou-se cinco dias após a inoculação e com maior frequência. A medida que os animais aproximavam-se da idade de abate, a frequência de tosse tendeu a equiparar-se entre os tratamentos.

Persistência de *H. pleuropneumoniae* nas fossas nasais após a agressão

No Quadro 1, sumariza-se a ocorrência de *H. pleuropneumoniae* na cavidade nasal AA.

Observa-se que o agente etiológico foi isolado da cavidade nasal até a terceira semana AA, exceto no Tratamento B, em que o mesmo persistiu, em um leitão, até a nona semana.

A ocorrência de *H. pleuropneumoniae*, entre os tratamentos, diferiu apenas na primeira semana AA. Os Tratamentos A, B e C diferiram de D e E ($P < 0,05$), enquanto que os Tratamentos A, B e C não diferiram entre si, e D não diferiu de E ($P > 0,05$).

Avaliação morfológica e bacteriológica dos leitões que morreram durante o experimento

Durante o experimento, morreram 16 leitões, sendo 13 pela pleuropneumonia. Destes 13 animais, todos (100%) apresentaram pleuropneumonia fibrinosa bilateral, dez (77%) pericardite e quatro (31%) peritonite. Além disso, hepatização pulmonar foi observada em todos os animais. Os exames histopatológicos confirmaram os achados macroscópicos. Observou-se, principalmente, pleuropneumonia fibrinosa e fibrinonecrótica.

No Quadro 2, registra-se a frequência de mortalidade observada entre os tratamentos. A mortalidade, no Tratamento B e C, ocorreu, respectivamente, 46 e 63 dias após a inoculação. No Tratamento D, a mesma ocorreu com uma amplitude de 2 a 10 dias, tendo por média 6 dias. No Tratamento E, a ocorrência média da mortalidade foi no sexto dia, com uma amplitude de 01 a 14 dias AA. O índice de mortalidade entre os leitões de MV foi significativamente menor do que aquele observado entre leitões originados de MNV ($P < 0,03$). Por outro lado, os Tratamentos A e B diferem de D, respectivamente, com níveis de significância de $P < 0,05$ e $P < 0,10$.

Lesões pneumônicas características de pneumonia micoplásmica dos suínos também foram observadas. No exame bacteriológico, *H. pleuropneumoniae* foi isolado da cavidade nasal em 11/11 (100%), do pulmão de 13/13 (100%), da pleura

Quadro 2. Ocorrência de mortalidade por *Haemophilus pleuropneumoniae*, após a agressão

Número de animais	Leitões oriundos de matrizes vacinadas				Leitões oriundos de matrizes não vacinadas		
	Não vacinados A	Vacinados 25 e 40 dias B	Vacinados 40 dias C	Total*	Vacinados 25 e 40 dias D(a)	Não vacinados E	Total
Mortos	0	1	1	2	8	3	11
Vivos	18	17	14	49	24	25	49
Total	18	18	15	51	32	28	60

(a) O Tratamento D difere de A ($P < 0,05$) e de B ($P < 0,10$).

* O índice de mortalidade entre leitões de MV foi menor do que aquele observado entre leitões de MNV ($P < 0,03$).

Quadro 3. Distribuição dos leitões, em categorias de número de lobos pulmonares afetados com pleurisia, observados ao abate

Categoria de número de lobos afetados c/pleurisia	Leitões oriundos de matrizes vacinadas				Leitões oriundos de matrizes não vacinadas		
	Não vacinados A(a)	Vacinados 25 e 40 dias B	Vacinados 40 dias C	Total*	Vacinados 25 e 40 dias D	Não vacinados E	Total*
0	13	10	9	32	9	6	15
1 - 2	4	6	4	14	8	12	20
3 - 7	1	1	1	3	7	7	14
Total	18	17	14	49	24	25	49

(a) Tratamentos A, B e C não diferem entre si ($P > 0,05$) mas todos diferem de E ($P < 0,01$).

