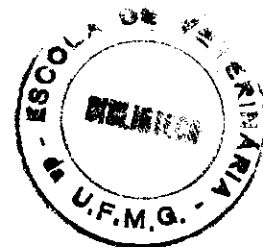


Universidade Federal de Minas Gerais  
Conselho de Pós-Graduação  
Escola de Veterinária

TG 33 043 00

4407

1989



DOENÇA DE AUJESZKY ASSINTOMÁTICA EM UMA CRIAÇÃO EXTENSIVA DE  
SUÍNOS DE RAÇAS NATIVAS - ESTUDOS SOBRE ERRADICAÇÃO E VIRULÊNCIA  
DA CEPA DE VÍRUS

Terezinha Maria Barbosa de Almeida

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



000007189004

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

ok  
02/03/04/06

Belo Horizonte

Minas Gerais

1989

Terezinha Maria Barbosa de Almeida



DOENÇA DE AUJESZKY ASSINTOMÁTICA EM UMA CRIAÇÃO EXTENSIVA DE  
SUÍNOS DE RAÇAS NATIVAS - ESTUDOS SOBRE ERRADICAÇÃO E VIRULÊNCIA  
DA CEPA DE VÍRUS

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Preventiva

Belo Horizonte  
Minas Gerais  
1989

MV-00006920-0

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA  
BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA  
31/08/90  
71890-04

636.408 969 2

A447 d Almeida, Terezinha Maria Barbosa de, 1957-

Doença de Aujeszky assintomática em uma criação extensiva de suínos de raças nativas: estudo sobre erradicação e virulência da cepa de vírus. Terezinha Maria Barbosa de Almeida.- Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1989.

57p.: il.-

Tese (Mestrado)

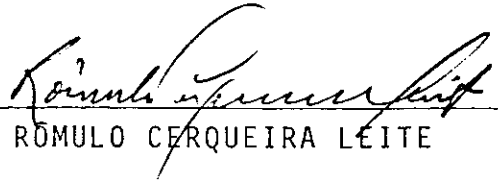
1. Aujeszky, Doença de Controle. 2. Suínos- Doenças, I.  
Título.

Aprovada em: 22/12/89



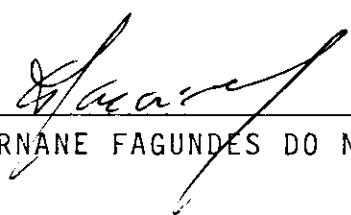
---

PROF. RONALDO REIS  
Orientador



---

PROF. RÔMULO CERQUEIRA LEITE



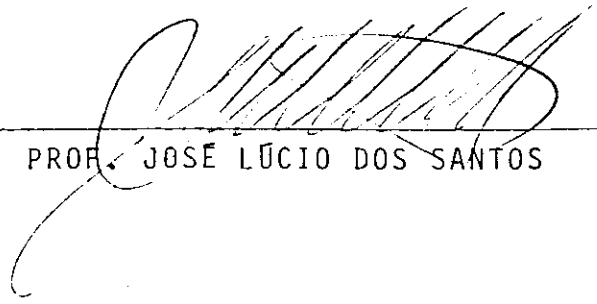
---

PROF. ERNANE FAGUNDES DO NASCIMENTO



---

PROF. ISRAEL JOSÉ DA SILVA



---

PROF. JOSÉ LÚCIO DOS SANTOS



"O verdadeiro cientista não é aquele que admite ou faz a ciência pela ciência. Mas, aquele que nunca se esquece da ciência de acreditar na amizade, no respeito, na união e, principalmente na capacidade que as pessoas tem de viver em grupo, em equipe... Esta é a maior das ciências.

BASKERL, A.M.G. Dedicando seu prêmio Nobel de química (1939) à sua equipe de trabalho.

Ao Piti pela vontade de pesquisar  
e v<sup>o</sup> Margarida, pela vontade de  
viver.

À Zelinha e Bella, minhas cientis-  
tas do coração.

Aos meus pais, Edison e Dulce e  
aos meus irmãos, Eliane, Alvimar,  
Denise, Gabrielzinho, Marcinha,  
Rui e sobrinhos pelo incentivo.



### AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Ronaldo Reis, pela orientação.

Ao Prof. Rômulo Cerqueira Leite pela colaboração.

Aos Profs. Antônio Stockler Barbosa e Ernane Fagundes do Nascimento, pela amizade, atenção e apoio durante a fase experimental do trabalho.

Aos Profs. Israel José da Silva e José Lúcio dos Santos, pelas sugestões valiosas.

Aos técnicos do Laboratório de Virologia e Bacteriologia, Valéria L.F. Campos e Marília C. Nogueira e em especial a Doraci de F. Reis pelo apoio técnico e amizade.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Prof. Hélio Barbosa em especial ao Sr. Antonio Borges Mundim, Agripino da Silva Couto, Valtair Gregório de Resende e Gilson Geraldo Gouveia e as veterinárias responsáveis pelo setor da Suinocultura, Simone, Rosilene e Luciana pelo convívio e apoio nos trabalhos de campo.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais, meu carinho especial a José Machado Pedrosa e Geraldo Alves Costa pela amizade e apoio.

Aos técnicos do Laboratório de Histopatologia, Carlos Alberto de Oliveira e Marilene Campos de Almeida pelo valioso auxílio na preparação das lâminas para histopatologia.

Aos funcionários da Biblioteca Eunice F. Lopes, Ana Lúcia A. Ramirez, Eliana P. Resende, Marília F. de Carvalho,

Rosilene F. de Almeida, Alvarina M. de Jesus e Arlene A. Reis, que estiveram sempre prontas a servir.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação, Cláudia Kafuri e Fátima R. Peixoto, pelo incentivo e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo oferecida.

À AGROCERES - Patos de Minas, em especial ao Dr. José Henrique Pivan pelo fornecimento dos animais para o experimento.

Ao Laboratório de Referência Animal (LANARA) em especial ao Dr. Anapolino M. Oliveira pelo apoio técnico.

Ao Prof. Giovanni Dantas Cassali pelos slides e fotografias que muito contribuíram para a apresentação deste trabalho.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

Aos funcionários de Setor de Transporte da Escola de Veterinária pela colaboração e amizade.

Aos colegas do curso de Mestrado, em especial Zélia, Isabella, Theomar, Fátima, Eliane e Rogério pelo incentivo e amizade.

À José Moura de Oliveira, pelos serviços datilográficos.

De modo especial aos amigos, Beatriz, Flora, Rodrigo e Turma Shup (10º período-89), pela paciência e amizade.

À todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.



## RESUMO

Estudou-se a erradicação de um foco da doença de Aujeszky (DA) em um rebanho suíno de raças nativas, pertencentes à Fazenda Experimental Hélio Barbosa, no município de Igarapê-MG. Foi utilizado o método de soroneutralização (SN) para identificação dos animais positivos e sua imediata eliminação.

A SN foi realizada com intervalos de dois meses num total de nove testes, apresentando os seguintes resultados: 1ª colheita (18,2% de animais positivos); 2ª (0%); 3ª (0,7%); 4ª (0%); 5ª (0%); 6ª (1,39%); 7ª (0,83%); 8ª (0,88%) e 9ª (0%). Os títulos de SN variaram de 1:2 a 1:64 (com predominância de títulos mais baixos), tendo sido abatidos um total de 63 animais.

A partir de um grupo de três suínos da raça Piau, abatidos com SN positiva, o VDA foi isolado em amostras de amígdala e pulmão em cultivo de célula PK15 e identificadas pela imunofluorescência direta (IFD) e inoculação em camundongos. Essas amostras, sem sofrerem passagem em cultura de tecidos, não provocaram lesões características da DA, quando inoculadas em coelhos, mas, quando isoladas em PK15 e inoculadas em camundongos e suínos de "raça" Piau e Landrace-Large White, provocaram a DA clínica.



## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. LITERATURA CONSULTADA.....	02
2.1. Epidemiologia.....	03
2.2. Latência.....	05
2.3. Sinais clínicos.....	05
2.4. Achados anátomo-histopatológicos.....	08
2.5. Diagnóstico.....	09
2.5.1. Viroológico.....	09
2.5.2. Sorológico.....	12
2.6. Controle.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Granja.....	16
3.2. Sorologia.....	18
3.3. Virologia.....	18
3.3.1. Inoculação em célula.....	19
3.3.2. Inoculação em camundongo.....	20
3.3.3. Inoculação em coelho.....	20
3.3.4. Inoculação em suíno.....	21

	Página
3.3.4.1. Inoculação intranasal.....	21
3.3.4.2. Lesões anátomo-histopatológicos.	23
4. RESULTADOS.....	24
4.1. Sorologia.....	24
4.2. Virologia.....	24
4.2.1. Inoculação em célula.....	24
4.2.2. Inoculação em camundongos.....	24
4.2.3. Inoculação em coelho.....	27
4.2.4. Inoculação em suínos.....	27
4.2.4.1. Quadro clínico.....	27
4.2.4.2. Isolamento.....	32
4.2.4.3. Achados anátomo-histopatológicos	39
5. DISCUSSÃO.....	44
5.1. Testes de SN e remoção dos reagentes.....	44
5.2. Inoculação em coelhos.....	48
5.3. Inoculação em suínos.....	48
6. CONCLUSÕES.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

## LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA I - Grupos de suínos Piau e Landrace-Large White inoculados com amostra isolada na FEHB e com amostra referência (AR).....	22
TABELA II - Sorologia realizada no rebanho suíno da granja da Fazenda Experimental "Professor Hélio Barbosa" (FEHB).....	25
TABELA III - Resultado do isolamento do VDA em célula PK15, e da IFD de, material colhido de três suínos sorologicamente reagentes provenientes da FEHB.....	26
TABELA IV - Resultados da inoculação de camundongos com material colhido de três suínos sorologicamente positivos, e provenientes da FEHB, segundo número de passagens em PK15 e IFD....	28
TABELA V - Início e grau de severidade dos sinais clínicos em leitões da "raça" Piau e Landrace-Large White inoculados por via IN com amostra de VDA isolada do rebanho suíno da FEHB e amostra de referência.....	29

	Página
TABELA VI - Quadro clínico do grupo de leitões Landrace-Large White inoculados com amostra isolada na FEHB (Grupo I).....	30
TABELA VII - Quadro clínico dos grupos de leitões Piau inoculados com amostra isolada na FEHB (Grupo II).....	31
TABELA VIII - Quadro clínico do grupo de leitões Landrace-Large White inoculados com amostra referência (Grupo III).....	33
TABELA IX - Quadro clínico do grupo de leitões Piau inoculados com amostra referência (Grupo IV)	38
TABELA X - Isolamento do VDA de suínos Piau e Landrace-Large White inoculados com amostra da FEHB e com amostra de referência.....	40
TABELA XI - Lesões macroscópicas observadas nos grupos de suínos Piau e Landrace-Large White, inoculados com as amostras da FEHB e de referência.....	41
TABELA XII - Achados histopatológicos observados em suínos Piau e Landrace-Large White inoculados com amostras da FEHB e de referência.....	43

## LISTA DE FIGURA

	Página
FIGURA 1 - Temperatura corporal do grupo de suínos Landrace-Large White, inoculados com amostra isolada na FEHB (Grupo I).....	34
FIGURA 2 - Temperatura corporal do grupo de suínos Piau, inoculados com amostra isolada na FEHB (Grupo II).....	35
FIGURA 3 - Temperatura corporal do grupo de suínos Landrace-Large White, inoculados com amostra referência (Grupo III).....	36
FIGURA 4 - Temperatura corporal do grupo de suínos Piau, inoculados com amostra referência (Grupo IV).	37



## 1. INTRODUÇÃO

A Doença de Aujeszky (DA) constitui-se atualmente em uma das maiores limitações para a suinocultura industrial, por ser causa de aborto, natimorto, mumificação, absorção embrionária, problemas respiratórios e principalmente mortalidade de leitões lactentes (HSU et alii, 1984; KLUDE et alii, 1986; IGLESIAS, 1937).

