

PESQUISA DO VÍRUS DA PESTE SUÍNA CLÁSSICA EM SUÍNOS SADIOS ABATIDOS EM MATADOUROS NO ESTADO DE SÃO PAULO

J.G. Bersano¹, E.M.C. Villalobos¹, S.R. Batlouni²

¹Laboratório de Doenças de Suínos “ Washington Sugay”, Centro de Sanidade Animal, Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

No presente estudo, que abrangeu o período de 1984 a 1998 foi pesquisado o vírus da Peste Suína Clássica (PSC) em tonsilas de suínos normais, colhidas em matadouros localizados nos municípios de Valinhos, Vinhedo, Suzano e Itapeirica da Serra, Estado de São Paulo, Brasil. As técnicas de diagnóstico utilizadas foram a imunofluorescência direta (IFD) em cortes de tonsilas e imunofluorescência indireta (IFI) em células da linhagem PK-15. Dos 341 materiais examinados 67 (19,64%), mostraram-se positivos ao teste de IFD. Os autores alertam para a presença de suínos portadores que podem disseminar a virose.

PALAVRAS-CHAVE: Peste suína clássica, matadouros, imunofluorescência.

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF HOG CHOLERA VIRUS IN NORMAL SWINE AT ABATTOIRS IN SÃO PAULO STATE. From 1984 to 1998, 341 swine tonsils collected in abattoirs from Valinhos, Vinhedo, Suzano e Itapeirica da Serra, in the state of São Paulo, Brazil, were examined for the diagnosis of swine fever. Sixty seven (19,64%) samples were positive by direct immunofluorescent test (DIFT) on frozen tissue. This study showed the swine as carrier this viruses.

KEY WORDS: Hog cholera, abattoirs, immunofluorescence.

INTRODUÇÃO

A peste suína clássica (PSC) é uma doença multisistêmica dos suínos, causada por um Pestivírus. A infecção ocorre pela via oro-nasal, sendo as tonsilas o primeiro sítio de replicação do vírus (DUNNE *et al.*, 1959; MENGELING & PACKER, 1969; BERSANO *et al.*, 1985; BIRONT *et al.*, 1987), que em seguida, penetra na corrente circulatória alcançando linfonodos, baço, rins, porção distal do íleo e cérebro (SARMA & SARMA, 1996).

A presença de vírus infeccioso nos tecidos dos animais é o fator mais importante na disseminação da PSC e em certos estágios da infecção, pode escapar à detecção durante a rotina de inspeção antes e após a matança (WOOD *et al.*, 1988).

Desde que a PSC foi descrita no Estado de São Paulo (PENHA, 1934), a forma típica, na qual estão envolvidas as cepas de alta virulência, tem sido a mais frequentemente observada. Geralmente fatal, principalmente em leitões desmamados, foi responsável pela ocorrência de 208 focos, diagnosticados

em diferentes regiões do estado de São Paulo, no período de 1983 a 1993 (BERSANO *et al.*, 1994), o que demonstrou a ampla disseminação da enfermidade.

A existência de cepas de baixa e moderada virulência, ocasionando formas atípicas de PSC, tem sido descrito na literatura (CRIPPS, 1954; CARBREY *et al.*, 1966; MENGELING & PACKER, 1969; KORN *et al.*, 1969; DUNNE, 1973; NECOCHEA, 1974; AYNOUN, *et al.*, 1977; VANNIER, 1981; MOENING & PLAGEMANN, 1992).

No Brasil, COSTA (1978) incriminou as formas atípicas pela morte de leitões apenas na fase de aleitamento. BERSANO *et al.* (1996) comprovaram o envolvimento de cepas de baixa virulência na etiologia de agenesia da primeira falange dos membros posteriores em leitões.

PLATEAU *et al.* (1980) também comprovaram através de experiências de campo e reprodução experimental que, a imunotolerância, responsável pelo nascimento de leitões persistentemente infectados, é induzida por amostras de vírus da PSC de baixa patogenicidade.

