

# Markery zjadliwości *Streptococcus suis*

IWONA MARKOWSKA-DANIEL, ANNA SZCZOTKA

Zakład Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Markowska-Daniel I., Szczotka A.

## Virulence markers of *Streptococcus suis*

### Summary

*Streptococcus suis* (*S. suis*) is one of the most important pathogens in modern swine production systems. In Europe serotype 2 strains are most frequently isolated from organs of diseased pigs and highly pathogenic as well as avirulent bacteria occur among them. Strains of serotype 2 *S. suis* served as a model to identify virulence markers. Capsular polysaccharide (CP), muramidase released protein (MRP), extracellular factor (EF), hemolysin (sulysin) as well as adhesins, especially fibronectin and fibrinogen binding proteins (FBPS) were found to be the most commonly related to virulence.

Studies with isogenic uncapsulated mutants proved that this capsule is important to prevent the phagocytosis of bacteria. Despite this, most avirulent strains also possess this capsule. It was documented in the experimental challenge with strains expressing different kinds of MRP and EF that they are not indispensable for inducing disease in pigs. Sulysin produces a cytopathogenic effect and can induce proinflammatory cytokines. Adhesion is considered to be the most important element of PBMEC invasion, and the presence of adhesins was identified in both virulent and avirulent strains of *S. suis*. The gene encoding FBPS was identified in most strains of serotype 2. The study proved that this protein is not necessary for colonizing tonsils but its expression *in vivo* is important for colonizing internal organs, including CNS. So far no universal marker has been identified as being present in all virulent *S. suis* strains.

**Keywords:** swine, *Streptococcus suis*, virulence markers

*Streptococcus suis* (*S. suis*) jest jednym z najważniejszych patogenów występujących we współczesnych systemach produkcji trzody chlewnej, zarówno w Polsce, jak i na świecie (1, 2, 10, 21). Od chwili pojawienia się pierwszego raportu, donoszącego o wystąpieniu zakażeń tym drobnoustrojem w Holandii, streptokokozę opisywana jest we wszystkich krajach, w których produkcja świń stanowi istotny element gospodarki (11, 15, 21, 36). W ciągu ostatnich 10 lat obserwuje się gwałtowny wzrost zachorowań z objawami typowymi dla tej choroby. Zwiększył się także odsetek nosicielstwa *S. suis*, który 20 lat temu wynosił w Holandii 32-55%, podczas gdy obecnie, zarówno w Europie, jak i Ameryce Północnej, szacowany jest na 90-100% (15, 20).

Paciorkowce występują ubikwitalnie u człowieka oraz u wszystkich gatunków zwierząt. Największe znaczenie dla zdrowia świń ma *S. suis* (2, 10, 11, 21, 36). Naturalnym miejscem jego bytowania jest górny odcinek dróg oddechowych, głównie migdałki i zatoki nosowe, a ponadto układ rozrodczy i przewód pokarmowy. Należy podkreślić, że obecność paciorkowców w organizmie nie jest jednoznaczna z wystąpieniem klinicznej postaci infekcji (1, 2). Zakażenia wywoływane przez ten patogen, przebiegające z objawami: zapalenia opon mózgowych, stawów, wsierdza, płuc czy posocznicy, rozpoznawane są zarówno w chlewniach tradycyjnych, jak i w nowoczesnych fermach wielkotowarowych (2, 11, 21, 36).