Vários estudos têm sido direcionados principalmente ao controle e erradicação da doença, como se pode constatar nos últimos encontros nacionais e internacionais de especialistas em suínos (CONGRESSO LATINO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 1985; INTERNACIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 1984; 1986; 1988).

O Vírus da Doença de Aujeszky (VDA) tem sua distribuição nos principais países produtores de suínos, os quais iniciaram oficialmente nos últimos anos, programas de controle e ou erradicação (VANNIER et alii, 1986; VALK, 1988).

As medidas de controle da DA variam de acordo com a política sanitária de cada país, recursos laboratoriais, forma de produção, associada geralmente às diferenças regionais e de densidade animal, entre outros (AMMENDRUP et alii, 1986; VANNIER et alii, 1986; THOW, 1988; VALK, 1988).

O centro de Pesquisas Veterinárias da Irlanda demonstrou uma crescente incidência da DA entre os anos de 1973 a 1980

e um declínio nos próximos três anos associado à introdução da vacina no ano de 1981 (KAVANAGH, 1986). Índices igualmente crescentes foram observados nos Estados Unidos entre os anos de 1974 (0,56%) e 1984 (8,78%) (THAWLEY et alii, 1982).

No Brasil, a DA foi descrita pela primeira vez por CARINI & MACIEL (1912) e, desde então, outros estudos sobre identificação de pequenos focos e controle foram realizados nos Estados de São Paulo (CARNEIRO, 1950); Rio Grande do Sul (BAUER, 1955); Rio de Janeiro (SILVA & DOBEREINER, 1960); Minas Gerais (HIPÓLITO et alii, 1960-61; SILVA & GIOVANE, 1961; SANTOS et alii, 1986); Santa Catarina (ROMERO et alii, 1984; SONCINI et alii, 1984; MARQUES & ROMERO, 1985).

Apesar destes estudos, pouco se sabe sobre a virulência de cepas isoladas e a possibilidade de erradicação da DA de criações extensivas de raças nativas.

Tendo em vista a importância das raças nativas no núcleo mineiro de preservação do suíno nacional, este trabalho visou principalmente à manutenção deste material genético e teve por finalidade:

a) erradicar um foco da DA, através de testes de SN e eliminação dos reagentes;

b) avaliar a virulência da amostra isolada por inoculação IN em suínos Piau e Landrace-Large White.





## 2. LITERATURA CONSULTADA

### 2.1. Epidemiologia

Os aspectos epidemiológicos do vírus da DA (VDA) em suíno baseiam-se no fato de que este é considerado hospedeiro natural e reservatório, e as espécies altamente susceptíveis (bovino, cão, gato) servem de alguma forma como monitoras de infecção inaparente (NARA, 1985).

A transmissão pode ser vertical e horizontal, e o aparecimento da doença está relacionado a fatores ligados à interação hospedeiro-vírus. Sabe-se que o VDA é geralmente introduzido por via oro-nasal através de aerossóis, água, cama, alimentos contaminados (GLOSTER et alii, 1984; NARA, 1985).

Um dado epidemiológico importante está ligado à transmissão do vírus. Sabe-se que, leitões são capazes de transmitir a doença por até 30 dias pós-inoculação (Mc FERRAN & DOW, 1973; MAES et alii, 1983). Com a utilização de técnicas, como cultura de fragmentos de tecido e cocultura, o VDA pode ser isolado em animais recuperados, de seis semanas a treze meses pós inoculação (BERAN, 1980).

O "stress" do transporte, variação de temperatura, os métodos de criação atual, entre outros, podem estar associa

dos a incidência e curso da DA em rebanhos contaminados (GUSTAFSON, 1986).

Surtos em rebanhos confinados levam a perdas maiores quando comparados com rebanhos em pasto ou criados em baias com maior espaço (NARA, 1985).

Granjas abertas, sujeitas ao recebimento de animais para reposição, proveniente de diferentes fontes, agrupados sem nenhuma medida de isolamento, podem causar a disseminação do problema em uma determinada região, caso seja feita a aquisição de animais em fase de latência (NARA, 1985).

HOWARTH & WEST (1981) analisaram 31 rebanhos sorologicamente positivos e, após três anos de medidas de controle da DA, verificaram que 10 propriedades mantiveram-se infectadas. Estas, classificadas como pequenas e médias, caracterizavam-se por práticas não intensivas e comercialização dos animais. Quando estes rebanhos eram considerados positivos, os proprietários raramente optavam pelo despovoamento como forma de controle. Em função dos animais não serem identificados individualmente, as perdas econômicas não eram reconhecidas, pois os que morriam de gastroenterite, pneumonia e poliartrite tornavam-se mais importantes. Os autores concluíram que, a prevalência de 4,8% da DIA nos rebanhos suínos da Califórnia não representava problema econômico sério. A maior parte da infecção era mantida por leitões regionais e por pequenas propriedades e não estava presente em nenhuma granja com manejo eficiente.

Estudos epidemiológicos demonstraram a importância do conhecimento de fatores de ambiente que podem alterar a viabilidade das diferentes amostras virais (DAVIES & BERAN, 1981).

DAVIES & BERAN (1981) relacionaram o pH e a temperatura como fatores importantes na sobrevivência do VDA fora de sua célula hospedeira. Utilizando amostra isolada no campo, verificaram que o material infectado excretado de animal com título de  $10^7$  pode ser viável por 10 dias quando mantido a  $37^{\circ}\text{C}$ , 40 dias a  $25^{\circ}\text{C}$ , 60 dias a  $15^{\circ}\text{C}$  e 120 dias a  $4^{\circ}\text{C}$ , se o pH for favorável. Assim, os autores concluíram que um ponto importan-

te na desinfecção de áreas contaminadas seria a remoção máxima dos dejetos dos animais, tratamento destes com álcalis ou ácidos que permitam pH abaixo de quatro ou acima de nove e posterior contato com raios ultravioleta, que atuam como efetivos inativadores.

## 2.2. Latência

O estado de portador é considerado como fator importante em um rebanho infectado. A infecção persistente existe quando o vírus pode ser isolado durante longo período (persistência crônica) ou quando o vírus não é mais isolado por métodos convencionais de rotina (persistência latente) (NARA, 1985).

As infecções latentes em suínos permanecem desconhecidas quanto à condição de seu estabelecimento e persistência, taxa de ocorrência, condições e duração para recrudescência (GUSTAFSON, 1986).

A latência é uma característica dos herpesvírus e é tida como um dos pontos mais problemáticos no controle da DA em suínos. A recuperação do vírus na mucosa oro-naso-faríngea por métodos convencionais é limitada a 10-25 dias pós-infecção (RAJCANI et alii, 1969; MAES et alii, 1983). Após a infecção inicial, o VDA desaparece em tempo variável e entra em estado de latência. Nesta fase, poderá voltar a ser eliminado após um período indefinido, quando submetido a estímulos ou em certas condições ("stress", condições climáticas extremas) (HOWARTH, 1969); parto (BERAN et alii, 1980), transporte (KEMMENY, 1981).

## 2.3. Sinais clínicos

A DA não possui sintomatologia constante nem patogenicidade específica em relação à sua ocorrência nas diferentes áreas epizooticas (SABO et alii, 1968; TUNG et alii, 1974).

Suínos de todas as idades e raças são susceptíveis, e forma clínica da doença depende da virulência da amostra, i-

dade, exposição prévia, dose e a via de infecção (NARA, 1985).

Em surtos de infecção natural, os sinais clínicos em suínos podem variar de uma leve condição de pirexia acompanhada por anorexia e depressão com baixa mortalidade, à síndrome severa com dispnéia, ataxia, convulsões epileptiformes resultando em alta mortalidade que pode exceder aos 80%. Estas diferenças nos sintomas clínicos em condições naturais são descritas por TUNG et alii, 1974; YANG et alii, 1984; IGLESIAS, 1987; Mc CULLOUGH & TODD, 1988, que sugerem a existência de diferentes amostras com diferentes graus de virulência e afinidade a tecidos. Todas as amostras afetam o SNC, mas algumas possuem maior predileção pelo sistema respiratório (BASKERVILLE, 1972; SONCINI et alii, 1984).

Várias amostras virais têm sido isoladas e mantidas em laboratório baseadas nas características do virion, em condições naturais e laboratoriais. As amostras NIA-1, neurotrópica, causa 5 a 20% de mortes em leitões de sete semanas; amostra NIA-2, com predileção pelo sistema respiratório, causa lesões no fígado e severa rinite e apresenta mortalidade semelhante a NIA-1; amostra NIA-3 leva à mortalidade de 13 a 20% em leitões de 14 a 20 semanas de idade e 80 a 100% em leitões de até sete semanas; e a amostra NIA-4, não patogênica a nenhuma espécie animal até hoje testadas. Outras amostras com reduzida patogenicidade incluem, K, SUCH I e amostras vivas avirulentas (Alva). As amostras virulentas correspondem a amostra Shope, Dekkinge (ambas de infecção moderada) e a amostra altamente infecciosa (Indiana e Iowa) (NARA, 1985).

O desenvolvimento de características clínicas em inoculações experimentais por via intranasal (IN), subcutânea (SC) e oral (VO), apresentam-se semelhantes. Sabe-se que, na inoculação IN, o vírus é isolado em período menor, pois chega ao SNC mais rapidamente e apresenta lesões mais severas (dois dias pós inoculação). Em inoculações IN, os sinais clínicos iniciam-se a partir de três dias e pela VO somente após seis dias. SABO et alii (1968) sugeriram a via IN, como de escolha para o su-

cesso das infecções experimentais.

Os títulos sorológicos colostrais de fêmeas infectadas experimental ou naturalmente com o VDA podem ser de duas a dezesseis vezes maiores do que os anticorpos circulantes, mas diminuem rapidamente em 24 horas. Esses níveis foram determinados como sendo de proteção contra sinais clínicos, mas não contra a infecção subclínica e eliminação do vírus. A imunidade materna é um fator individual, pois leitões de uma mesma leitegada podem apresentar níveis variáveis de anticorpos (BASKERVILLE, 1972; Mc FERRAN et alii, 1973).

BASKERVILLE (1972), inoculando doses variáveis da amostra NIA-2 do VDA em dois grupos de leitões divididos em animais procedentes de histerectomia e desprovidos de colostro e de manejo convencional, procurou relacionar dose inoculada com severidade dos sinais clínicos. O início do aparecimento dos sintomas ocorreu em menor período, e a severidade e extensão das lesões pós-morte no sistema nervoso e sistema respiratório foi maior no grupo de animais inoculados com doses mínimas observou-se sinais de curta duração e recuperação. O grupo desprovido de colostro apresentou-se mais susceptível, ou seja, sintomatologia e mortalidade precoce mesmo em doses mínimas, quando comparado com o grupo de manejo convencional. Desde que os sinais clínicos do trato respiratório precedem o do sistema nervoso, muitos leitões que morreram em estágio inicial da doença não apresentaram distúrbios nervosos. Este fato pode provocar dificuldades de diagnóstico diferencial a nível de campo.

Mc FERRAN et alii (1973) verificaram que, em leitões imunizados, provenientes de fêmeas infectadas experimentalmente e desafiados com três dias de idade, uma correlação entre sobrevivência e níveis de anticorpos. Ao contrário destes, os leitões susceptíveis (provenientes de fêmeas com título < 1:2) apresentaram sintomatologia em período menor e morte ao 5º dia. Levando em consideração os níveis de anticorpos normalmente verificados em fêmeas no pós-parto, a duração da imunidade corresponde à duração dos anticorpos colostrais (três a oito se-

manas), descrita em leitões que não foram desafiados (KOMANIWA et alii, 1986).

