

SITUAÇÃO DA DOENÇA-DE-AUJESZKY NO ESTADO DE SANTA CATARINA EM 1984¹

CARLOS HIPÓLITO ROMERO², JOSÉ L. MARQUES³, CHERYL ANN ROWE⁴,
ROBIS M. SALDANHA FLORES e LIANA BRENTANO⁵

RESUMO - Continuou-se em 1984 com a vigilância sorológica para detectar a infecção pelo vírus da doença-de-Aujeszky (VDA) em plantéis de suínos no estado de Santa Catarina. Foram examinados, para presença de anticorpos neutralizantes, um total de 13.375 soros. Destes, 9.504 correspondiam a suínos de 68 dos 70 plantéis de reprodutores registrados na Associação Catarinense de Criadores de Suínos (ACCS), encontrando-se 87% dos soros isentos de anticorpos neutralizantes e 13% tóxicos para as células indicadoras. De 395 soros obtidos de cinco estações de testes de reprodutores (ETRS), 85,1% eram livres de anticorpos e 14,9% tóxicos. Dos 1.666 soros pertencentes a suínos de 33 plantéis de reprodutores participando de feiras e exposições, 84,7% eram isentos de anticorpos, e 15,3%, tóxicos. De 1.769 soros que provinham de 33 granjas terminadoras, 78% não continham anticorpos, 20% foram tóxicos e 2% possuíam anticorpos neutralizantes e eram oriundos de cinco plantéis, dois destes com doença clínica. Em culturas celulares, o VDA foi isolado em cinco de doze encéfalos de suínos com suspeita de Aujeszky. Conclui-se que o VDA ainda é causa de infecção e mortalidade em alguns plantéis terminadores, ao passo que os plantéis de reprodutores do Estado de Santa Catarina encontram-se livres da infecção.

Termos para indexação: suínos, infecção viral, pseudo-raiva.

SITUATION OF AUJESZKY'S DISEASE IN THE STATE OF SANTA CATARINA, BRAZIL, IN 1984

ABSTRACT - The serological surveillance to detect infection with Aujeszky's disease virus (ADV) in swine in the state of Santa Catarina, Brazil, was continued during 1984. A total of 13,375 sera were evaluated for the presence of neutralizing antibodies. Of these sera, 9,504 were from 68 of the 70 reproductive herds registered with the Pig Breeding Association of Santa Catarina. Neutralizing antibodies were not detected in 87% of the sera, while 13% were toxic for the indicator cells; of 395 sera obtained from five stations for the testing of reproductive boars, 85.1% were devoid of antibodies and 14.9% were toxic; 1,666 sera were from pigs from 33 reproductive herds sent to pig shows and fairs and 84.7% were free of antibodies and 15.3% were toxic; 1,769 sera from pigs from 33 fattening units had no antibody detected in 78% of the sera, 20% were toxic and 2% contained neutralizing antibodies and had come from five fattening herds, two of them with clinical Aujeszky's disease. ADV was isolated in cell culture from five of twelve brains samples from pigs suspected of having Aujeszky's disease. It is concluded that ADV is still the cause of infection and mortality in some fattening herds, while the reproductive herds in the State of Santa Catarina are free of infection with ADV.

Index terms: swine, viral infection, pseudorabies.

INTRODUÇÃO

A doença-de-Aujeszky (DA) ou pseudo-raiva é uma enfermidade infecciosa, contagiosa, causada por um vírus herpes, o "vírus da doença de

Aujeszky" (VDA), que tem o suíno como hospedeiro natural (Gustafson 1981). A doença é de considerável importância econômica por causar mortalidade elevada em leitões recém-nascidos e transtornos da reprodução em porcas gestantes, sendo um dos maiores entraves sanitários nas explorações suinícolas da maioria dos países industrializados (Gustafson 1981).

No Brasil, a DA foi descrita pela primeira vez quase no início do século, por Carini & Maciel (1912), que isolaram o VDA do bulbo de uma vaca no Município de Araras, no estado de São Paulo. Porém, estudos dirigidos para determinar a extensão da infecção somente foram estabelecidos em

¹ Aceito para publicação em 8 de julho de 1986.

² Méd. - Vét., Ph.D., Consultor IICA/EMBRAPA/BIRD/EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Caixa Postal D-3, CEP 89700 Concórdia, SC.

³ Méd. - Vet., Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC), Rua do Comércio 655, CEP 89700 Concórdia, SC.

⁴ Biól., EMBRAPA/CNPISA.

⁵ Méd. - Vet. Bolsista, EMBRAPA/CNPISA.