CARBREY *et al.* (1980) relataram que cerca de 6%

²Estagiário, bolsista do CNPq.

dos animais respondem à agressão com diferentes cepas do vírus da PSC, apresentando uma infecção persistente, o que seria um indicador razoável da frequência deste evento em condições de campo.

OIRSCHOT & TERPSTRA (1977), ao discorrerem sobre a patogenia da PSC, relataram que quando uma fêmea gestante é exposta a cepa de vírus de baixa virulência e este, ao ser transmitido ao feto pode dar origem a natimortos, leitegada de tamanho reduzido como também leitões aparentemente saudáveis mas, persistentemente infectados.

De acordo com MOENING & PLAGEMANN (1992), do ponto de vista epidemiológico e econômico, as infecções uterinas são o maior perigo atribuído aos pestivirus, em virtude de originar suínos persistentemente infectados.

O estado de portador inaparente, foi também citado por AYNARD (1976), que associou o evento ao uso de vacina cristal violeta que, segundo o autor, conferia proteção imperfeita ao rebanho.

Muito embora a PSC tenha sido erradicada em alguns países como Austrália, Canadá, Inglaterra, Islândia, Irlanda, Nova Zelândia, países escandinavos, Suíça e Estados Unidos, naqueles onde a enfermidade ainda ocorre, há carência de relatos relacionados a pesquisa do vírus em suínos encaminhados a matadouros.

O presente relato tem por objetivo assinalar a existência de suínos aparentemente saudáveis mas, persistentemente infectados que, ao albergarem o vírus nas tonsilas, constituem-se em importante fonte de disseminação da PSC, contribuindo assim para a perpetuação desta enfermidade em todo Estado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais foram colhidos durante o período de 1984 a 1998, na linha de abate de matadouros localizados, nos municípios de Valinhos, Vinhedo, Suzano e Itapeirica da Serra, no Estado de São Paulo, Brasil. Foram utilizadas 341 amostras de tonsilas de suínos adultos, sem histórico de vacinação, sem sinais da enfermidade e, provenientes de propriedades localizadas em regiões próximas aos matadouros trabalhados.

Das tonsilas obtiveram-se em criostato, cortes de 4µm de espessura, que foram aderidos a lâminas de vidro, fixados em acetona PA durante 10 minutos e recobertos com conjugado policlonal anti PSC, marcado com isotiocianato de fluoresceína, produzido no Instituto Biológico e na diluição de 1:50 em Azul de Evans, adotando-se na seqüência, os procedimentos descritos por AIKEN *et al.* (1964).

Foram também preparadas, suspensões de 18 destes materiais em meio E-MEM, a 20% peso/

volume e inoculadas em tubos de Leighton contendo lamínulas cultivadas com células PK-15, as quais foram submetidas à técnica de imunofluorescência indireta (MENGELING, 1963). Utilizou-se imunoglobulina anti PSC e conjugado de referência (anti espécie), produzidos no LARA (Laboratório Regional de Apoio Animal) em Pedro Leopoldo, MG. Os materiais positivos foram novamente submetidos à mesma técnica, desta feita utilizando-se anticorpo monoclonal e conjugado anti-mouse (produzidos por Veterinary Laboratories Agency – Weibridge, Inglaterra), visando a diferenciação com o vírus da BVD (Diarréia a Vírus dos Bovinos), uma vez que existe estreita relação antigênica entre ambos (WENSVOORT *et al.*, 1989; KATZ *et al.*, 1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desde os anos 60, quando foi desativado o Plano de Combate a PSC iniciado em 1946 e que contemplava um Programa de Controle e Erradicação da enfermidade, que medidas sanitárias substitutivas não foram adotadas. Decorreram-se várias décadas sem vacinação sistemática e obrigatória, sem controle de focos e, sem sacrifício de doentes, o que facilitou a disseminação da enfermidade. Muitas criações, principalmente as de pouca importância econômica, localizadas em regiões pobres do Estado de São Paulo utilizavam a vacina apenas em focos, como medida paliativa, preocupados em minimizar as perdas e os prejuízos econômicos, enquanto o restante do plantel permanecia susceptível.