O tempo de eliminação do VDA é variável de acordo com as diferentes amostras virais. Com o objetivo de demonstrar a eliminação do VDA, MAES et alii (1983) inocularam, por via intranasal, em doses variáveis, duas amostras virulentas (P220B e KC 152-D) e uma atenuada (BUK) em grupos de suínos de seis a 10 semanas de idade. Em condições experimentais, as inoculações com baixas doses do VDA aproximam-se mais a realidade de do campo. Assim, um animal recém introduzido no rebanho, que passou pela fase clínica, mas ainda está eliminando vírus, pode contaminar um animal susceptível, inicialmente a partir de doses mínimas. Uma vez a infecção instalada, a eliminação do vírus é contínua e, durante o experimento, foi de pelo menos 21 dias, mas sabe-se que na de campo, esta eliminação acompanhada individualmente, pode ser de até 30 dias (Mc FERRAN et alii, 1973). Já experimentalmente, o VDA pode ser eliminado de seis a 13 meses pós-inoculação e recuperação do animal (BERAN et alii, 1980).

#### 2.4. Achados anátomo-histopatológicos

Os achados de necropsia não são considerados como de importância para o diagnóstico da DA pela falta de lesões macroscópicas observadas nos animais afetados. Geralmente estas são verificadas com mais frequência em animais lactentes ou recém desmamados. As lesões variam com a fase da doença e via de inoculação. Se o animal é examinado no início dos sintomas nervosos, haverá uma grande congestão de meninges acompanhada por aumento do líquido cefalorraquidiano (GUSTAFSON, 1986).

A histologia está predominantemente ligada a lesões do sistema nervoso central (SNC) e patogenicidade de cada amostra (CORNER, 1965; NARITA et alii, 1984). Sabe-se que a rota neural é a mais importante para a distribuição do vírus e consiste principalmente em meningoencefalite não supurada, gliose

focal e difusa, ganglioneurite, neuronofagia e degeneração neuronal e glial (OLANDER et alii, 1966; NARA, 1985; GUSTAFSON, 1986).

Geralmente, a distribuição de lesões depende da via experimental de inoculação. Em suínos inoculados por via intranasal, amígdalas, mucosa nasofaríngea e a região anterior do SNC estão freqüentemente lesadas. Essas lesões serão mais severas, quando comparadas a animais inoculados por via subcutânea (SABO et alii, 1968; TUNG et alii, 1974).

## 2.5. Diagnóstico

### 2.5.1. Viroológico

O diagnóstico é baseado no isolamento e identificação do vírus. O vírus é isolado em cultivo celular e identificado por SN e imunofluorescência (IF) (CRANDELL, 1985; GUSTAFSON, 1986).

A distribuição de lesões e disseminação do vírus é variável e depende da via de inoculação, duração da infecção e amostra viral. Os tecidos de eleição para isolamento são amígdala, linfonodos cervicais, mucosa nasal, cérebro, pulmão e glândulas salivares entre outros (TUNG et alii, 1974; GUSTAFSON, 1986).

SABO et alii (1968, 1969), considerando as três vias de inoculações experimentais, oral, nasal e subcutânea, concluíram que para isolamento da amostra virulenta CVOS, da DA, os materiais preferenciais seriam amígdala, linfonodo cervical e mucosa nasal, nervo trigeminal e bulbo olfatório. Os resultados negativos obtidos na imunofluorescência e histologia das amostras coletadas do pulmão diferiu de resultados de vários autores, que o consideravam importante órgão para desenvolvimento e isolamento em casos de campo do VDA. Esta discrepância de resultados se deve à diferença das amostras virais e sua afinidade aos tecidos pulmonares.



Quanto a viabilidade do vírus, sabe-se que, fora de suas células hospedeiras, é dependente da presença de hidratação, proteína, temperatura e pH (GUSTAFSON, 1986).

O VDA é isolado em uma grande variedade de cultivos celulares de mamíferos e aves, sendo eles fibroblasto de galinha, rim de suíno (PK), rim de ovino (LK), rim de bovino (MDBK), VeropK, BHK, entre outros (NARA, 1985).

Dois tipos de efeito citopático (ECP) podem ocorrer em cultura de célula, ou seja, um formado principalmente por sincícios e outros por células arredondadas, altamente refratárias (balloon). Anterior ao arredondamento ocorre a dissolução da membrana de células vizinhas no foco do efeito, formando ocasionalmente células gigantes. O ECP pode então progredir para a completa destruição celular e limitar-se a deixar a lâmina de célula livre da parede do tubo de cultivo, margeada de células infectadas. Isto ocorre quando as doses infectantes são baixas (NARA, 1985; GUSTAFSON, 1986).

As características do ECP em cultivos celulares pode indicar que a amostra é virulenta quando associada à formação de sincícios, enquanto que amostras atenuadas são mais aptas a formarem células infectadas arredondadas (BITSH et alii, 1980; CRANDELL, 1985; Mc CULLOUGH et alii, 1988).

IGLESSIAS (1987), com o objetivo de comparar a virulência de duas cepas do VDA isolado em um foco na Inglaterra, inoculou dois grupos de leitões em idades de dez semanas. Cada grupo foi dividido em animais infectados por inoculação intranasal e por contato. As amostras utilizadas apresentavam comportamentos diferentes em cultivo celular e foram denominadas de R (com formação de células arredondadas) e S (sincícios). Os animais inoculados e expostos por contato com a amostra S demonstraram uma infecção aguda e manifestações clínicas evidentes, a partir de cinco dias. Neste grupo houve uma taxa de sobrevivência de 30%, sendo que estes apresentaram aumento de títulos de Ac neutralizantes. No grupo inoculado com amostra R, observaram-se leves sinais clínicos a partir de oito dias, sem



mortalidade e desenvolvimento de títulos baixos.

Sabe-se que uma amostra virulenta pode sobreviver em animais experimentalmente inoculados, por um longo período, sem causar sintomatologia, e o VDA pode ser isolado em outros órgãos se não o SNC, mas as lesões observadas, não parecem ser de grande importância (TUNG et alii, 1974; BERAN et alii, 1980).

BERAN et alii (1980), combinando técnicas de fragmento e cocultura, detectaram o VDA em leitões infectados experimentalmente, às seis semanas de idade, durante 13 meses pós infecção. O vírus foi isolado com maior frequência nas amígdalas, gânglio trigeminal, "pool" de gânglio trigeminal, bulbo olfatório e nervo-ótico do que em outros tecidos. Não houve isolamento após três semanas de infecção por técnicas de isolamento convencionais. Por não haver coleta de material seriada durante o curso do experimento, ficou difícil determinar se o VDA nesses tecidos persistiu por extensos períodos como infecção ou se ocorreu a recrudescência.

A identificação do VDA por imunofluorescência direta (IFD) é um método de grande sensibilidade. Diferente do teste de soroneutralização (SN), o processo não proporciona amostragem em larga escala mas, é simples e rápido (NARA, 1985).

O antígeno viral é detectado por fluorescência em áreas perinucleares de cultivo como altos títulos até seis horas pós inoculação. A partir daí, a área de fluorescência vai se estendendo por todo o citoplasma e, com 16 horas, o ECP tende a provocar ruptura da estrutura celular e núcleo. Nesta fase, todo o complexo celular fluoresce (STEWART et alii, 1967; NARA, 1985; GUSTAFSON, 1986).

O VDA produz inclusões intranucleares em neurônios do SNC, dos gânglios espinhais e em outros tecidos, como, por exemplo, das amígdalas, mucosa nasal e faríngeana, nódulos linfáticos, tanto em infecções experimentais quanto naturais (GUSTAFSON, 1986).

### 2.5.2. Sorológico

Os testes sorológicos mais utilizados são soroneutralização (SN); imunodifusão em ágar-gel (IDGA); microimunodifusão; Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA); microradioimunoensaio fase sólida indireta, fixação de complemento, hemaglutinação indireta, entre outros (CRANDELL, 1985).

O "Animal Plant Health Inspection Service" (APHIS), ligado ao departamento de Agricultura dos Estados Unidos, preconiza, para diagnóstico da DA, os testes SN e ELISA, como oficiais (CRANDELL, 1985).

O teste de SN tem alta especificidade e sensibilidade, quando comparado com outros testes de triagem, mas as reações falso positivas e falso negativas podem ocorrer. O falso positivo é observado quando em baixos títulos (1:2 ou 1:4). Estes são considerados positivos a 1:2 pela maioria dos pesquisadores (BASKERVILLE, 1972; WHIGHT et alii, 1982), mas outros consideram 1:2 como suspeito e 1:4 como positivo (ELIMINATING, 1982). Um resultado positivo no teste de SN indica que a infecção ocorreu sete a 12 dias antes da coleta da amostra. Um teste negativo indica que o animal não foi infectado nos últimos sete a 12 dias da coleta (THAWLEY et alii, 1982).

O sangue colhidos para teste de SN é frequentemente tóxico para as células. A toxicidade é resultado de fatores, como resíduos de detergente e antissépticos em tubos, rolhas, seringas de coleta e bactérias. Espera-se que entre 0,5 - 1% de amostras de sangue (observando taxas maiores no verão), apresentem-se citotóxicas, necessitando repetição da coleta (BANKS & CARTWRIGHT, 1983; ROMERO, 1985; GUSTAFSON, 1986).

Os testes sorológicos não diferenciam anticorpos maternos (passivos) e anticorpos ativos, nem animais em estado de latência. Assim, ao se testar animais novos, ou recentemente introduzidos no rebanho, deve-se considerar a interpretação dos resultados e cuidados epidemiológicos como a quarentena (CRANDELL, 1985).

## 2.6. Controle

Para se selecionar uma estratégia de controle da DA, deve-se levar em consideração fatores epidemiológicos relacionados principalmente com o rebanho, ou seja, tipo (reprodução ou terminação), tamanho da granja, prevalência do VDA no rebanho e na região, valor do material genético, manejo (nº de animais/baia, quarentenário, tipo de unidade), facilidade de reposição animal, histórico de vacinação ou de sinais clínicos da doença (THAWLEY et alii, 1982).

Esses fatores devem ser analisados antes de qualquer decisão sobre a metodologia de controle, tendo, como objetivo, selecionar uma estratégia com alta probabilidade de sucesso, com o mínimo de alteração de manejo ou perda financeira (THAWLEY et alii, 1982).

Os planos de controle constituem-se de segregação das leitegadas, despopulação e repopulação e de teste-eliminação (ELIMINATING, 1982; THAWLEY et alii, 1982).

A segregação de leitegadas é uma estratégia recomendada para rebanhos de alto valor genético, onde se tem uma prevalência < 50% de taxa de animais sorologicamente positivos em declínio ou estável. Caracteriza-se por eliminação de todas as porcas após o desmame, segregação e teste das leitegadas em unidades para isolamento e, teste de todos os machos (ELIMINATING, 1982; THAWLEY et alii, 1982).

O método de despopulação e repopulação é válido em rebanhos de pouco valor genético, alta prevalência de animais positivos (> 50%), apresentando a doença em progressão, com evidente aparecimento de novos casos clínicos, tornando-se impraticável outro tipo de estratégia. O rebanho, caracteriza-se por ser de confinamento total, mantendo unidades de aeração comum. A medida é de custo elevado que interrompe o manejo normal da granja e é utilizada quando não se tem outra opção (ELIMINATING, 1982; THAWLEY et alii, 1982).