Opisano 35 typów (serotypów) otoczkowych *S. suis* (13, 15, 20, 23). Szczepy chorobotwórcze tego drobnoustroju należą do różnych serotypów oraz wykazują różnicowane właściwości biologiczne. Dotychczas nie sprecyzowano jednoznacznie, które z nich odgrywają istotną rolę w patogenezie choroby. Od około 70% chorych zwierząt w większości krajach europejskich, w tym także w Polsce, izoluje się przede wszystkim serotyp otoczkowy 2 (12, 14), aczkolwiek w Belgii, Holandii i Niemczech najbardziej powszechne są serotypy 9 i 2 (36), a w Wielkiej Brytanii serotypy 1 oraz 14 (14). W Ameryce Północnej często izolowane są szczepy charakteryzujące się serotypami od 1 do 9 (11, 23). Przypuszcza się, że szczepy serotypu 2 *S. suis* w Europie i w Ameryce Północnej wykazują różną zjadliwość (11). Warto dodać, że występowanie danego serotypu zmienia się w czasie, np. odsetek szczepów należących do typu 2 izolowanych w Kanadzie zmniejszył się na przestrzeni lat 1993-2000 z 22 do 15% (15). Należy podkreślić, że niekiedy rzadziej występujące serotypy, takie jak np. serotyp 14, mogą powodować ciężki kliniczny przebieg infekcji, co miało miejsce w Wielkiej Brytanii (14).

*S. suis* zasługuje na uwagę także jako czynnik chorobotwórczy dla ludzi. Udowodniono, że zakażenia tym patogenem mogą przenosić się bezpośrednio ze świni na człowieka (2). Przypadki kliniczne u ludzi mają zazwyczaj ciężki przebieg, notowano również zejścia śmiertelne. Szczególnie groźne dla zdrowia człowieka jest paciorkowcowe zapalenie mózgu i wsierdza (12). Grupę ryzyka stanowią hodowcy trzody chlewnej, pracownicy rzeźni oraz lekarze weterynarii. Warto podkreślić, że

*S. suis* zasługuje na uwagę także jako czynnik chorobotwórczy dla ludzi. Udowodniono, że zakażenia tym patogenem mogą przenosić się bezpośrednio ze świni na człowieka (2). Przypadki kliniczne u ludzi mają zazwyczaj ciężki przebieg, notowano również zejścia śmiertelne. Szczególnie groźne dla zdrowia człowieka jest paciorkowcowe zapalenie mózgu i wsierdza (12). Grupę ryzyka stanowią hodowcy trzody chlewnej, pracownicy rzeźni oraz lekarze weterynarii. Warto podkreślić, że

większość przypadków klinicznych streptokokozy u ludzi wywołana jest przez serotyp 2 *S. suis* (2, 12). Ponieważ zarówno ten typ, jak i pozostałe serotypy izolowane z ognisk chorobowych, można uzyskać także od klinicznie zdrowych osobników, niezbędna jest identyfikacja markerów zjadliwości. Wiedza na ten temat jest ograniczona. Badania mające na celu identyfikację czynników warunkujących zjadliwość szczepów *S. suis* prowadzono w wielu laboratoriach na modelu serotypu 2 (3, 10, 20, 24, 35, 36). Mimo, iż termin „zjadliwość” nadal nie został w pełni sprecyzowany w odniesieniu do tego drobnoustroju, uważa się, że w obrębie serotypu 2 występują zarówno szczepy zjadliwe, jak i niepatogenne, a do najbardziej prawdopodobnych markerów wirulencji zalicza się: polisacharyd otoczkowy (CPS – capsular polysaccharide), białko uwalniane przez muramidazę (MRP – muramidase released protein), czynnik pozakomórkowy (EF – extracellular factor), hemolizynę (suilizynę) oraz adhezyny, w tym głównie białko wiążące fibronektynę i fibrynogen (FBPS – fibronectin and fibrinogen binding protein).

### Polisacharyd otoczkowy

Polisacharyd otoczkowy serotypu 2 *S. suis* zbudowany jest z 5 cukrów i kwasu sialowego (N-acetylonauraminowego) (5). Umożliwia on podział *S. suis* na serotypy. Przeciwciała produkowane przeciwko związkowi tworzącemu otoczkę częściowo zabezpieczają przed zakażeniem, a zwierzęta, które przechorowały streptokokozę, wytwarzają je na nieznacznym poziomie. Badania z zastosowaniem mutantów izogenicznych pozbawionych otoczki dowiodły, że nie były one zdolne do wywołania infekcji w badaniach na modelu mysim i świńskim (25). Substancja ta należy do głównych czynników zjadliwości, ponieważ zapobiega fagocytozie bakterii w makrofagach poprzez osłabienie indukcji i aktywacji kinaz zaangażowanych w ten proces (28). Mimo to większość szczepów niezjadliwych także posiada otoczkę. Dodatkowo wykazano, że zarówno szczepy zjadliwe, jak niezjadliwe mają otoczkę o porównywalnej koncentracji kwasu sialowego (5). Wskazuje to jednoznacznie na istnienie także innych czynników wirulencji.