Esta proteção parcial do rebanho, aliado a existência de vírus circulante e de cepas de baixa virulência, pode ter contribuído para o elevado número de animais portadores constatados nesta pesquisa.

Observou-se através de IFD, que dos 341 cortes de tonsilas examinados em 67 (19,64%), foi possível evidenciar positividade para o vírus da PSC, através da visualização de fluorescência intracitoplasmática específica nas células infectadas (Fig. 1).

Esta técnica de diagnóstico foi empregada até 1966, quando a partir de então, passou-se a utilizar também cultivo de células PK 15 que de acordo com ORDAS *et al.* (1977), aumenta a eficiência em 15%.

As amostras estocadas por vários anos, quando inoculadas em cultivo, mostraram-se tóxicas para as células, mesmo após várias passagens o que resultou em algumas perdas. Somente 18 das amostras estocadas por um curto período de tempo (três meses), comportaram-se satisfatoriamente.

O isolamento viral ocorreu em 15 (83,33), dos 18 materiais inoculados, sendo que em sete destes, a replicação do vírus somente pode ser observada em uma segunda passagem (Tabela 1).

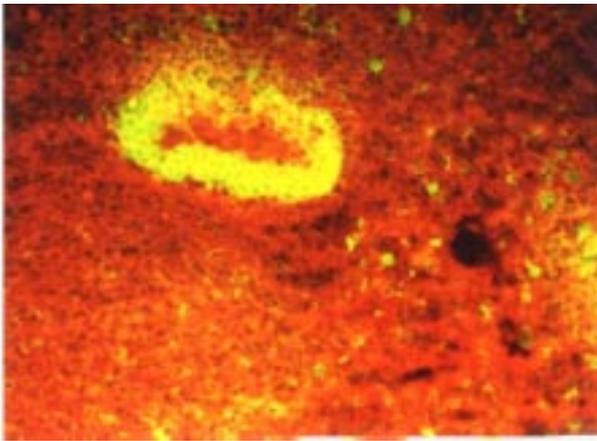


Fig.1 - Antígeno viral de PSC, em células epiteliais de cripta de tonsila detectado por imunofluorescência direta.

Tabela 1 – Resultado das passagens em cultivo de células da linhagem PK-15, de suspensão de tonsilas de suínos, colhidas em matadouros no Estado de São Paulo, no período de 1984 a 1998.

Município	Inoculação em cultivo		Negativos	Total examinado
	Positivos			
	1ª PAS	2ª PAS		
Valinhos	1	3	0	4
Vinhedo	1	2	1	4
Suzano	1	2	1	4
Itapecerica	2	3	1	6
Total	5	10	3	18

Tabela 2 – Resultado da análise laboratorial de tonsilas de suínos, colhidas em matadouros do Estado de São Paulo, no período de 1984 a 1998.

Ano	Valinhos		Vinhedo		Suzano		Itapecerica	
	Est.*	Pos.**	Est.	Pos.	Est.	Pos.	Est.	Pos.
1984	10	5	-	-	6	1	19	8
1985	8	-	-	-	-	-	9	3
1986	7	-	7	1	-	-	-	-
1987	14	6	7	2	11	2	34	18
1988	6	-	-	-	8	2	-	-
1989	6	-	8	1	-	-	10	-
1990	-	-	-	-	7	3	-	2
1991	5	-	7	2	-	-	-	-
1992	9	2	-	-	-	-	7	-
1993	6	-	-	-	-	-	8	2
1994	5	-	8	1	4	-	-	-
1995	3	1	3	-	1	1	4	1
1996	3	-	4	1	2	-	4	1
1997	2	1	1	-	1	-	3	-
1998	1	-	2	-	2	-	2	-
Total	85	15	47	8	42	9	100	35

* = estudados; ** = positivos

Constatou-se a presença de animais positivos em todos os matadouros trabalhados e, o maior número foi encontrado em Itapecerica da Serra (Tabela 2), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($P= 0.0207$). Este fato pode justificar-se tendo em vista o mesmo localizar-se em região de baixo poder econômico, situada na periferia da capital onde a PSC era de difícil controle.