O teste de eliminação são utilizados em rebanhos com

baixa taxa de infecção (< 50%), apresentando animais positivos com baixos índices de anticorpos (títulos  $\leq$  1:16). É recomendável quando se deseja a manutenção do material genético, mas não é bem sucedido se a infecção se encontra sob forma ativa, com rápida distribuição no rebanho que, se apresenta, em geral, altamente confinado. É caracterizado por sorologia de todos os animais, eliminação dos positivos, com retestes a cada trinta dias. O rebanho será considerado negativo após dois testes sorológicos consecutivos, recomendando-se retestes de 25% do rebanho a cada quatro meses. Apresenta-se como uma forma de controle de baixo custo, que não interrompe o manejo e o curso normal de abate. Se ao final de quatro testes positivos deve-se considerar outra estratégia (ELIMINATING, 1982; THAWLEY et alii, 1982).

Quanto à vacinação, como forma de controle, é importante levar em consideração que, uma vez instalado em um rebanho, o VDA pode multiplicar-se e persistir após infecção em animais imunizados com a vacina inativada ou viva. Assim, a vacinação contra a DA reduz perdas econômicas associadas à mortalidade, à perda de peso de suínos em crescimento e transtornos reprodutivos em porcas gestantes, porém não elimina o fato de que este rebanho pode tornar-se um potente foco de infecção ou até mesmo de animais com infecção latente (SABŐ & RAJCANI, 1976; WITTMANN et alii, 1980; CRANDELL, 1985).

Com o objetivo de determinar a eficácia do teste-eliminação e a vacinação (vacina viva modificada) como forma de controle da DA, WRIGHT et alii (1982), acompanharam 18 rebanhos no Estado de Missouri. Dentre estes, 10 foram submetidos ao teste-eliminação e oito à vacinação, sendo que cinco eram sorologicamente positivos e três sorologicamente negativos, onde apenas as fêmeas eram vacinadas. Os rebanhos considerados foram de raças puras, terminação e comerciais. Apesar de alguns dos rebanhos apresentarem taxas de prevalência < 50% para DA, o teste eliminação demonstrou eficácia em dez dos 10 rebanhos acompanhados. Não houve possibilidade de comparação entre os

dois métodos de controle, uma vez que a maioria dos rebanhos submetidos à vacinação possuíam histórico de sintomatologia clínica, enquanto que, para os rebanhos submetidos ao teste eliminação, a maior parte foi diagnosticada por sorologia. Em três dos cinco rebanhos sorologicamente positivos vacinados, houve evidências de que o vírus continuou circulando pela introdução de mães e machos negativos, que soroconverteram após um mês de permanência no rebanho. Em outro rebanho submetido à vacinação, apesar de não ser possível o isolamento do vírus em suas leitegadas, estas mantiveram-se com títulos persistentes por um período de até trinta semanas de idade. Esses títulos podem ser considerados resposta à vacinação ou persistência da infecção pelo vírus de campo.

ROMERO et alii (1986) erradicaram o VDA de seis plantéis reprodutivos de suínos através do teste-eliminação. As taxas de infecção detectadas nos plantéis foram de 17%; 1,5%; 21,1%; 2,1%; 5,2%; e 0,4%. O intervalo entre sorologias consecutivas variaram entre quatro e vinte e oito semanas e o tempo necessário para erradicação foi de dois a três testes. Os autores concluíram que, em alguns casos, houve necessidade de realizar um maior número de sorologias para erradicação da DA, devido aos maiores intervalos entre dois testes consecutivos.

Um dos mais importantes problemas a se considerar em relação ao controle da DA é a incapacidade de se detectar suíno portador, tido como responsável pela persistência do vírus em rebanhos recuperados. Considerando este fato, BERAN (1980) apresentou a biópsia de amígdala como de extremo valor para a adoção de medidas de controle, principalmente por impedir o sacrifício de animais.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Granja

O núcleo mineiro de preservação de raças suínas nativas foi implantado em 1980, na Fazenda Experimental "Prof. Hélio Barbosa", (FEHAB) pertencente à UFMG, localizada no município de Igarapé, a 55 km de Belo Horizonte, tendo por objetivo preservar, caracterizar e selecionar as raças nacionais.

O presente trabalho foi desenvolvido naquele núcleo, concomitantemente com outros dez projetos ligados principalmente à área de reprodução, genética e nutrição.

O plantel foi iniciado a partir de 26 fêmeas e 14 machos Piau, adquiridos de pequenas criações dos municípios de Curvelo, Luz, Uberlândia e Passa Tempo, em Minas Gerais. Atualmente esta raça representa 86,78% do total do rebanho. Posteriormente, foram introduzidos suínos das "raças" Caruncho, representando 8,08% do rebanho; Pirapetinga, 1,91%; Mundi, 1,91%; Nilo, 0,73%; Casco de burro, 0,59%.

As fêmeas eram mantidas em regime semi extensivo até duas semanas antes do parto, numa área de sete hectares, dividida em piquetes de 300 m<sup>2</sup> de terra e vegetação natural. Na fase de parição, essas fêmeas eram confinadas nas baias de parição com seis m<sup>2</sup>, cimentadas e com solário. A partir de duas semanas pós-parto, até 42 dias (desmama), duas a três porcas

eram agrupadas com as leitegadas em baias de 12 m<sup>2</sup> cimentadas, com solário, para aleitamento coletivo. Após a desmama, as fêmeas permaneciam em baias semelhantes às do aleitamento coletivo, próximas às dos machos e depois eram levadas para piquetes, com o rufião. Os varrões eram confinados em baias individuais, cimentadas, de seis m<sup>2</sup> com solário. Da desmama até 105 dias, os leitões permaneciam na creche, quando estavam prontos para a venda. Esta era constituída de piquetes semelhantes aos das fêmeas gestantes.

A partir de 1988, a estrutura da granja foi mudada. As fêmeas gestantes, passaram para baias coletivas (seis em cada baia) de aproximadamente 16 m<sup>2</sup>, cimentadas, providas de solário e com divisórias em telas, sem acesso a piquetes. Essas novas instalações são adjacentes à maternidade. Quanto à fase de parição, lactação e creche, o manejo permaneceu o mesmo dos anos anteriores.

A alimentação desses animais é constituída de ração balanceada, à base de milho e soja, conforme o NRC, para as diversas categorias, com fornecimento esporádico de verde, duas vezes/dia.

O controle sanitário limita-se à vacinação contra pneumoenterite dos leitões em idade de 21 a 42 dias. Em meados de 1988, após um surto de salmonelose, foi introduzida a vacina autógena em leitões com 21 e 42 dias e fêmeas a duas semanas antes do parto. A vacinação contra peste suína clássica era feita, mas sem registro até 1988. A partir daí, a vacinação passou a ser de rotina em leitões após a desmama, fêmea aos setenta e noventa dias de gestação e nos varrões, anualmente.

Ao início do experimento verificaram-se casos de aborto e natimortos, atribuídos a causas não identificadas ou por falta de controle sanitário eficiente.

Quanto à limpeza e desinfecção, foi recomendada a utilização do hipoclorito de sódio a 2% e vazios sanitários das baias.

O controle de endo e ectoparasitos foi feito com um maior rigor a partir de 1988. Utilizou-se pulverizações de quatro em quatro meses contra sarna e hemotopinus (três banhos, um/semana) com Neguvon Assunto1\* ou Triatox.\*\*

### 3.2. Sorologia

Foram colhidos um total de 1611 soros, de 60/60 dias de todo o rebanho suíno da FEHB.

A idade de colheita foi estabelecida inicialmente acima de quatro meses, mas, a partir da sétima, a idade limite passou a ser de dois meses.

A colheita foi efetuada com agulha 100 x 20, introduzida na veia jugular ou na cava cranial.

Os soros, coletados em tubos estéreis, após o desossamento, eram acondicionados em geladeira, entre 2 a 3°C.

O soro era então enviado para o Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA\*\*\*), onde se processou o teste de SN. Para realização deste teste, o laboratório utiliza a célula SK-6, cepa de vírus 936 LANARA e protocolo próprio com técnica padronizada.

### 3.3. Virologia

Dos 63 animais sorologicamente positivos abatidos (títulos  $\geq$  1:2), foram colhidos fragmentos de amígdala, pulmão e placenta para isolamento do vírus.

As amostras colhidas, separadas em grupos de sete, e foram estas transportadas sob refrigeração ao laboratório e congeladas a -20°C até o processamento.

O grupo selecionado para isolamento em célula, ca-

---

\* BAYER do Brasil S/A.

\*\* COOPER'S - Brasil S/A.

\*\*\* LANARA-MA - CP 50 - Pedro Leopoldo-MG.



mundongo e coelho constou, de três suínos, sendo eles: animal nº 1 (título 1:8), com amostras colhidas de amígdala (A1), e pulmão (P1); animal nº 2 (1:16), com amostras colhidas A2, P2 e PL2 (placenta) e animal nº 3 (1:8) com amostras de A3 e P3. Este grupo sofreu um período de estocagem de 60 dias.

O procedimento de técnica era feito por maceração de um grama de cada amostra a qual acrescentou-se solução salina fosfatada 1:10 (PBS), pH 7,2; em seguida, após homogeneização, centrifugou-se por 20 minutos a 5000 g a 4°C por duas vezes, separando-se o sobrenadante. Este foi tratado com antibiótico e fungicida (1000 UI penicilina G potássica\*, 1000 µg de sulfato de estreptomicina\*, e 50 mg de anfotericina B\*\*/ml) "over night" a 4°C, quando se processou nova centrifugação para ser utilizado imediatamente ou estocado a -80°C para posterior inoculação em célula, camundongo e coelho.

### 3.3.1. Inoculação em célula

Para a pesquisa do vírus, foi utilizada célula de linhagem PK15. Utilizaram-se quatro tubos de ensaios de cultivo celular para cada amostra, lavados duas vezes em PBS e posteriormente inoculados com 0,2 ml do inóculo previamente preparado e inoculados a 37°C por 60 minutos. Findo este período, os tubos recebiam 1,5 ml do meio de manutenção (MM), retornavam à estufa e eram observados ao microscópio a cada 24 horas, por quatro dias consecutivos, para constatação de efeito citopático característico (ECP).

O material foi considerado negativo após sofrer quatro passagens sucessivas.

Os tubos considerados positivos foram submetidos a três ciclos de congelamento e descongelamento e inoculados em tubos de Leighton com lamínula (0,2 ml). Com 50 a 60% de ECP,:

---

\* Indústria Farmacêutica Fontoura Wyeth S/A.

\*\* Squibb - Indústria Química S/A.

estas eram fixadas e coradas para exame por imunofluorescência direta (IFD).

As lamínulas positivas, fixadas em acetona fria, foram conjugadas contra antissoro anti-Aujeszky marcado pelo isotiocianato de fluorescência (ITCF) e incubado em câmara úmida por 30 minutos a 37°C. A lamínula, posteriormente lavada com PBS, pH 7,2, por períodos de 15 minutos, eram enxaguadas rapidamente em água destilada, e após secarem em temperatura ambiente, eram montadas com glicerina tamponada, pH 8,5, e examinadas. Utilizaram-se, como controle positivo, células inoculadas com o vírus de referência.

### 3.3.2. Inoculação em camundongo

Camundongos de 21 dias foram separados em grupos de quatro animais/amostra. Cada grupo foi inoculado por via intracerebral com 0,03 ml de inóculo original, dos materiais A1, P1, A2, P2, PL2, A3, P3.

Além dos inóculos originais, os camundongos também foram inoculados com suspensões (diluídas em PBS 1:5) provenientes da 1ª, 2ª, 3ª, e 4ª passagens em PK15 destes mesmos inóculos.