### Białka MRP i EF

Pierwotnie kluczową rolę w zjadliwości szczepów *S. suis* przypisywano białkom MRP i EF (20, 33). Białka te występują w kilku odmianach. Klasyczne szczepy zjadliwe, oznaczane jako MRP+EF+, posiadają MRP o masie 136 kDa oraz EF o masie 110 kDa (26). Szczepy o takim fenotypie izolowano często z narządów chorych świń (19).

Z migdałków pochodzących od zdrowych świń generalnie izoluje się szczepy nie posiadające żadnego z tych białek (MRP-EF-) (3), niemniej jednak aż 26% klinicznie zdrowych nosicieli *S. suis* typu 2 w Hiszpanii posiadało fenotyp MRP+EF+ (19).

Odkryto również szczepy produkujące warianty MRP i EF o większej (MRP\*, EF\*) lub w przypadku MRP o mniejszej masie molekularnej (MRP<sup>s</sup>), w porównaniu z klasycznymi formami tych białek (26). Dowiedziono, że aminowe końce łańcuchów białek EF i EF\* są niemal

identyczne, natomiast końce karboksylowe białek EF\* zawierają kilka powtarzających się sekwencji aminokwasowych, nieobecnych w białku EF.

Szczepy o fenotypie MRP+EF\* powodowały w warunkach doświadczalnych wystąpienie objawów klinicznych o niewielkim natężeniu (30). Izolowano je stosunkowo rzadko z narządów chorych świń bądź z migdałków zdrowych zwierząt, a także od człowieka. Z tego powodu identyfikacja tych czynników jest istotna w odniesieniu do diagnostyki zakażeń wywoływanych przez *S. suis* u ludzi. Z przypadków chorobowych u ludzi izolowano również szczepy MRP+EF- (26, 34), które po zakażeniu eksperymentalnym nie wywoływały objawów chorobowych u świń (12). Powyższe dane sugerują, że szczepy apatogenne nie wytwarzają EF, ewentualnie syntetyzują wariant EF\*. Hipotezę tę potwierdziły badania Wisselinka i wsp. (36), którzy badając szczepy serotypu 7 i 9 *S. suis* pochodzące z 7 krajów europejskich nie wykryli produkcji tego białka.

Białka MRP i EF uznano za czynniki ściśle związane z izolatami charakteryzującymi się wysoką zjadliwością w Europie (33). Szacuje się, że 55% szczepów europejskich, szczególnie należących do serotypu 2, 1, ½ i 14 reprezentuje fenotyp MRP+EF+ (30). Nie warunkują one jednak zjadliwości bezpośrednio, co udowodniono stosując technologię „gene knockout”, umożliwiającą kontrolowane wyłączanie wybranych genów (13). Ponadto większość zjadliwych szczepów izolowanych w Ameryce Północnej, odmiennie niż w Europie, nie wytwarza białek MRP i EF. W przypadku izolatów z obszaru USA obecnością wspomnianego fenotypu charakteryzowało się jedynie 8% szczepów (11), a spośród 101 badanych izolatów kanadyjskich posiadał go jedynie 1 szczep, podczas gdy aż 72% szczepów charakteryzowało się fenotypem MRP-EF-, 15% fenotypem MRP+EF-, a 3 izolaty z tej stawki posiadały fenotyp MRP\*EF-. Sugeruje to, że szczepy kanadyjskie nie produkują omawianych białek (11).