1983, quando foi descrita a distribuição de anticorpos precipitantes para o VDA, utilizando-se o teste de imunodifusão em placa, em 67 plantéis de reprodutores suínos dos 75 registrados na Associação Catarinense de Criadores de Suínos (ACCS), em Concórdia, distribuídos em 30 municípios do estado de Santa Catarina (Romero et al. 1984). Nessa ocasião, constatou-se que 64 (1%) soros derivados de seis plantéis, dos 6.521 soros testados, continham anticorpos para o VDA, verificando-se simultaneamente a ocorrência da DA clínica em dois dos plantéis infectados.

Em 1984, continuou-se com a vigilância sorológica dos plantéis de reprodutores suínos do estado de Santa Catarina, sendo que o teste de imunodifusão foi substituído pelo teste de soroneutralização em microplacas, por ser este um dos testes oficiais para detectar a infecção com o VDA.

O objetivo deste trabalho é fornecer uma visão da situação atual da infecção pelo VDA e da DA em plantéis suínos do estado de Santa Catarina.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem de soros

De um total de 13.375 suínos sangrados entre os meses de janeiro a dezembro de 1984, 9.504 pertenciam a 68 das 70 granjas de reprodutores registradas na ACCS, distribuídas em 29 municípios, e correspondiam a 100% dos suínos em idade de reprodução; 395 pertenciam a cinco estações de testes de reprodutores Suínos (ETRS) distribuídas em cinco municípios; 1.769 soros foram obtidos de 33 granjas de terminadores localizadas em quinze municípios; 1.666 soros foram obtidos de 33 das 70 granjas de reprodutores registradas na ACCS, localizadas em quatorze municípios, e que estavam enviando suínos para exposições e feiras, e 41 soros foram obtidos de cachacos de uma estação de inseminação artificial localizada no município de Concórdia. Os soros dos suínos reprodutores foram obtidos através da ACCS, ao passo que os soros das granjas de terminadores foram obtidos diretamente destas granjas através da própria assistência veterinária ou do serviço técnico da Companhia Integrada para o Desenvolvimento Agropecuário de Santa Catarina (CIDASC). Todos os soros foram testados no Setor de Virologia do Laboratório de Sanidade do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

Teste de soroneutralização

Para avaliar a presença de anticorpos neutralizantes nos soros, foi utilizado o teste de soroneutralização em

microplacas de fundo plano com 96 orifícios, seguindo as linhas gerais do teste descrito por Hill et al. (1977). Os soros eram inativados a 56°C durante 30 minutos e testados nas diluições de 1:2 e 1:4 em volumes de 25 µl. O VDA utilizado correspondia a terceira passagem em fibroblastos de embrião de galinha (FEG) da cepa 407/83 isolada no Setor de Virologia do CNPSA. A suspensão viral era padronizada para conter 100 doses infectantes médias para FEG (100 TCID50) por volume de 25 µl.

As misturas de soros e vírus eram incubadas nas placas durante uma hora a 37°C e adicionadas de 200 µl de meio de cultura contendo 100.000 FEG. A leitura do teste era realizada no terceiro e quinto dias, através da avaliação microscópica de efeito citopático característico de vírus herpes. Cada placa era suficiente para testar 46 soros, além de um soro de referência positivo (soro de suíno naturalmente infectado com o VDA) e um soro de referência negativo (soro de suíno livre de anticorpos para o VDA). As diluições de soros, vírus e células foram sempre realizadas em uma mistura de partes iguais dos meios de cultura Ham F10 e 199, contendo 5% de soro bovino, 500 U de penicilina/ml, 500 µg de estreptomicina/ml e 50 U de micostatina/ml. Os soros eram considerados positivos para anticorpos quando neutralizavam totalmente o efeito citopático do VDA em qualquer uma das diluições testadas. Para se obter um controle da dose viral em teste, as 100 TCID50 calculadas eram tituladas por diluições decimais em octuplicata, cada vez que se analisava um lote de soros.