Os animais foram observados durante oito dias pós-inoculação e, ao morrerem, foram necropsiados e feito "clap" cerebral em lâminas fixadas e coradas para exame pela IFD.

### 3.3.3. Inoculação em coelho

Num total de 21 coelhos, com idade entre oito a dez semanas, foram inoculados por via subcutânea (SC) na dose de três a cinco ml de inóculo original (macerados tratados, de amígdala e pulmão). Este material era proveniente dos animais positivos com títulos variáveis entre 1:4 a 1:64. Os coelhos foram observados durante um período de oito dias.

### 3.3.4. Inoculação em suíno

#### 3.3.4.1. Inoculação intranasal

Foram inoculados por via IN quatro grupos compostos de quatro leitões cada, sendo, Grupos I e III, leitões Landrace-Large White (proveniente de desmama precoce medicada) e, Grupos II e IV, Piau (nativo), todos com idade de cinco semanas (TAB. I).

Embora o rebanho seja constituído de várias raças nativas, a inoculação IN foi realizada em Piau, por ser este de maior representatividade no rebanho trabalhado.

A suspensão utilizada no Grupo I (raça industrial) e o Grupo II (raça nativa) foi isolada de amígdala de animal proveniente do rebanho em estudo, com título sorológico de 1:16.

O material, isolado em célula MDBK (Mardin e Darby bovine Kidney), foi executado como descrito em 3.3.1. apresentando ECP a partir da 3ª passagem. A linhagem PK15 teve problemas no laboratório, porém o experimento prosseguiu-se com a linhagem MDBK.

O Grupo III (raça industrial) e o Grupo IV (raça nativa) foram inoculados com cepa isolada em foco clínico da DA (CNPSA, VDA, 227/83). O Grupo V foi mantido como controle.

Quanto ao peso inicial dos animais, observou-se uma grande diferença, relacionada principalmente ao manejo e raça. Assim, o Grupo I apresentou peso médio de 5,9 kg; o Grupo II, 1,5 kg; o Grupo III 6,6 kg e o Grupo IV, 2,9 kg.

A titulação das suspensões utilizadas foi feita por diluições decimais, inoculadas sobre células cultivadas em tubos de ensaio. Utilizou-se 0,2 ml da suspensão viral em quatro tubos de cultivo, por diluição ( $10^{-1}$  a  $10^{-9}$ ), incubando-se a  $37^{\circ}\text{C}$  por 60 minutos, em seguida, acrescentaram-se 1,8 ml de meio de manutenção (MM) com 2% de soro fetal e os tubos retornavam à estufa, procedendo-se a última leitura microscópica após 72 horas. Calculou-se então, o título infectante do vírus, pelo mé

TABELA I - Grupos de suínos Piau e Landrace-Large White inoculados com amostra isolada na FEHB e com amostra referência (AR)

Grupo	Número animais inoculados	Raça	Amostra inoculada
I	4	LLW*	FEHB
II	4	Piau	FEHB
III	4	LLW*	AR
IV	4	Piau	AR

\* = Landrace-Large White

todo, REED & MUENCH (1938).

As doses utilizadas foram de  $2 \times 10^{7.25}$  TCD<sub>50</sub>/ml nos Grupos I e II e de  $2 \times 10^7$  TCD<sub>50</sub>/ml, nos Grupos III e IV.

Foram observados os sinais clínicos (descarga nasal, espirro, apatia, taquipnéia, quadro nervoso), controle de peso e temperatura.

Todos os grupos foram previamente testados (SN negativa) e acompanhados sorologicamente a cada quatro dias. Ao morrerem, foi realizada necropsia e colhidos fragmentos de amígdala, pulmão e sistema nervoso ("pool" de cortex cerebral, cerebelo e medula), para sorologia isolamento e histopatologia.

O procedimento para o isolamento foi o mesmo utilizado no item 3.3.1. e a célula trabalhada também foi a MDBK.

#### 3.3.4.2. Lesões anátomo-histopatológicas

Os animais foram examinados macroscopicamente e, a seguir, colheram-se fragmentos de amígdala, pulmão e SNC (cêrebro) para histopatologia.

Este material, fixado em formol neutro a 10% por 24 a 48 horas, foi recortado, lavado em água corrente, desidratado, diafanizado, infiltrado pela parafina, laminado a cinco milímetros, corado pela técnica da Hematoxilina-Eosina (LUNA, 1968) e examinado ao microscópio ótico.



## 4. RESULTADOS

### 4.1. Sorologia

Neste trabalho, foram realizadas nove sorologias intervaladas de dois meses, que estão relacionadas na TAB. II.

Pela instabilidade deste núcleo de suínos, vários da dos encontravam-se incompletos e imprecisos. Faltavam fichas individuais, e a venda de leitões tinha controle deficiente. O número total do rebanho variou freqüentemente devido ao nascimento e venda de animais.

### 4.2. Virologia

#### 4.2.1. Inoculação em célula

O VDA foi isolado das quatro amostras, A1, P1, A2, P3. A amostra A2 apresentou ECP a partir da 2ª passagem em célula, após 48 horas de inoculação, enquanto as demais a partir da 3ª passagem e com 24 horas.

As amostras identificadas pela IFD foram A1, P1, e P3 na 4ª passagem e A2 na 2ª passagem (TAB. III).

#### 4.2.2. Inoculação em camundongos

Os camundongos inoculados com as sete amostras (i-

TABELA II - Sorologia realizada no rebanho suíno da granja da Fazenda Experimental "Professor Hêlio Barbosa" (FEHB)

Teste número	Total rebanho		Leitões em aleitamento		Leitões 45 - 105 dias		Varrões		Reposição		Total coltado		Soros tox.		Títulos sorológicos (SN)	
	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0	0	1:2 a 1:64
2	221	74	70	40	21	16	-	111	0	-	111	100	0,90	1	0,90	-
3	400	74	193	77	20	36	-	141	1	0,7	140	99,29	14	9,92	1:8	
4	437	65	77	273	18	4	-	231	0	-	231	100	0	-	-	
5	512	56	121	318	17	-	-	165	0	-	165	100	13	7,88	-	
6	446	50	52	322	15	7	-	72	1	1,39	71	98,61	0	-	1:2	
7	412	56	97	213	23	19	4	120	1	0,83	119	99,17	2	1,66	1:4	
8	440	55	100	247	23	15	-	302	2	0,66	300	99,33	4	1,32	1:2 e 1:32	
9	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	151	0	-	151	100	0	-	-	

ND = Não determinado.

WORLD III - Resultado do Análise do IFA em células IN15, e da IFD de, material colúico de três suínos sorológicos entre os agentes provenientes da granja de IFAB

Animal número	Título	Material colúico*	Efeito citopático em células IN15 (ECP)				
			1P**	2P	3P	4P	IFD (+)
1	1:8	A	-	-	S***	+	4P
		P	-	-	S	+	4P
2	1:16	A	-	-	-	+	2P
		P	-	-	-	-	-
		PL	-	-	-	-	-
3	1:8	A	-	-	-	-	-
		P	-	-	S	+	4P

A\* = Amígdala

P = Pulmão

PL = Placenta

1P\*\* = 1ª passagem celular

2P = 2ª passagem celular

3P = 3ª passagem celular

4P = 4ª passagem celular

S\*\*\* = Material sorológico de suínos sorológicos



núcleo original) do primeiro grupo, trabalhadas no rebanho, não apresentaram nenhuma reação nervosa ou morte.

Porém, quando inoculadas com essas mesmas sete amostras, mas passada em célula PK15, após apresentaram ECP, observou-se sintomatologia característica da DA. Assim, as amostras A1 na 3ª passagem e A2 na 2ª apresentaram 70% de morte. Já as amostras A1 e P3 na 4ª passagem e P1 e A2 na 3ª e 4ª passagens apresentaram 100%.

A IFD foi positiva em esfregaços dos cérebros de camundongos inoculados com a amostra A2, 2ª passagem; A1 e P1, 3ª passagem e P3, 4ª passagem (TAB. IV).

Julgou-se desnecessário trabalhar com outros grupos, visto que logo de início foi obtido o isolamento do VDA.

#### 4.2.3. Inoculação em coelho

Vinte amostras obtidas de 13 suínos, cujos títulos variavam de 1:2 até 1:64; quando inoculados em coelhos, não produziram doença.

Estas amostras foram conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  e processadas para inoculação num período de 60 a 90 dias.

#### 4.2.4. Inoculação em suínos

##### 4.2.4.1. Quadro clínico

Os sinais clínicos iniciaram-se no 2º dia pós inoculação (p.i.).

O quadro respiratório, representado inicialmente por secreção nasal e espirros, foi observado a partir de quatro dias, sendo mais severo nos grupos I e III (TAB. V, VI e VII).

O quadro nervoso, observado também a partir do 4º dia p.i., foi mais acentuado no Grupo IV. A partir do 6º dia p.i., todos os grupos apresentaram-se com dificuldade de levantar, desidratados, apáticos, convulsões constantes, tremores mus

TABELA IV - Resultados da inoculação de camundongos com material colhido de três suínos sorologicamente positivos, e provenientes da FEHB, segundo número de passagens em PK15 e IFD

Animal número	Título	Material colhido*	Inoculação em camundongos**				IFD (+)	
			Inóculo original	1P	2P	3P		4P
1	1:8	A <sub>1</sub>	0/4	0/4	0/4	3/4	4/4	3P
		P <sub>1</sub>	0/4	0/4	0/4	4/4	4/4	3P
2	1:16	A <sub>2</sub>	0/4	0/4	3/4	4/4	4/4	2P
		P <sub>2</sub>	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	-
		PL <sub>2</sub>	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	-
3	1:8	P <sub>3</sub>	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	4P

A\* = Amígdala

P = Pulmão

PL = Placenta

\*\* = Positivos/inoculados



TABELA V - Início e grau de severidade dos sinais clínicos em leitões da "raça" Piau e Landrace-Large White inoculados por via IN com amostra de VDA isolada do rebanho suíno da FEHB e amostra de referência

Severidade dos sinais clínicos	Evolução clínica nos grupos inoculados - dias**			
	Amostra FEHB		Amostra de referência	
	I*	II	III	IV
Hipertermia	2	ND	2	2
Apatia	3+	2+++	3+	3+
Secreção nasal, espirros	4++	4+	4++	4+
Taquipneia	4+	2+	4+	4+
Constipação	5+	4+	4+	4++
Sintomas nervosos	4++	±	4++	4+++
Morte	5-7	3-6	6-7	5-7

Grupo I\* = Landrace-Large White (quatro leitões)

Grupo II = Piau (quatro leitões)

Grupo III = Landrace-Large White (quatro leitões)

Grupo IV = Piau (quatro leitões)

\*\* = Severidade dos sinais clínicos

± = Sinais inconstantes em poucos animais

+ = Sinais clínicos em grau leve

++ = Sinais clínicos em grau moderado

+++ = Sinais clínicos em grau severo

ND = Não determinada

TABELA VI - Quadro clínico do grupo de leitões Landrace-Large White inoculados com amostra isolada na FEHB (Grupo I)

Sinais Clínicos	D i a s						
	1	2	3	4	5	6	7
Hipertermia	0/4*	3/4	4/4	3/4	3/3	3/3	0/0
Apatia	0/4	0/4	4/4	4/4	3/3	3/3	0/0
Secreção nasal, espirros	0/4	0/4	4/4	4/4	2/3	2/3	0/0
Taquipneia	0/4	0/4	0/4	2/4	2/3	2/3	0/0
Sintomas nervosos	0/4	0/4	0/4	4/4	3/3	3/3	0/0
Morte	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/3	3/3

\* = Animal com sinal clínico/grupo

TABELA VII - Quadro clínico dos grupos de leitões Piau inoculados com amostra isolada na FEHB (Grupo II)

Sinais clínicos	D i a s					
	1	2	3	4	5	6
Hipertermia	NO*	NO	NO	NO	NO	NO
Apatia	0/4**	4/4	3/3	3/3	1/1	0/0
Secreção nasal, espirros	0/4	0/4	2/3	2/3	0/1	0/0
Taquipneia	0/4	1/4	2/3	2/3	0/1	0/0
Sintomas nervosos	0/4	0/4	0/3	0/3	1/1	0/0
Morte	0/4	0/4	1/4	0/3	2/3	1/1

NO\* = Não observado

\*\* = Animal com sinal clínico/grupo

culares e andar em círculo e, na fase final, opstótomo com movimento de pedalagem (TAB. V).