* A distribuição de leitões, nas categorias de número de lobos afetados com pleurisia, oriundos de MV difere daquela de MNV ($P < 0,001$).

Quadro 4. Distribuição de leitões, em categorias de severidade de pleurisia parietal, observados ao abate

Categoria de severidade de lesões	Leitões oriundos de matrizes vacinadas				Leitões oriundos de matrizes não vacinadas		
	Não vacinados A(a)	Vacinados 25 e 40 dias B	Vacinados 40 dias C	Total*	Vacinados 25 e 40 dias D(b)	Não vacinados E	Total*
0	10	9	7	26	9	7	16
0,5	3	2	5	10	4	3	7
1	4	3	0	7	4	2	6
1,5 - 2	0	1	1	2	3	8	11
2,5 - 6	1	2	1	4	4	5	9
Total	18	17	14	49	24	25	49

(a) Tratamentos A, B e C não diferem entre si ($P > 0,05$) mas A difere de E ($P < 0,05$).

(b) Tratamento D não difere de E ($P > 0,05$).

* A distribuição de leitões, nas categorias de pleurisias, oriundas de MV difere daquela de MNV ($P < 0,05$).

12/13 (92%), do saco pericárdico de 8/10 (80%) e do peritônio de 4/10 (40%) dos animais que morreram pela doença.

Avaliação morfológica e bacteriológica dos leitões sobreviventes e examinados ao abate

No Quadro 3, registra-se a ocorrência de pleurisia lobar. Observa-se que o número de lobos pulmonares afetados com pleurisia foi menor entre leitões originados de MV do que naqueles oriundos de MNV ($P < 0,001$). Os Tratamentos A, B e C não diferiram entre si, e o D não diferiu de E ($P > 0,05$). No Quadro 4, registra-se a severidade da pleurisia parietal. Esta foi menor entre leitões originados de MV do que naqueles originados MNV ($P < 0,05$). Os tratamentos A, B e C não diferiram entre si ($P < 0,05$), mas o Tratamento A diferiu de E ($P < 0,05$) e este não diferiu de D ($P > 0,05$).

Lesões microscópicas de pleurisia e fibrose pulmonar, embora não patognomônicas, foram relacionadas com lesões crônicas de pleuropneumonia. Leitões oriundos de MV e que não foram vacinados (Tratamento A) apresentaram menor ocorrência destas lesões ($P < 0,025$) do que aquelas oriundas de MNV e que não foram vacinados (Tratamento E). Além disso, leitões

originados de MV apresentaram uma menor ocorrência desta patologia ($P < 0,05$).

Lesões de hepatização pulmonar, com característica de pneumonia enzoótica, foram observadas em 78% dos animais, distribuídos em todos os tratamentos.

No exame bacteriológico das secreções nasais, traquiais e de fragmentos de pulmões, não se isolou, em nenhuma oportunidade, *H. pleuropneumoniae*.

Sorologia

Não foram detectadas aglutininas resistentes ao 2-mercaptopetanol no soro das matrizes, antes de se iniciar o experimento, e também nos soros dos leitões, coletados no 3º, 15º e 30º dia de vida. Antes da agressão, soroconversão foi observada somente em alguns leitões após a vacinação: 44%, 46% e 58%, respectivamente para os Tratamentos B, C e D. Vinte dias após a agressão, 90% dos leitões originados das MV e 100% daqueles originados de MNV apresentaram títulos aglutinantes. Entre os leitões originados de MV, os títulos mais frequentes situaram-se entre 1:8 a 1:32, enquanto que entre aqueles das MNV o mesmo situou-se entre 1:16 e 1:64. Aos 150 dias de idade,