Isolamento e identificação do VDA

Foram analisadas doze amostras de encéfalo derivadas de leitões menores de três semanas, provenientes de granjas de terminação e que apresentavam sintomatologia clínica compatível com a DA. Porções de cérebro ao nível dos bulbos olfatórios, quiasma óptico e pedúnculos cerebrais, assim como de cerebelo e medula oblonga, foram homogeneizadas em tampão fosfatado salino, de pH 7,3, utilizando-se triturador Ten Broeck, para se obter uma suspensão de aproximadamente 10% (P/V). A suspensão era logo centrifugada a 2.500 rpm durante 10 minutos, o sobrenadante era coletado em frasco estéril e adicionava-se penicilina (500 U/ml), neomicina (20 µg/ml) e micostatina (50 U/ml). Após duas horas de estocagem na geladeira (8°C), culturas de FEG preparadas segundo a técnica de Solomon (1975) eram inoculadas com a suspensão a 10%, assim como com diluições decimais de 10⁻¹ e 10⁻² desta suspensão. Os inóculos eram adsorvidos durante duas horas, as monocamadas eram lavadas uma vez com tampão fosfatado salino para eliminar o inóculo não adsorvido, e as culturas eram adicionadas de meio de cultura Ham F10 e 199 com apenas 1% de soro bovino e antibióticos, como descrito anteriormente. As culturas foram observadas diariamente durante uma semana para verificar o aparecimento de efeito citopático característico de vírus herpes. O agente citopatogênico era identificado como sendo o vírus da doença-de-Aujeszky, utilizando-se

o teste de vírus de neutralização em microplacas ou o teste direto de imunofluorescência. (Hill et al. 1977).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A vigilância sorológica de 68 granjas de reprodutores, distribuídas em 29 municípios do estado de Santa Catarina, permitiu demonstrar que dos 9.504 soros suínos testados para anticorpos neutralizantes do VDA, 8.265 (87%) eram livres desses anticorpos enquanto 1.239 (13%) eram tóxicos para as células indicadoras, quando avaliados nas diluições de 1:2 e 1:4 (Tabela 1). Estes resultados indicam que as granjas reprodutoras do estado encontram-se livres da infecção com o VDA, e são reforçados pelo fato de não se haver observado, durante 1984, um só surto da DA clínica nas granjas de reprodutores. O número elevado de soros tóxicos para os FEG - células indicadoras utilizadas no teste de soroneutralização -, foi em decorrência de que alguns lotes de soros recebidos no laboratório procediam de áreas distantes e que não tinham sido mantidos congelados, permitindo a sua contaminação. Outros encontravam-se hemolisados, em decorrência de um deficiente processo de dessoramento e estocagem. Constatou-se que, quanto maior era a distância entre o município de origem das amostras de soro e o laboratório de processamento, localizado em Concórdia, maior era a percentagem de soros tóxicos. Em um estudo anterior (Romero et al. 1984), foram identificados seis rebanhos de reprodutores suínos no estado de Santa Catarina, infectados com o VDA. Em quatro destes seis rebanhos sem a DA clínica, iniciaram-se trabalhos de erradicação da infecção, através de testagem, identificação e remoção dos suínos infectados, atingindo-se a erradicação do VDA. Os outros dois rebanhos apresentaram a DA clínica, decidindo-se, em um caso, pelo abate de 100% dos suínos, e no segundo caso, pela vacinação do rebanho, o qual foi desligado da ACCS cessando a sua atividade de comercializador de reprodutores suínos.

A testagem de 395 soros coletados de doze lotes de suínos alojados em cinco ETRS, evidenciou a negatividade para anticorpos neutralizantes em 336 soros, sendo os 59 restantes tóxicos para as células indicadoras (Tabela 2). As ETRS agre-

gam, de maneira geral, futuros reprodutores suínos procedentes de diferentes granjas de reprodutores de uma região. A negatividade dos soros testados reforça o conceito de que as granjas de reprodutores do Estado encontram-se livres do VDA.

Por outro lado, os resultados da testagem de 1.666 soros de suínos derivados de 33 granjas de reprodutores, distribuídas em quatorze municípios que participaram de feiras e exposições, confirmam mais uma vez a ausência do VDA neste tipo de plantel (Tabela 3). A continuação desta política de testagem em reprodutores suínos que participam de feiras e exposições facilitará ainda mais o controle da DA no estado de Santa Catarina. Não foram detectados anticorpos neutralizantes nos 41 soros obtidos de cachos de uma central de inseminação artificial. Este fato é importante, sob o ponto de vista do controle da DA, pois o sêmen distribuído por esta central, por se originar de animais sorologicamente negativos, não contém o agente infeccioso da DA. Na Hungria, resultados relativamente recentes demonstraram que o sêmen de cacho naturalmente infectados com o VDA pode conter este agente infeccioso (Medveczky & Szabó 1981).

A situação da DA em granjas de terminação é motivo de preocupação. Dos 1.769 soros testados, derivados deste tipo de granja, 36 soros pertencentes a cinco granjas localizadas nos municípios de Galvão e Xanxerê, SC, continham anticorpos neutralizantes para o VDA (Tabela 4). Todavia, constatou-se a presença da DA na sua forma clínica em duas destas cinco granjas infectadas, recuperando-se o VDA da granja localizada em Xanxerê. Não foi tentado o isolamento viral da granja localizada em Galvão.