Eksperymentalne zakażenie świń drogą donosową lub dożylną, szczepami MRP+EF+, MRP+EF- oraz MRP-EF-, indukowało u zwierząt odmienne objawy (34). Po zakażeniu szczepami MRP+EF+ dochodziło do wystąpienia choroby u 100% zwierząt. Obserwowano typowe objawy nerwowe, jak: ataksja, ruchy maneżowe, opistotonus oraz kulawiznę, zapalenie stawów i błon surowiczych. Badanie histopatologiczne wykazało w tych przypadkach rozległe nacieczenie komórkami jednojądrzastymi opony miękkiej w okolicy mózgu, mózdzku, śródmózgowia, mostu i rdzenia przedłużonego. Fenotyp MRP+EF- wiązano z wystąpieniem niespecyficznych objawów ogólnych, natomiast w przypadku zakażenia szczepami MRP-EF- nie zauważano symptomów klinicznych ani zmian sekcyjnych, z wyjątkiem tkanki płucnej (33). Wymienieni autorzy nie wykazali korelacji pomiędzy drogą inokulacji a nasileniem zmian klinicznych czy anatomopatologicznych. Sugeruje to, że białko EF nie odgrywa kluczowej roli w mechanizmie inwazji, niemniej jednak uważa się je za ważniejszy determinant zjadliwości niż MRP, gdyż po zakażeniu szczepami o fenotypie MRP+EF+ notuje się najcięższe objawy kliniczne.

Dalsze badania dotyczące związku białek MRP i EF ze zjadliwością, z zastosowaniem mutantów izogenicz-



nych serotypu 2 *S. suis*, podały w wątpliwość powyższe założenia (27). W doświadczeniu wykorzystano mutanty fenotypów MRP-EF+, MRP-EF- oraz MRP-EF\*, wykorzystując je, obok wyjściowego szczepu *S. suis* typu 2, do zakażenia eksperymentalnego nowo narodzonych prosiąt wolnych od patogenów (germ free) (27, 28), którym w celu zwiększenia wrażliwości na zakażenie 2 dni wcześniej podano donosowo ok. 10<sup>7</sup> jednostek tworzących kolonie *Bordetella bronchiseptica* 92932. Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta zakażone niezdadliwym szczepem *S. suis* T15 o fenotypie MRP-EF-. Zarówno u prosiąt zakażonych szczepem zjadliwym, jak i jego mutantami, doszło do wystąpienia objawów ze strony centralnego układu nerwowego, a paciorkowce izolowano z centralnego układu nerwowego, błon surowiczych i stawów. U zwierząt inokulowanych niezdadliwym szczepem T15 nie zaobserwowano objawów klinicznych, natomiast drobnoustroje izolowano jedynie z płuc.

Wyniki powyższych doświadczeń pozwalają na stwierdzenie, że zjadliwość *S. suis* jest złożonym wieloczynnikowym procesem, w którym białka MRP, MRP<sup>s</sup>, EF oraz EF\* nie są niezbędne do wywołania choroby u świń. Może to sugerować, że nie warunkują one bezpośrednio zjadliwości, lecz ich synteza jest związana z obecnością innych, nieznanych czynników zjadliwości, a niektóre procesy mogą być zastępowane przez alternatywne. Oznaczałoby to, że w przypadku braku białek MRP i EF, inne czynniki zjadliwości mogłyby przejąć ich funkcję. Hipoteza ta wyjaśniałaby, dlaczego szczepy *S. suis* pozbawione ekspresji białek MRP i EF są równie zjadliwe, jak szczepy wytwarzające te białka.