O Grupo II apresentou quadro clínico de forma aguda, a partir do 2º dia p.i., sendo observado principalmente apatia, desidratação e mortes súbitas entre três a seis dias. Um único animal deste grupo apresentou-se com sintomatologia nervosa (TAB. VII).

No Grupo III foi observado quadro clínico mais prolongado, com mortes entre seis e sete dias (TAB. VIII).

A exceção do Grupo II, que apresentou quadro clínico agudo, foi observada hipertermia em todos os grupos a partir do 2º dia p.i. (FIG. 1, 2, 3 e 4).

No Grupo I e III, observou-se quadro de hipertermia mais prolongado (entre dois a seis dias) apresentando temperaturas mais elevadas (FIG. 1 e 2).

Já o Grupo IV apresentou um quadro de hipertermia em um período menor entre dois a quatro dias (TAB. IX).

Quanto ao teste de SN realizado no 4º dia p.i. nenhum dos animais apresentaram-se reagentes. Não houve possibilidade da realização de um segundo teste, pois os animais morreram até 7º dia p.i.

#### 4.2.4.2. Isolamento

O VDA foi isolado de todos os grupos, à exceção do Grupo III.

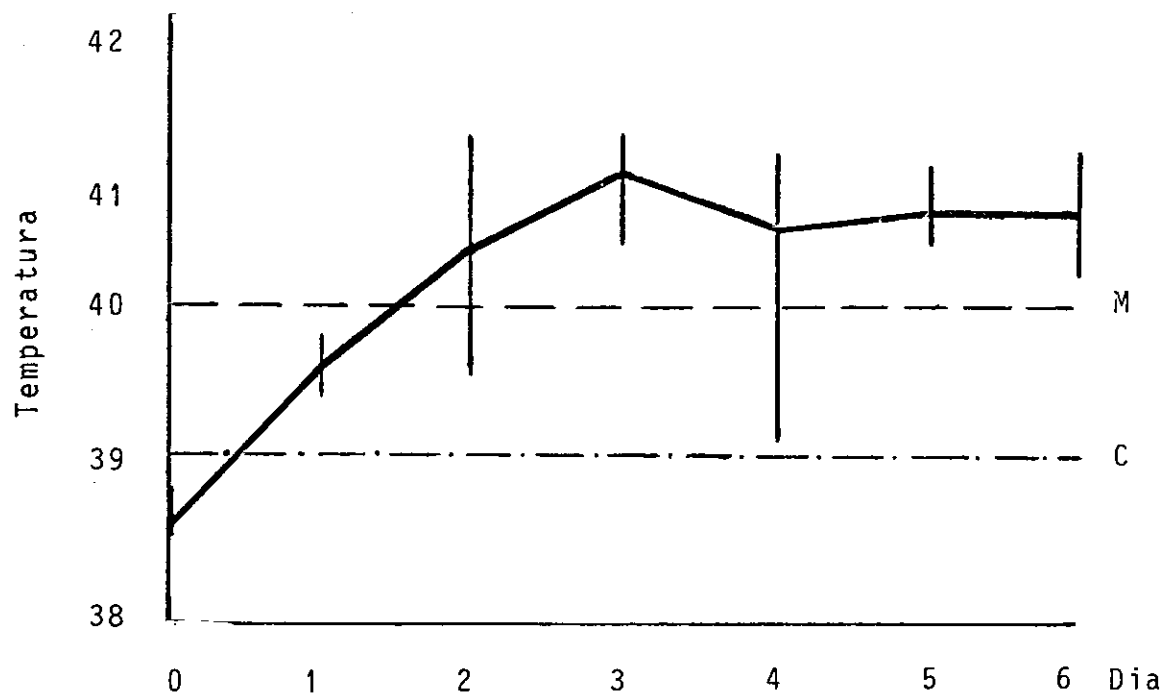
Nos Grupos I, II e IV, o material inoculado apresentou ECP logo na 1ª passagem. Assim, no Grupo I foi realizado o isolamento em duas amostras de amígdala, uma de pulmão e três do SNC no Grupo II, duas de amígdala, quatro de pulmão e duas no SNC no Grupo IV, duas de amígdala e duas de pulmão (TAB. X).

O ECP, nos grupos relacionados apresentaram-se semelhantes, com formação inicial de sincícios e posterior destruição da parede celular.

TABELA VIII - Quadro clínico do grupo de leitões Landrace-Large White inoculados com amostra referência (Grupo III)

Sinais clínicos	D i a s						
	1	2	3	4	5	6	7
Hipertermia	0/4*	4/4	4/4	4/4	4/4	2/2	0/0
Apatia	0/4	0/4	1/4	3/4	4/4	2/2	0/0
Secreção nasal, espirros	0/4	0/4	0/4	4/4	4/4	0/2	0/0
Taquipneia	0/4	0/4	0/4	1/4	2/4	0/2	0/0
Sintomas nervosos	0/4	0/4	0/4	4/4	4/4	2/2	0/0
Morte	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	2/2

\* = Animal com sinal clínico/grupo



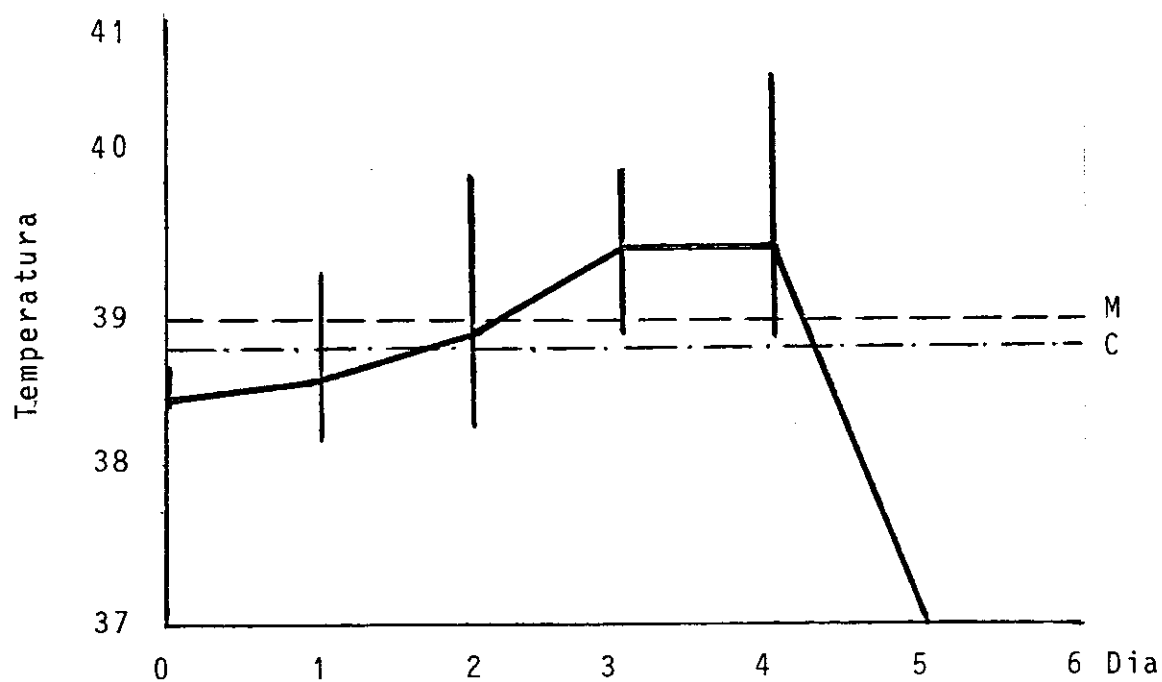
M = Média das temperaturas do grupo inoculado.

C = Média das temperaturas do grupo controle.

Dia 0 = Inoculação.

FIGURA 1 - Temperatura corporal do grupo de suínos Landrace-Large White, inoculados com amostra isolada na FEHB (Grupo I)



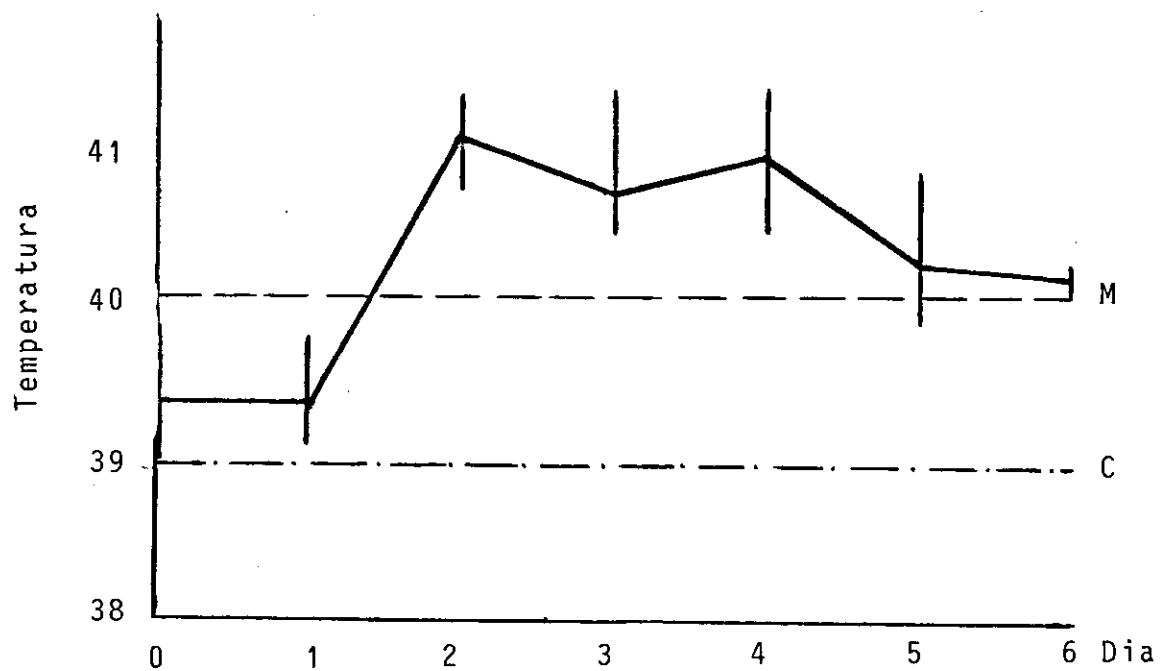


M = Média das temperaturas do grupo inoculado.

C = Média das temperaturas do grupo controle.

Dia 0 = Inoculação.

FIGURA 2 - Temperatura corporal do grupo de suínos, Piau, inoculados com amostra isolada na FEHB (Grupo II).