O fato de não terem sido encontrados suínos positivos em 1998 (Tabela 2), pode estar relacionado com a vacinação obrigatória a que foi submetido todo o plantel suíno do Estado de São Paulo naquele ano. Observações semelhantes foram registradas no Rio Grande do Sul (GUIZZARDI *et al.*, 1991), que não encontraram amostras de baços positivas dentre as 595 examinadas em matadouros, durante um período de vacinação sistemática do rebanho.

Os resultados encontrados nesta pesquisa estão de acordo com as observações feitas por VAN OIRSCHOT & TERPSTRA (1997), ao responsabilizarem as cepas de vírus da PSC de baixa virulência por infecções congênitas em leitões e, conseqüente nascimento de leitões virêmicos que podem sobreviver de 2 a 11 meses comportando-se como fonte de disseminação do vírus. Concordam também com os relatos de TERPSTRA & WENSVOORT (1997), que comprovaram a vida longa de suínos portadores da Diarréia Viral Bovina (BVD), também um pestivirus, ao observarem que de 13 suínos infectados congenitamente, três sobreviveram por mais de três meses sendo que, um deles permaneceu virêmico, excretando vírus pelo fluido oro - faríngeo, urina e sêmen até ao abate, aos 26 meses.

CONCLUSÕES

A identificação do vírus da PSC em tonsilas de animais sadios abatidos em matadouros, reveste-se de grande importância, pois comprova a existência de animais portadores que são verdadeiras fonte de infecção inaparente, facilitando a disseminação do vírus, ao mesmo tempo que ressalta a necessidade premente do controle e erradicação desta enfermidade.

Os dados obtidos deverão fornecer subsídios para o delineamento do Programa de Controle e Erradicação da peste suína clássica, uma vez que oferece dados importantes para o estudo epidemiológico da enfermidade no Estado de São Paulo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIKEN, J.M.; HOOPES, A.H.; STAIR, E.L.; RHODES, M.B. Rapid diagnosis of hog cholera: a tissue-impression