### Suilizyna

Suilizyna (hemolizyna) należy do toksyn uważanych za główny czynnik wirulencji wielu gatunków bakterii Gram-dodatnich (30). Białka te aktywowane są grupą tiolową. Działają one poprzez wiązanie cholesterolu w błonach komórkowych oraz tworząc struktury przypominające pory (8). Analiza szczepów paciorkowców izolowanych od świń, pod kątem wytwarzania suilizyny, wykazała, że toksyna ta produkowana jest przez większość izolatów zjadliwych (8, 29). Dotychczas nie wyizolowano niepatogenego szczepu *S. suis* typu 2 lub szczepu o nieznacznej chrobotwórczości, wytwarzającego suilizynę (30). Identyfikacja genu kodującego to białko dowiodła, że wszystkie badane szczepy posiadają w genomie jego sekwencję, a obserwowane różnice w zjadliwości szczepów tłumaczy się różnym poziomem jego ekspresji *in vivo* (30). Badania prowadzone w warunkach *in vitro* także wykazały aktywność hemolizyny u znacznego odsetka szczepów *S. suis* (8, 10, 11, 16, 17).

Szczepy wytwarzające suilizynę mają zdolność do wywoływania efektu cytotoksycznego w hodowli komórek śródbłonka naczyń włosowatych mózgu świni, co potwierdzono m.in. badaniem elektronomikroskopowym, stosując oczyszczoną suilizynę oraz poprzez stwierdzenie braku efektu toksycznego wobec tych komórek, przy zastosowaniu mutantów suilizyno-negatywnych (32). Dowiedziono także, że gen kodujący suilizynę stymuluje uwalnianie TNF- $\alpha$  z ludzkich monocytów oraz IL-6 z makrofagów pęcherzyków płucnych świń oraz mono-

cytów (18). Cytokiny te uważa się za istotne w rozwoju bakteryjnego zapalenia mózgu ze względu na uszkodzenie krążenia płynu mózgowo-rdzeniowego (9). Z drugiej jednak strony związki te mogą być także zaangażowane w pobudzenie układu odpornościowego.

Suilizyna może również indukować odporność w organizmie zakażonych zwierząt, a przeciwciała przeciwko niej posiadają działanie ochronne, co potwierdzono poprzez szczepienie zwierząt oczyszczoną toksyną. Efektem immunizacji były m.in. znacznie słabiej wyrażone objawy kliniczne i zmiany sekcyjne, w żadnym przypadku nie zaobserwowano zapalenia mózgu (17).

### Adhezyny

Zidentyfikowano kilka rodzajów adhezyn u *S. suis*. Grupa badaczy kanadyjskich wykazała, że zdolność *S. suis* typu 2 do adhezji jest cechą typową zarówno dla szczepów północnoamerykańskich, jak i europejskich i jest ona najważniejszym elementem inwazji komórek śródbłonka mózgu świń (32).

Adhezyny o masie 18 kDa rozpoznano u wszystkich badanych szczepów *S. suis*. Ze względu na specyfikę wiązania związki te podzielono na dwa podtypy: P<sub>N</sub> i P<sub>O</sub>. Typ P<sub>O</sub> ulega inhibicji wyłącznie przez galaktozę, natomiast typ P<sub>N</sub> jest hamowany przez galaktozę i N-acetylogalaktozaminę (31).

Adhezynę o masie 39 kDa wykryto zarówno u zjadliwych, jak i awirulentnych szczepów *S. suis* serotypu 2 (22). Benkirane i wsp. opisali występowanie białka o masie 60 kDa, wiążącego przeciwciała klasy IgG (4). Białko to izolowano powszechnie od wszystkich szczepów *S. suis*, w tym również od zjadliwych i niezdadliwych szczepów serotypu 2. Dowiedziono także, że adhezyny rozpoznające eryocyty indukują opsonizację przeciwciał u myszy (31).

W patogenezie zakażeń wywoływanych przez paciorkowce uwzględnia się także prawdopodobny udział immunogennej adhezyny – białka wiążącego fibronektynę i fibrynogen (6, 7). Gen kodujący FBPS występuje u większości szczepów *S. suis* typu 2, zarówno u wysoce oraz średnio zjadliwych, jak i u niepatogenych. Nie zidentyfikowano go jedynie w serotypie 32 i 34 (1). Różnice w zjadliwości szczepów tłumaczone są analogicznie, jak w przypadku suilizyny, różnym poziomem jego ekspresji (1).