Os resultados obtidos nas granjas terminadoras indicam apenas a existência da infecção na população testada e não a prevalência da mesma, uma vez que as granjas analisadas não foram identificadas aleatoriamente e representam somente uma fração do total de granjas terminadoras do estado, calculada em, aproximadamente, 50.000.

A instituição de uma política de vacinação impossibilita a erradicação do VDA em granjas vacinadas, as quais se tornam, por períodos não definidos, focos de infecção (Wright et al. 1982), podendo o vírus alastrar-se inclusive a áreas não in-

TABELA 1. Anticorpos neutralizantes para o VDA no soro de suínos de granjas de reprodutores do estado de Santa Catarina.

Município	Número de granjas	Número de soros testados	Número de soros com anticorpos	Número de soros sem anticorpos	Número de soros tóxicos
Águas de Chapecó	01	29	0	29	
Braço do Norte	01	175	0	127	48
Caibi	01	76	0	44	32
Capinzal	01	52	0	50	2
Chapecó	11	1.897	0	1.708	189
Concórdia	22	2.983	0	2.822	161
Coronel Freitas	01	36	0	34	2
Criciúma	01	153	0	109	44
Fraiburgo	01	10	0	8	2
Guarujá do Sul	01	31	0	31	
Ipumirim	01	56	0	7	49
Itapiranga	01	132	0	118	14
Jaborá	01	37	0	37	
Lacerdópolis	01	47	0	46	1
Mondai	01	96	0	73	23
Palma Sola	01	81	0	80	1
Pinhalzinho	02	98	0	73	25
Quilombo	01	39	0	30	9
São Carlos	01	40	0	31	9
São José do Cedro	01	102	0	86	16
São Lourenço	01	209	0	169	40
São Miguel do Oeste	04	650	0	495	155
Seara	01	43	0	37	6
Três Barras	01	150	0	145	5
Urussanga	02	979	0	709	270
Videira	02	425	0	377	48
Xanxerê	03	174	0	158	16
Xavantina	01	261	0	213	48
Xaxim	01	443	0	419	24
Total	68	9.504		8.265	1.239

TABELA 2. Anticorpos neutralizantes para o VDA no soro de suínos de estações de testes de reprodutores suínos do estado de Santa Catarina.

Município	Número de lotes testados	Número de soros testados	Número de soros com anticorpos	Número de soros sem anticorpos	Número de soros tóxicos
Chapecó	02	51	0	32	19
Concórdia	06	189	0	185	4
Criciúma	01	33	0	15	18
São Miguel do Oeste	02	72	0	56	16
Xanxerê	01	50	0	48	2
Total	12	395	0	336	59

TABELA 3. Anticorpos neutralizantes para o VDA no soro de suínos reprodutores que participaram de feiras e exposições no estado de Santa Catarina em 1984.

Município	Número de granjas	Número de soros testados	Número de soros com anticorpos	Número de soros sem anticorpos	Número de soros tóxicos
Braço do Norte	01	50	0	19	31
Caibí	01	08	0	8	
Chapecó	05	140	0	122	18
Concórdia	14	1.055	0	963	92
Guaracaiaba	01	16	0	5	11
Itapiranga	01	23	0	23	
Jaborá	01	39	0	39	
Maravilha	01	20	0	20	
Mondaf	01	21	0	15	6
São José do Cedro	01	80	0	54	26
São Lourenço do Oeste	01	42	0	25	17
São Miguel do Oeste	01	101	0	70	31
Urussanga	01	08	0	4	4
Videira	03	63	0	44	19
Total	33	1.666	0	1.411	255

TABELA 4. Anticorpos neutralizantes para o VDA no soro de suínos de granjas terminadoras do estado de Santa Catarina.