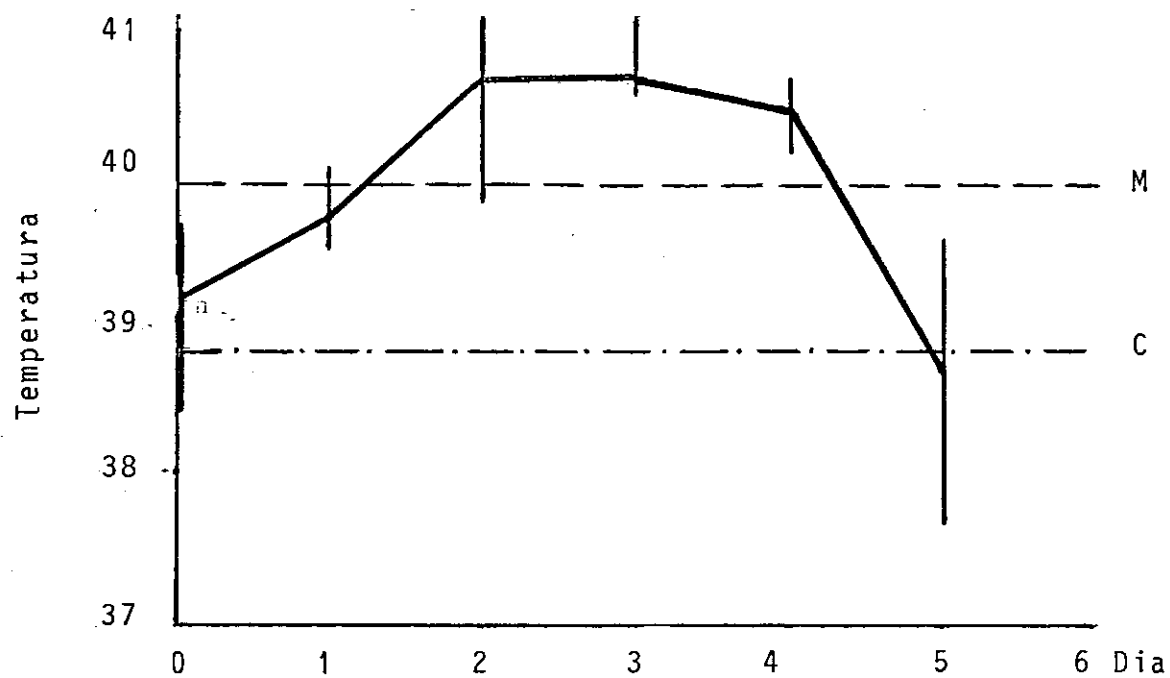


M = Média das temperaturas do grupo inoculado.

C = Média das temperaturas do grupo controle.

Dia 0 = Inoculação.

FIGURA 3 - Temperatura corporal do grupo de suínos Landrace-Large White, inoculados com amostra referência (Grupo III).



M = Média das temperaturas do grupo inoculado.

C = Média das temperaturas do grupo controle.

Dia 0 = Inoculação.

FIGURA 4 - Temperatura corporal do grupo de suínos Piau, inoculados com amostra referência (Grupo IV).

TABELA IX - Quadro clínico do grupo de leitões Piau inoculados com amostra referência (Grupo IV)

Sinais clínicos	D i a s						
	1	2	3	4	5	6	7
Hipertermia	0/4*	4/4	4/4	4/4	0/3	0/1	0/0
Apatia	0/4	0/4	4/4	4/4	4/3	1/1	0/0
Secreção nasal e espirros	0/4	0/4	0/4	4/4	4/3	1/1	0/0
Taquipneia	0/4	0/4	0/4	4/4	4/3	0/1	0/0
Sintomas nervosos	0/4	0/4	0/4	1/4	3/3	1/1	0/0
Morte	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	2/3	1/1

\* = Animal com sinal clínico/grupo

#### 4.2.4.3. Achados anátomo-histopatológicos

Os grupos inoculados com as duas amostras não apresentaram grandes diferenças em relação à necropsia. Observaram-se lesões pouco mais severas no grupo inoculado com amostra do vírus de referência (Grupos III e IV), apresentando cérebro com áreas congestas mais extensas e edema pulmonar mais acentuado, com áreas de consolidação e pneumonia (TAB. X).

Quanto ao quadro histopatológico, as lesões diferenciaram-se de acordo com o grau de severidade da doença em cada grupo (TAB. XI).

As lesões de amígdala variaram de discreta a moderada hiperplasia de folículos linfóides, além de áreas de congestão e hemorragia. Apenas um animal do Grupo III destacou-se por apresentar quadro de congestão mais acentuado, observado também durante a necropsia.

Quanto ao pulmão, os Grupos I e III apresentaram-se com grau de lesões semelhantes relacionado a discreta a moderada congestão, com áreas locais de enfizema e hemorragia. Já nos Grupos II e IV, a congestão apresentou-se mais generalizada, de grau moderado a severo, com aumento da celularidade das paredes alveolares, espessamentados septos, com áreas de enfizema e hemossiderina. Três animais do Grupo II e um do Grupo IV apresentaram severa broncopneumonia intersticial aguda com extensas áreas hemorrágicas, caracterizado por infiltrado de células inflamatórias predominantemente mononucleares (linfócitos) e polimorfonucleares (neutrófilos) e exsudação constituído por células descamadas, piócitos e "debris" celulares na luz dos brônquios.

O principal achado histopatológico no SNC foi a meningoencefalite não supurada aguda, e todos os grupos apresentaram esta lesão mas em graus diferentes. No Grupo I, observou-se o quadro histopatológico nervoso mais acentuado, quando comparado com o Grupo II, apresentando lesões relacionadas com congestão, desmielinização, gliose focal associada à degeneração



TABELA X - Isolamento do VDA de suínos Piau e Landrace-Large White inoculados com amostra da FEHB e com amostra de referência

Amostras colhidas*	Grupos inoculados			
	Amostra FEHB		Amostra referência	
	I	II	III	IV
A	2/4**	2/4	0/4	2/4
P	1/4	4/4	0/4	2/4
SNC	3/4	2/4	0/4	0/4

\*A = Amígdala

P = Pulmão

SNC = Sistema nervoso

\*\* = Amostras positivas/amostras inoculadas

TABELA XI - Lesões macroscópicas observadas nos grupos de suínos Piau e Landrace-Large White, inoculados com as amostras da FEHB e de referência

Órgão	Lesões	Amostra FEHB		Amostra de referência	
		I	II	III	IV
Amígdala	Congestão	-*	-	-	±
Pulmão	Congestão	+	+	+	+
	Edema	+	++	+	+++
SNC	Congestão	+	++	++	++
Intestino	Congestão	+	+	-	++

\*- = Sem apresentar lesões

± = Lesões em poucos animais

+ = Lesões leves

++ = Lesões moderadas

+++ = Lesões severas

\*\*Grupo I = Raça SPF Landrace-Large White

Grupo II = Raça Piau

Grupo III = Raça SPF Landrace-Large White

Grupo IV = Raça Piau

de neurônios e manguito perivascular. Os Grupos III e IV não apresentaram grandes diferenças entre os grupos I e II, apenas observou-se gliose difusa e neuronofagia (TAB. XII).



TABELA XII - Achados histopatológicos observados em suínos Piau e Landrace-Large White inoculados com amostras da FEHB e de referência

Órgão	L e s ã o	Grupo inoculado*			
		Amostra FEHB		Amostra de referência	
		I	II	III	IV
Amígdala	Hiperplasia folicular linfóide	+	±	+	+
	Congestão	+	+	±	±
Pulmão	Congestão	+	+++	+	++
	Hemorragia	+	++	±	+
	Enfizema	±	+	+	++
	Edema	±	+	±	+
SNC	Congestão	++	+	++	+
	Degeneração e neuronofagia	++	++	±	±
	Mãnguito perivascular	+	±	+	±
	Gliose	+	±	++	+

\* Grupo I = Landrace-Large White

Grupo II = Piau

Grupo III = Landrace-Large White

Grupo IV = Piau



## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Testes de SN e remoção dos reagentes

Como este trabalho foi desenvolvido em um rebanho cujo objetivo principal era a preservação genética de raças nativas em extinção, procurou-se um método de erradicação que não envolvesse a despopulação da granja. Desta forma, optou-se pela estratégia, teste de SN eliminação dos reagentes, conforme experimentos de outros pesquisadores (HOWARTH & WEST, 1981; THAWLEY et alii, 1982).

Os resultados sorológicos bimensais demonstraram que o número de animais sorologicamente positivo diminuiu, sugerindo que a doença não se apresentava sob forma ativa no rebanho. A partir da 3ª sorologia, observou-se apenas casos esporádicos.

Nesta 3ª sorologia, apenas um animal foi positivo. Era uma porca da "raça" Piau, que estava gestante e que, por seu alto valor genético, foi mantida no rebanho até a desmama de sua leitegada. Este fato ocorreu entre a 3ª e a 5ª sorologia. Por não possuir instalações apropriadas para o isolamento e por deficiência de pessoal, esta porca ao parir foi indevidamente colocada com outra negativa, juntamente com sua leitegada, possibilitando, assim, uma possível distribuição do vírus neste grupo (BASKERVILLE, 1972; Mc FERRAN & DOW, 1973; MAES et alii, 1983). Após a desmama, essas duas leitegadas foram agru-

padas a outras, no piquete de creche.

Por ser o 4º e 5º testes sorológicos negativos, considerou-se a DA erradicada, mas, no período entre a 5ª e 6ª sorologia, ocorreu a introdução, no rebanho, de animais de origem desconhecida. Como o objetivo principal do núcleo é a preservação de raças suínas nativas em extinção, muitas vezes torna-se imprescindível aproveitar oportunidades para aquisição de animais. Foi o caso de três porcas da "raça" Casco de Burro, recebidas por doação, procedentes do Rio Grande do Norte e de 12 animais da "raça" Mundi, oriundos da região de Tarumirim-MG. Devido à falta de instalações, esses animais foram introduzidos no rebanho, sem a devida quarentena, e, na oitava sorologia, um dos animais da "raça" Mundi, apresentou título sorológico de 1:32 pelo teste de SN.

Na 6ª sorologia, foi detectado um único animal sorologicamente positivo que, coincidentemente, nasceu e foi desmamado na mesma época da leitegada da porca positiva ao 3º teste. Este fato tornou-se importante em relação a manutenção do vírus neste rebanho, pois, leitões filhos de porcas positivas podem eliminar o VDA por até oito semanas sem, no entanto, tornarem-se sorologicamente positivos (BASKERVILLE, 1972; Mc FERRAN & DOW, 1973; MAES et alii, 1983).

O stress do transporte, a impossibilidade de se fazer o vazio sanitário, a falta de pessoal para a realização de limpeza e desinfecção eficiente, a alteração do manejo, efetuada durante o experimento, podem ter contribuído para o aparecimento de novos reagentes, o que concorda com outros autores como NARA, 1985; BASKERVILLE, 1981; CRANDELL, 1985.

Por outro lado, sabe-se que, nesta estratégia de erradicação, recomenda-se o teste sorológico de 30 em 30 dias, o que não ocorreu neste trabalho. As condições da granja, ou seja, manutenção dos animais em regime semi extensivo, dificultava o seu agrupamento mensal. Nosso experimento, procurando minimizar este problema, utilizou sangrias bimensais, que seriam mais convenientes para criações extensivas e semi extensivas

(THAWLEY et alii, 1982; WHIGHT et alii, 1982).

Outro fator importante a se considerar como ponto limitante foi o teste de SN. Embora seja o teste de referência, de alta sensibilidade e especificidade, apresenta limitações quanto à citotoxicidade, verificada em soros hemolizados ou contaminados, o que pode levar a resultados falso negativos (THAWLEY et alii, 1982). Para se obter resultados satisfatórios na estratégia, testes de SN e eliminação dos reagentes, o intervalo entre a sangria e o resultado deve ser mínimo. Em nosso experimento, o tempo entre os retestes dos soros tóxicos (presentes em 2% dos soros colhidos) ou mesmo entre a própria sangria bimensal e o resultado de SN, foi considerado, em alguns casos, demasiado longo, em média, 30 dias. Este atraso nos resultados contribuiu para a manutenção de animais positivos no rebanho, comprometendo assim, parcialmente, o experimento.