68% dos leitões originados de MV e 67% dos leitões das MNV apresentaram títulos que situavam entre 1:8 e 1:16.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que os leitões originados de matrizes vacinadas e agredidas aos 70 dias de idade apresentaram uma menor ocorrência de sintomas respiratórios associados à pleuropneumonia suína, um menor índice de mortalidade, menor ocorrência e severidade de pleurisia observada ao abate e menor ocorrência de *H. pleuropneumoniae* na cavidade nasal após a agressão, do que leitões originados de MNV. Porém, a vacinação, tanto das matrizes como dos leitões, não impediu a ocorrência de sinais clínicos, lesões e persistência da infecção. Esta persistência foi detectada pelo isolamento de *H. pleuropneumoniae* em um animal do Grupo B, na cavidade nasal, nove semanas após a inoculação. Ao abate, não se isolou, em nenhuma oportunidade o agente, sugerindo que a infecção tenha sido eliminada. Esta hipótese é corroborada pelo fato de que os títulos aglutinantes tenham se reduzido no transcurso do experimento, bem como o número de reatores positivos.

A ausência de efetividade observada entre os esquemas de vacinação testados nos leitões, originados de ambos os grupos de matrizes, e as diferenças observadas nos parâmetros avaliados entre leitões originados de MNV e MV indicaram que a imunidade passiva é de suma importância, para proteger leitões, até uma certa idade (no mínimo, entre 70 e 90 dias). Este fato é suportado pelas observações de Nielsen (1975), que foi incapaz de induzir doença clínica em leitões com idade entre três e oito semanas, originados de porcas imunes, e pelas observações epidemiológicas que indicam maior susceptibilidade à pleuropneumonia suína entre a 10ª e 14ª semana de vida (Mylrea et al. 1974, Davidson & King 1980 e Saunders et al. 1981). Evidência adicional, para a importância da imunidade passiva, reside no fato de que a mortalidade causada por *H. pleuropneumoniae*, entre os leitões originados de MV, ocorreu após a 16ª semana de vida, enquanto que, entre os leitões das MNV, a mesma ocorreu logo após a agressão. A importância da imunidade passiva no controle da pleuropneumonia também foi observada por Kielstein et al. (1982) e Mason et al. (1982). Estes autores conseguiram melhores resultados no controle de pleuropneumonia suína quando vacinaram, além dos leitões, os reprodutores. Kielstein et al. (1982) observaram que a vacinação apenas dos leitões era insuficiente. Neste experimento, observou-se resultados similares, uma vez que, em todos os parâmetros considerados, os Tratamentos D e E não diferiram entre si. Este achado contrasta com aqueles de Higgins et al. (1985) que encontraram proteção na utilização de vacinas apenas em leitões.

Os leitões originados do Tratamento B e D foram submetidos ao mesmo regime de vacinação. A única diferença residiu no fato de que os leitões do Grupo B originaram-se de MV e os da D, de MNV. Aqui, novamente, os resultados mostraram a importância da vacinação das matrizes, uma vez que os animais do Grupo B apresentaram uma ocorrência menor de *H. pleuropneumoniae*, na cavidade nasal, após uma semana de inoculação e menor índice de mortalidade. A menor ocorrência de *H.*

pleuropneumoniae na cavidade nasal, entre leitões originados de MV, sugere que uma imunidade passiva adequada pode reduzir a pressão infectiva ambiental, com a concomitante menor ocorrência de infecção e doença.

A falta de diferença entre os Tratamentos A, B e C sugere, também, que a imunidade passiva possa estar inibindo a expressão de uma imunidade ativa (Tizard 1977). Assim, estudos são necessários para estabelecer até quando a imunidade passiva persiste, para poder se estabelecer um esquema racional de vacinação dos leitões, associado com a vacinação das matrizes.

Os resultados sorológicos indicaram que os animais antes da agressão não haviam sofrido infecção por *H. pleuropneumoniae* sorotipo 5, e que a vacinação induz à produção de anticorpos.

Conclui-se, por este trabalho, que a vacinação das matrizes é essencial para proteger os leitões no período inicial de suas vidas e que os esquemas de vacinações, aqui aplicados aos leitões, não melhoram o nível de proteção conferido pela vacinação das matrizes apenas.