Udział FBPS w patogenezie zakażenia *S. suis* określano poprzez porównanie patogenności szczepu wykazującego ekspresję FPBS oraz mutantu izogenicznego, pozbawionego tej zdolności. Od zwierząt zakażonych równoległe tego rodzaju drobnoustrojami wyizolowano z migdałków analogiczne ilości paciorkowców należących do wyjściowego i zmutowanego szczepu. Pozwala to przypuszczać, że FBPS nie jest niezbędny do kolonizacji migdałków, natomiast zasiedlenie narządów wewnętrznych, w tym stawów i centralnego układu nerwowego, jest uzależnione od ekspresji tego białka (1). Immunogenność FBPS dla świń oraz obecność genu kodującego to białko w większości szczepów *S. suis* może zostać potencjalnie wykorzystana do stworzenia szczepionki dającej odporność krzyżową przeciwko wszystkim serotypom (1).

Należy mieć na uwadze, że badania dotyczące adhezyn były ograniczone do niewielu szczepów, a dostępny zakres informacji na temat mechanizmu adhezji i prawdopodobnego udziału tych białek w zjadliwości bakterii jest nadal bardzo skromny.

### Podsumowanie

Wyjaśnienie podłoża różnej zjadliwości szczepów *S. suis* okazuje się być niezwykle trudnym zadaniem, z uwagi na wieloczynnikowy charakter tego procesu. Wykazano, że paciorkowce produkują wiele białek sekrecyjnych o cechach toksyn i enzymów, w tym głównie hemolizynę, streptokinazy, hialuronidazy, egzotoksyny czy proteazy, zdolnych do zabijania komórek gospodarza, poprzez uszkodzenie ich struktury (25).

Jak wynika z zaprezentowanych informacji wiele grup badawczych próbowało znaleźć związek pomiędzy obecnością pewnych genów lub ekspresją kodowanych przez nie białek i wirulencją drobnoustrojów tego gatunku. Niestety, jak dotychczas nie udało się odkryć uniwersalnego markera obecnego we wszystkich zjadliwych szczepach paciorkowców świń. Obecnie za najbardziej prawdopodobne czynniki zjadliwości należy uznać białka MRP i EF oraz suilizynę.

Należy podkreślić, że różny przebieg procesu chorobowego wywołanego przez dany szczep *S. suis* może być wynikiem współistnienia innych czynników zakaźnych i niezakaźnych. Dowiedziono dla przykładu, że zakażenie wirusem zespołu rozrodczo-oddechowego świń sprzyja ostremu przebiegowi streptokokozji.

Przedstawione dane świadczą o złożonych mechanizmach inwazyjności tego drobnoustroju. Ze względu na powszechne występowanie paciorkowców w populacji świń brak wiedzy o markerach wirulencji utrudnia zarówno poznanie patogenezji streptokokozji, jak i jej zwalczanie.