- fluorescent-antibody technique. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.144, p.1395-1397, 1964.
- AYNAUD, J.M. Perspective d'une éradication de la peste porcine chronique en France. *Rec. Med.Vet.*, v.152, p.547-553, 1976.
- AYNAUD, J.M.; VANIER, P.; CORTIER, G.; LAUDE, H.; TILLON, J.P. Peste porcine chronique: propriétés in vitro et in vivo de 7 souches de virus virus isolées dans des élevages présentant des troubles de la reproduction. *Bull. Acad. Vét. de France*, v.50, p.371-384, 1977.
- BEKKUN, J.G. VAN Experience in the Netherlands with the lapinised so-called chinese strain vaccine. Hog cholera/classical swine fever and african swine fever. *Commission of the European Communities*, p.379-391, 1977.
- BERSANO, J.G.; PEIXOTO, Z.M.P.; FARINHA, F.B.N.; SILVA, M.R.P.; MEIRA, J. Diagnóstico precoce da peste suína clássica através da biópsia de amígdalas. *Biológico*, v.51, n.7, p.181-184, 1985.
- BERSANO, J.G.; SCHOTTEN, M.H.S.; BASTOS, G.M. Peste suína clássica: ocorrência no Estado de São Paulo durante o período de 1983 a 1993. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 7., 1994, São Paulo. *Resumos*. p.15. (Suplemento).
- BERSANO, J.G. ; KROEFF, S.S.; PORTUGAL, M.A.S.C. O vírus da peste suína clássica como agente causal de anomalias. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.63, n.2, p.53-57, 1996.
- BIRONT, P.; LEUNEN, J.; VANDEPUTTE, J. Inhibition of virus replication in the tonsils of pigs previously vaccinated with a chinese strain vaccine and challenged oronasally with a virulent strain of classical swine fever virus. *Vet. Microbiol.*, v.14, n.2, p.105-113, 1987.
- CARBREY, E.A; STEWART, W.C.; YOUNG, S.H. The changing picture of hog cholera: case studies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.149, n.12, p.1720-1724, 1966.
- CARBREY, E.A; STEWART, W.C.; KRESSE, J.I.; SNYDER, M.L. Persistent hog cholera infection detected during virulence typing of 135 field isolates. *Am. J. Vet. Res.*, v.41, n.6, p.946-949, 1980.
- COSTA, C.R. Peste suína crônica. *Avic. e Suinoc. Industrial*, n.822, p.22-53, 1978.
- CRIPPS, J.H.H. An atypical outbreak of swine fever in a breeding herd of large whites. *Vet. Rec.*, v.66, n.3, p.44-45, 1954.
- DUNNE, H.W.; HOKANSON, J.F.; LUEDKE, A.J. The pathogenesis of hog cholera. I. Route of the virus into the animal body. *Am. J. Vet. Res.*, v.20, p.615, 1959.
- DUNNE, H.W. Hog cholera. In: *Adv. Vet. Sci. Comp. Medicine*, New York: London Academic Press, v. 17, p.315-359, 1973.
- GUIZZARDI, I.I.; MARTINS, R.M.; VIDOR, T.; ROECHE, P.M. Peste suína clássica: retrospectiva de 1978 a 1987 no Estado do Rio Grande do Sul. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoo.*, v. 43, n.5, p.397-403, 1991.
- KATZ, J.B.; RIDPATH, J.F.; BOLIN, S.R. Presumptive diagnostic differentiation of hog cholera virus from bovine viral diarrhea and border disease viruses by using cDNA nested-amplification approach. *J. Clin. Microbiol.*, v.3, n.31, p.565-568, 1993.
- KORN, G.; SCHOJERNING, T.; LIEBRE, H. La mise em évidence d'antigènes et d'anticorps dans um foyer de peste porcine classique ayant débuté par la mort de porcelets. *Bull. Off. Int. Epiz.*, v.72, p.531-542, 1969.
- MENGELING, W.L. & PACKER, R.A. Pathogenesis of chronic hog cholera: host response. *Am. J. Vet. Res.*, v.30, n.3, p.409-417, 1969.
- MENGELING, W.L.; PIRTLE, E.C.; TORREY, J.P. Identification of hog cholera viral antigen by immunofluorescence. Application as diagnostic and Assay method. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, v.27 p.249-252, 1963.
- MOENNING, V. & PLAGEMANN, G.W. The pestivirus. *Adv. Virus. Res.*, v.41, p.53-97, 1992.
- NECOCHEA, R.R. Nuevo cuadro clinico de la colera porcina. *Porcira*, v.33, p.15, 1974.
- OIRSCHOT, J.T. VAN & TERPSTRA, C. A congenital persistent of fever infection. I Clinical and virological observations. *Vet. Microbiol.*, v.2, p.121-132, 1977.
- ORDAS, A. & BOTIJA, C.S. Laboratory diagnosis of classical Swine Fever in Spain. *Commission of the European Communities*, publ. EUR 5904, p.278-282, 1977.
- PENHA, A.M. Casos de peste dos porcos observados em São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.5, p.137-141, 1934.
- PLATEAU, E.; VANNIER, P.; TILLON, J.P. A typical hog cholera infection: viral isolation and clinical study of in utero transmission. *Am. J. Vet. Res.*, v.41, n. 12, p. 2012-2015, 1980.
- VANNIER, P. Les formes actuelles de la peste sont plus insidieuses. *L'élevage porcin.*, v.103, p.22-24, 1981.
- WENSVOORT, G.; TERSPSTRA, C.; DE KLUYVER, E.P.; KRAGTEN, C.; WARNAAR, J.C. Antigenic differentiation of pestivirus strains with monoclonal antibodies against hog cholera virus. *Vet. Microbiol.*, v.21, p.9-21, 1989.
- WOOD, L.; BROCKMAN, S.; HARKNESS, J.W. S. Classical swine fever virulence and tissue distribution of a 1986 english isolate in pigs. *Vet. Rec.*, v.122, p.391-394, 1988.

Recebido para publicação em 30/8/00