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

REFERÊNCIAS

- Davidson J.N. & King J.M. 1980. An outbreak of *Haemophilus parahaemolyticus* pneumonia in growing pigs. *Cornell Vet.* 70(4): 360-364.
- Higgins R., Larivière S., Mittal K.R., Martineau C.P., Rausseau P. & Cameron J. 1985. Evaluation of a killed vaccine against porcine pleuropneumoniae due to *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Can. Vet. J.* 26: 86-89.
- Kielstein P., Scholl W., Mirlé P., Michael M., Boesler M., Liesegang M. & Grünert G. 1982. Untersuchungen zur Wirksamkeit einer inaktivierten *Haemophilus-pleuromoniae* - Adsorbat-Vakzine in Schweinebeständen. *Monatsh. Vet. Med.* 37: 126-132.
- Little T.W.A. & Harding J.D.J. 1980. Interaction of *Haemophilus parahaemolyticus* and *Pasteurella multocida* in the respiratory tract of the pig. *Br. Vet. J.* 136(4): 371-383.
- Locatelli J.C., Machado A. & Silva A.S. 1981. Ocorrência de pleuropneumonia suína devido a *Haemophilus pleuropneumoniae*, p. 203. In: Anais do 2º Ciclo de Atualização em Medicina Veterinária, Lages. (Resumo)
- Mason R.W., McKay R.W. & Corbould A. 1982. Field testing of a killed *Haemophilus parahaemolyticus* vaccine in pigs. *Aust. Vet. J.* 58(3): 108-110.
- Mylrea P.J., Fraser G., MacQuenn P. & Lambourne D.A. 1974. Pleuropneumonia in pigs caused by *Haemophilus parahaemolyticus*. *Aust. Vet. J.* 50(6): 255-259.
- Nakai T., Sawata A. & Kume K. 1985. Duration of the complement-fixation antibodies induced in pigs by *Haemophilus pleuropneumoniae* vaccine. *Jap. J. Vet. Sci.* 47: 503-506.
- Nielsen R. 1975. Colostral transfer of immunity to *Haemophilus parahaemolyticus* in pigs. *Nord. Veterinaermed.* 27(6): 319-328.
- Nielsen R. 1979. *Haemophilus parahaemolyticus* serotypes pathogenicity and cross immuninity. *Nord. Vet. Med.* 31: 407-417.
- Nielsen R. 1984. *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes. Cross protection experiments. *Nord. Vet. Med.* 36: 221-234.
- Piffer I.A., Brito M.A.V.P., Sobestiansky J. & Wentz I. 1982. Pleuropneumonia suína. I. Alguns aspectos epidemiológicos da doença em nosso meio, p. 45. In: Anais 18º Congr. Bras. Med. Vet., Camboriú, SC.
- Piffer I.A., Brito M.A.V.P., Brito J.R.F. & Barcellos D.E.S.N. 1983. Sorotipos de *Haemophilus pleuropneumoniae* isolados de suínos em Santa Catarina e Rio Grande do Sul, p. 239-260. In: Anais do 2º

- Simpósio do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves, 2º Simpósio Catarinense de Sanidade, Concórdia, SC.
- Piffer I.A., Botovchenco A. & Mores N. 1985. Teste de soroaglutinação em microtitulação com 2-mercaptoetanol para o diagnóstico de infecção por *Haemophilus pleuropneumoniae*, p. 99-100. In: Anais do 1º Congresso Latino de Veterinários Especialistas em Suínos, Rio de Janeiro.
- Protas J.F. da S., Sobestiansky J., Wentz I. & Piffer I.A. 1985. Custo de um surto de pleuropneumonia suína. *Pesq. Agropec. Bras.* 20: 241-244.
- Saunders J.R., Orborne A.D. & Sebunya T.K. 1981. Pneumonia in Saskatchewan swine: abottair incidence of intrathoracic lesions in pigs from a herd infected with *Haemophilus pleuropneumoniae* and from other herds. *Can. Vet. J.* 22(8): 244-247.
- Tizard I.R. 1977. An introduction to veterinary immunology. W.B. Saunders, Philadelphia.