### Piśmiennictwo

- Allgaier A., Goethe R., Wisselink H. J., Smith H., Valentin-Weingand P.: Relatedness of *Streptococcus suis* isolates of various serotypes and clinical background as evaluated by macrorestriction analysis and expression of potential virulence traits. *J. Clin. Microbiol.* 2001, 39, 445-453.
- Barlow A. M., Hunt B. W., Heath P. J., Smith R. M.: The prevalence and clinical diseases caused in pigs by different serotypes of *Streptococcus suis* (June 2000 to September 2002) and human infection (1981 to October 2002) in England and Wales. *Pig Journal* 2003, 51, 164-176.
- Beaudoin M., Higgins R., Harel J., Gottschalk M.: Studies on a murine model for evaluation of virulence of *Streptococcus suis* capsular type 2. *FEMS Microbiol. Lett.* 1992, 78, 111-116.
- Benkirane R., Gottschalk M., Jacques M., Dubreuil J. D.: Immunochemical characterisation of an IgG binding protein of *Streptococcus suis*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1998, 20, 121-127.
- Charland N., Harel J., Kobish M., Lacasse S., Gottschalk M.: *Streptococcus suis* serotype 2 mutants deficient in capsular expression. *Microbiology* 1998, 68, 637-643.
- Chia J. S., Yeh C. Y., Chen J. Y.: Identification of fibronectin binding protein from *Streptococcus suis* mutants. *Infect. Immunol.* 2000, 68, 1864-1870.
- de Greeff A., Buys H., Verhaar R., Dijkstra J., van Alphen L., Smith H. E.: Contribution of fibronectin-binding protein to pathogenesis of *Streptococcus suis* serotype 2. *Infect. Immunol.* 2002, 70, 1319-1325.
- Feder I., Chengappa M. M., Fenwick B., Rider M., Staats M.: Partial characterization of *Streptococcus suis* type 2 hemolysin. *J. Clin. Microbiol.* 1994, 32, 1256-1260.
- Furth A. M., Rood J. J., van Furth R.: Roles of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in pathophysiology of bacterial meningitis and effect of adjunctive therapy. *Infect. Immunol.* 1996, 67, 4646-4654.
- Gottschalk M., Lacouture S., Dubreuil J. D.: Characterization of *Streptococcus suis* capsular type 2 haemolysin. *Microbiology* 1995, 141, 189-195.
- Gottschalk M., Lebrun A., Wisselink H., Dubreuil J. D., Smith H., Vecht U.: Production of virulence-related proteins by Canadian strains of *Streptococcus suis* capsular type 2. *Can. J. Vet. Res.* 1998, 1, 75-79.
- Gottschalk M., Segura M.: The pathogenesis of the meningitis caused by *Streptococcus suis*: the unresolved questions. *Vet. Microbiol.* 2000, 76, 259-272.
- Harel J., Higgins R., Gottschalk M., Bigras-Poulin M.: Genomic relatedness among different reference strains of different *Streptococcus suis* serotypes. *Can. J. Vet. Res.* 1994, 58, 259-262.
- Heath P. J., Hunt B. W., Duff J. P., Wilkinson J. D.: *Streptococcus suis* serotype 14 as a cause of pig disease in the UK. *Vet. Rec.* 1996, 139, 450-451.
- Higgins R., Gottschalk M.: Distribution of *Streptococcus suis* capsular types in 2000. *Can. J. Vet. J.* 2001, 42, 223.
- Jacobs A. A. C., Van Den Berg A. J. G., Baars J. C., Nielsen B., Johannsen L. W.: Production of suilysin, the tiol-activated haemolysin of *Streptococcus suis*, by field isolates from diseased pigs. *Vet. Rec.* 1995, 137, 295-296.
- Jacobs A. A. C., Van Den Berg J. G., Loeffen P. L. W.: Protection of experimentally infected pigs by suilysin, the tiol-activated haemolysin of *Streptococcus suis*. *Vet. Rec.* 1996, 139, 225-228.
- Lun S., Perez-Casal J., Connor W., Willson P. J.: Role of suilysin in pathogenesis of *Streptococcus suis* capsular serotype 2. *Microbiol. Pathol.* 2003, 34, 27-37.
- Luque I., Tarradas C., Astorga R., Perea A., Wisselink H. J., Vecht U.: The presence of muramidase released protein and extracellular factor protein in various serotypes of *Streptococcus suis* isolated from diseased and healthy pigs in Spain. *Res. Vet. Sci.* 1998, 66, 69-72.