Município	Número de granjas	Número de soros testados	Número de soros com anticorpos	Número de soros sem anticorpos	Número de soros tóxicos
Campos Novos	01	10	0	9	1
Capinzal	02	70	0	49	21
Chapecó	03	779	0	722	57
Concórdia	01	16	0	16	
Coronel Freitas	01	66	0	66	
Criciúma	01	34	0	34	
Faxinal dos Guedes	01	107	0	107	
Fraiburgo	10	10	0	8	2
Galvão	01	55	5	49	1*
Ipumirim	02	18	0	14	4
Jaraguá do Sul	02	40	0	39	1
Ouro	01	16	0	16	
São Carlos	01	10	0	10	
Videira	01	43	0	13	30
Xanxeré	05	495	31	227	237*
Total	33	1.769	36	1.379	354

* Apresentaram a DA clínica.

fectadas, porque a vacinação não evita a infecção com o vírus de campo. Porém o grande mérito da vacinação, em áreas infectadas ou de alto risco, é o de diminuir as perdas econômicas em decorrência da mortalidade de leitões e a transtornos reprodutivos em porcas gestantes (Gustafson 1981). Mas ainda, como não existe no estado uma infraestrutura similar àquela existente para plantéis de reprodutores, que permite manter constante vigilância sanitária para detectar plantéis infectados com o VDA, as perspectivas para o controle da DA em plantéis de terminação não são das melhores.

Finalmente, de doze amostras de encéfalo processadas durante 1984, foi possível isolar cinco agentes citopatogênicos para FEG (Tabela 5), causantes de efeito citopático, caracterizado pelo arredondamento e aumento de refratividade celular. Os cinco agentes foram identificados como vírus da doença-de-Aujeszky, utilizando-se o teste direto de imunofluorescência ou o teste de vírus neutralização.

Os cinco vírus forma isolados de suínos derivados de granjas terminadoras localizadas nos municípios de Xanxerê, Itapiranga e Ipumirim.

TABELA 5. Isolamento do vírus da doença-de-Aujeszky do encéfalo de suínos originários de granjas terminadoras com sintomas clínicos sugestivos da doença-de-Aujeszky.

Município	Número de protocolo: CNPSA	Resultado
Xanxerê	100/84	Positivo
Concórdia	377/84	Negativo
Cunha Porã	659/84	Negativo
Itapiranga	706/84	Positivo
Itapiranga	750/84	Negativo
Ipumirim	879/84	Positivo
Jacutinga	924/84	Negativo
Concórdia	1005/84	Negativo
Itapiranga	1043/84	Positivo
Xanxerê	1044/84	Positivo
São Carlos	1132/84	Negativo
São Miguel	1141/84	Negativo

CONCLUSÕES

1. Os plantéis produtores de reprodutores suínos do estado de Santa Catarina, filiados à Associação Catarinense de Criadores de Suínos, encontram-se livres da infecção pelo vírus da doença-de-Aujeszky.

2. O vírus e os surtos da doença-de-Aujeszky foram detectados em alguns plantéis de terminação de suínos para abate.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Auria Dartora e a Ivane Müller pela eficiente assistência técnica.

REFERÊNCIAS

- CARINI, A. & MACIEL, J. La pseudo-rage ou paralísie bulbaire infectieuse au Brésil. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 5:576-8, 1912.
- GUSTAFSON, D.P. Pseudorabies. In: LEMAN, A.D.; GLOCK, R.D.; MENGELING, W.L.; PENNY, R.H. C.; SCHOLL, E.; STRAW, B., ed. *Diseases of swine*. 5. ed. Ames, Iowa State Univ. Press, 1981. p.209-23.
- HILL, H.T.; CRANDELL, R.A.; KANITZ, C.L.; MCDARAGH, J.P.; SEAWRIGHT, G.L.; SOLORZANO, R.F.; STEWART, W.C. Recommended minimum standards for diagnostic tests employed in the diagnosis of pseudorabies (Aujeszky's disease). In: AMERICAN ASSOCIATION OF VETERINARY LABORATORY DIAGNOSTICIANS. Annual Meeting, 20., Minneapolis, 1977. Proceedings. Minneapolis, 1977. p.375-90.
- MEDVECZKY, I. & SZABÓ, I. Isolation of Aujeszky's disease virus from boar semen. *Acta Vet. Acad. Scient. Hung.*, 29(1):20-35, 1981.
- ROMERO, C.H.; ROWE, C.A.; PROVENZANO, G.I.; FLORES, R.S.; BRENTANO, L.; MARQUES, J.L.L. Distribuição e prevalência de anticorpos precipitantes para o vírus da doença da Aujeszky em plantéis suínos no Estado de Santa Catarina. *Pesq. vet. bras.*, 4(4):121-7, 1984.
- SOLOMON, J.J. Preparation of avian cell cultures. *Tissue Cult. Assoc. Man.*, 1:7-11, 1975.
- WRIGHT, J.C.; THAWLEY, D.G.; SOLORZANO, R.F. Field evaluation of test-and-removal and vaccination as control measures for pseudorabies in Missouri swine. *Can. J. Comp. Med.*, 46:420-5, 1982.