- Mwaniki C. G., Robertson I. D., Trott D. J., Ateyo R. F., Lee B. J., Hampson D. J.: Clonal analysis and virulence of Australian isolates of *Streptococcus suis* type 2. *Epidemiol. Infect.* 1994, 113, 321-334.
- Pejsak Z.: Zakażenia *Streptococcus suis* u świń. Problemy w zakresie rozpoznawania i zwalczania. *Mag. Wet. Suplement Świnie*, 2002, 77-79.
- Quessy S., Busque P., Higgins R., Jacques M., Dubreuil J. D.: Description of an albumin binding activity for *Streptococcus suis* serotype 2. *FEMS Microbiol. Lett.* 1997, 147, 245-250.
- Reams R. Y., Harrington D. D., Glickman L. T., Thacker H. L., Bowersock T. L.: Multiple serotypes and strains of *Streptococcus suis* in naturally infected swine herds. *J. Vet. Diagn. Investig.* 1996, 8, 119-121.
- Segura M., Gottschalk M.: Extracellular virulence factors of streptococci associated with animal disease. *Frontiers in Bioscience*, 2004, 9, 1157-1188.
- Segura M., Gottschalk M., Olivier M.: Encapsulated *Streptococcus suis* inhibits activation of signaling pathways involved in phagocytosis. *Inf. Immunol.* 2004, 72, 5322-5330.
- Smith H. E., Vecht U., Gielkens A. L. J., Smits M.: Cloning and nucleotide sequence of the gene encoding the 136-kilodalton surface protein (muramidase released protein) of *Streptococcus suis* type 2. *Infect. Immunol.* 1992, 60, 2361-2367.
- Smith H., Vecht U., Wisselink H. J., Stockhofe-Zurwieden N., Biermann Y., Smits M.: Mutants of *Streptococcus suis* types 1 and 2 impaired in expression of muramidase-released protein and extracellular protein induce disease in newborn germfree pigs. *Infect. Immunol.* 1996, 64, 4409-4412.
- Smith H. E., Damman M., Van Der Velde J., Wagenaar F., Wisselink H. J., Stockhofe-Zurwieden N., Smits M.: Identification and characterization of the cps locus of *Streptococcus suis* serotype 2: the capsule protects against phagocytosis and is an important virulence factor. *Infect. Immunol.* 1999, 67, 1750-1756.
- Staats J. J., Plattner B. L., Niefeld J., Dritz S., Chengappa M. M.: Use of ribotyping and hemolysin activity to identify highly virulent *Streptococcus suis* type 2 isolates. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36, 15-19.
- Staats J. J., Plattner B. L., Stewart G. C., Chengappa M. M.: Presence of the *Streptococcus suis* suilysin gene and expression of MRP and EF correlates with high virulence in *Streptococcus suis* type 2 isolates. *Vet. Microbiol.* 1999, 70, 201-211.
- Tikkanen K., Haataja S., Finne J.: The galactosyl-(1-4)-galactose-binding adhesins of *Streptococcus suis*: occurrence in strains of different hemagglutination activities and induction of opsonic antibodies. *Infect. Immunol.* 1996, 64, 3659-3665.
- Vanier G., Segura M., Friedl P., Lacouture S., Gottschalk M.: Invasion of porcine brain microvascular endothelial cells by *Streptococcus suis* serotype 2. *Inf. Immunol.* 2004, 72, 1441-1449.
- Vecht U., Wisselink H. J., Jellema M. L., Smith H. E.: Identification of two proteins associated with virulence of *Streptococcus suis* serotype 2. *Infect. Immunol.* 1991, 59, 3156-3162.
- Vecht U., Wisselink H. J., Van Dijk J. E., Smith H.: Virulence of *Streptococcus suis* type 2 strains in newborn germfree pigs depends on phenotype. *Infect. Immunol.* 1992, 60, 550-556.
- Vecht U., Wisselink H. J., Stockhofe-Zurwieden N., Smith H. E.: Characterization of virulence of the *Streptococcus suis* serotype 2 reference strain Henrichsen S 735 in newborn gnotobiotic pigs. *Vet. Microbiol.* 1996, 51, 125-136.
- Wisselink H. J., Smith H. E., Stockhofe-Zurwieden N., Peperkamp K., Vecht U.: Distribution of capsular types and production of muramidase-released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries. *Vet. Microbiol.* 2000, 74, 237-248.

Adres autora: doc. dr hab. Iwona Markowska-Daniel, ul. Sienkiewicza 35A, 24-100 Pulawy; e-mail: iwonamd@piwet.pulawy.pl