A persistência do VDA no ambiente é um fator importante no controle. Desde o início do experimento, tentou-se uma limpeza das baias através da utilização de hipocloreto de sódio a 2%, mas, pela falta de pessoal técnico, esta medida não foi prontamente cumprida. Por este mesmo motivo, não nos foi possível estabelecer um controle nos piquetes, através da remoção dos dejetos ou mesmo aeração da terra que poderia amenizar a viabilidade do VDA (DAVIES & BERAN, 1981).

Outro ponto a ser discutido está ligado ao tempo de duração de anticorpos colostrais que pode levar a resultados falso positivos (Mc FERRAN & DOW, 1973; BASKERVILLE, 1981, MAES et alii, 1983). Por esta razão, no início do trabalho, só foram estudados suínos com mais de 16 semanas de idade, para o teste de SN, mas a partir da sétima sorologia, este fato foi reconsiderado e o teste passou a ser efetuado em animais com idade a partir de oito semanas.

Durante as nove sorologias, nenhum animal filho de fêmea infectada apresentou-se com títulos sorológicos à DA. Este fato sugere que animais provenientes de mães, ainda que com baixos títulos, não apresentam riscos de infecção, o que não

se pode afirmar em relação à sua capacidade de eliminar vírus (Mc FERRAN & DOW, 1973; BERAN et alii, 1980; KOMANINA et alii, 1936).

A manutenção de animais sorologicamente reagentes sem adequado isolamento, no rebanho em estudo, assim como a permanência de falso negativo, a introdução de novos animais no rebanho sem quarentena e exames prévios; o período demasiado longo entre duas sorologias; a idade tardia da primeira colheita em leitões, poderiam ser considerados como fatores limitantes na eliminação da infecção.

Não se pode excluir fatores ligados a outras doenças ou mesmo às condições sanitárias precárias da granja, como causa da mortalidade de leitões e alguns casos de aborto verificados com certa frequência no início do trabalho (HOWARTH & WEST, 1981).

Não foi possível levantar dados com o objetivo de se comparar os índices zootécnicos, ao início e final do experimento. Observou-se porém, um acentuado decréscimo na taxa de natimortos e refugos durante o trabalho. Mas, a partir destes fatos, não se pode concluir que esta melhoria deveu-se à eliminação progressiva dos animais sorologicamente positivos a DA neste rebanho, uma vez que, seu manejo e as condições sanitárias foram alteradas durante a execução do trabalho.

Não se sabe se houve infecção latente em períodos indeterminados, durante o experimento. O que se tem de conclusivo é que o VDA foi isolado por métodos de rotina nos animais sorologicamente positivos, sugerindo uma persistência crônica, que levou a um quadro assintomático da DA, possivelmente devido a própria condição de manejo deste rebanho.

Todas estas dificuldades discutidas podem ser consideradas como fatores limitantes na erradicação da DA neste rebanho, e as falhas cometidas devem ser evitadas em futuros experimentos.

## 5.2. Inoculação em coelhos

Não houve reprodução da DA em nenhuma das 20 amostras inoculadas em coelhos. Sabe-se porém que o fato de as amostras trabalhadas terem sido estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  e trabalhadas posteriormente num período entre 60 a 90 dias, poderia ter provocado a queda de títulos do VDA no material, impossibilitando assim o seu isolamento (DAVIES & BERAN, 1981).

## 5.3. Inoculação em suínos

Quanto aos resultados da inoculação de Piau e Landrace-Large White, em termos de sintomas e lesões anátomo-histopatológicas, não foram observadas diferenças marcantes entre aquelas raças e as duas cepas trabalhadas. Porém, no Grupo IV, não se isolou o VDA do SNC, apesar de todo o grupo apresentar morte com sintomatologia nervosa. Pela localização restrita do VDA no SNC, pode ter ocorrido, durante o experimento, colheita de material para isolamento em locais diferentes, possibilitando, assim, a obtenção de materiais com diferentes concentrações de vírus (TUNG et alii, 1974).

Os testes sorológicos negativos realizados aos quatro dias pós inoculação nos quatro grupos condizem com resultado de Mc FERRAN et alii (1965).

Os resultados evidenciam a susceptibilidade de leitões Piau, provenientes do rebanho com forma subclínica da DA, tanto a cepa homóloga (FEHB) isolada do foco, quanto a cepa de referência. A cepa da FEHB, embora proveniente de forma subclínica, foi igualmente patogênica para suínos Piau e Landrace-Large White.

A TAB. VI mostra que se isolou o VDA de três grupos de suínos (I, II e IV) dentre os quatro inoculados. O não isolamento do vírus no Grupo III não tem nenhuma razão científica. Acredita-se que a conservação do material a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante um período mais longo, como no caso deste grupo, tenha inativado o

vírus ou mesmo alguma outra interferência durante a manipulação do material (DAVIES & BERAN, 1981).

## 6. CONCLUSÕES

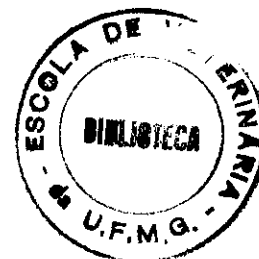
Os resultados obtidos no presente trabalho permitem as seguintes conclusões:

. Embora tenha sido observado uma redução acentuada da infecção, o trabalho não permitiu a sua erradicação, possivelmente devido aos períodos relativamente longos entre a sangria e a eliminação dos reagentes, introdução de animais sorologicamente desconhecidos, ou persistência do vírus no ambiente durante o experimento.

. A amostra isolada, mostrou-se patogênica para camundongo e suíno, das raças Piau e Landrace-Large White embora não tenha sido verificado nenhum episódio clínico da doença no rebanho, durante o período de execução do trabalho.

. Maior número de cepas, isoladas de forma subclínicas da DA, deveria ser estudada comparativamente, assim como as sorologias do plantel deveriam ser mantidas a intervalos mais curtos, visando a conclusões mais definitivas.





### 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMBROGI, A.; GIRAUDO, J.A.; BUSSO, J.J.; BIANGO, O.; BAGNAT, E.; ARAMBURU, M.S.; RAMOS, B.; CERIATTI, S. Primer diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky en cerdos en la República Argentina. *Gac. Vet.*, Buenos Aires, 357:57-64, 1981.
2. AMMENDRUP, S.; WARMING, M.; BITSCH, V.; PETERSEN, B. K.; SORENSEN, K.J. Testing of breeding boars at slaughter as a monitoring system in controlling Aujeszky's Disease in Denmark. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 9, Barcelona, 1986. *Proceedings*. Barcelona, 1986. p.336.
3. BANKS, M. & CARTWRIGHT, S. Comparison and evaluation of four serological tests for detection of antibodies to Aujeszky's disease virus. *Vet. Rec.*, London, 113:38 - 41, 1983.
4. BASKERVILLE, A. The influence of dose of virus on the clinical signs in experimental Aujeszky's Disease in pigs. *Br. Vet.*, London, 128:394-401, 1972.
5. BASKERVILLE, A. Aujeszky's disease: recente advances and current problems. *N.Z. Vet. J.*, Wellington, 29:183-5, 1981.
6. BAUER, A.G. Primeira constatação do mal de Aujeszky no Rio Grande do Sul. *Arq. Inst. Pesq. Vet. Desiderio Finamor*, Porto Alegre, 1:15-6, 1955.

7. BERAN, G.W.; DAVIES, E.B.; ARAMBULO, P.V.; WILL, L.A.; HILL, H.T.; ROCK, D.L. Persistence of Pseudorabies Virus in infected swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, 176 (10):998-1003, 1980.
8. BITSCH, V. Correlation between the pathogenicity of field strain of Aujeszky's Disease Virus and their ability to cause cell fusion - syncytia formation - in cell cultures. *Acta Vet. Scand.*, Copenhagen, 21(3):708-10, 1980.
9. CARINI, A. & MACIEL, J. La pseudo-rage on paralisie bulbaire infectieuse au Brésil. *Bull. Soc. Path. Exotique*, 5: 576-8, 1912.
10. CARNEIRO, V. Distribuição geográfica e frequência da doença de Aujeszky no Brasil. *Biológico*, São Paulo, 16(3): 49-58, 1950.
11. CONGRESSO LATINO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 1, e CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2, Rio de Janeiro, 1985. *Anais*, Rio de Janeiro, 1985, 103p.
12. CORNER, A.H. Pathology of Experimental Aujeszky's Disease in piglets. *Res. Vet. Sci.*, London, 6:337-43, 1965.
13. CRANDELL, R.A. Selected Animal Herpesviruses: New concepts and Technologies. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, New York, 29: 281-327, 1985.
14. DAVIES, E.B.; BERAN, G.W. Influence of environmental factors upon the survival of Aujeszky's disease virus. *Res. Vet. Sci.*, London, 31:32-6, 1981.
15. Eliminating Pseudorabies from individual farms. *Vet. Prof. Top. Swine*, Urbana-Champaign, 8(3):1-7, 1982.
16. GLOSTER, J.; DONALDSON, A.I.; HOUGH, M.N. Analysis of a series of outbreaks of Aujeszky's disease in Yorkshire 1981-2: The possibility of airborne disease spread. *Vet. Rec.*, London, 114:234-9, 1984.

17. GUSTAFSON, D.P. Pseudorabies. In: LEMAN, A.D. et alii. *Diseases of swine*. 6. ed. Ames, Yowa State University Press, 1986. p.274-89.
18. HIPÓLITO, O.; SILVA, J.M.L.; BATISTA JR.; J.A.; NASCIMENTO, S.L. A doença de Aujeszky em suínos no Estado de Minas Gerais. *Arq. Esc. Sup. Vet.*, Belo Horizonte, 13:61-7, 1960-61.
19. HOWARTH, J.A. A serologic Study of Pseudorabies in Swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, 154(12):1583-9, 1969.
20. HOWARTH, J.A. & WEST, G.B.E. An Epidemiological study of Pseudorabies in California Swine Herds. *Calif. Vet.*, Moraga, 2:13-16, 1981.
21. HSU, F.S.; CHUNG, W.B.; LIN, T.L. Clinical disease and lesion in adult boars infected with Pseudorabies virus. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY CONGRESS, 8., 1984. *Proceedings*, Ghent, 1984, p.25.
22. IGLESIAS, G.S. Estudio comparativo de la virulencia das cepas del virus de la enfermedad Aujeszky. *Vet. Mex.*, México, 18:101-8, 1987.
23. INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS. 8., Ghent, 1984, *Proceedings*. 1984. 387p.
24. INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS. 9., Barcelona, 1986, *Proceedings*. Barcelona, 1986. 329p.
25. INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS. 10., Rio de Janeiro, 1988. *Proceedings*. Rio de Janeiro, 1988, 431p.
26. KAVANAGH, N.T. Aujeszky's disease in an Irish pig practice: incidence, trends and response to vaccination. *Vet. Rec.*, London, 118:481, 1986.
27. KEMENY, L.J. Isolation of Transmissible Gastroenteritis Virus, Pseudorabies virus, and Porcine Enterovirus from Pharyngeal swabs taken from Market, Weight Swine. *Am. J. Vet. Res.*, Schaumburg, 42(11):1987-9, 1981.

28. KLUGE, J.P.; NIYO, Y.; MILLER, L.D.; HILL, H.T.; PIRTLE, E.C. Comparison of lesion induced by three Aujeszky's Disease strain virus isolates. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 9, Barcelona, 1985. *Proceedings*. Barcelona, 1986. p.338.
29. KOMANIWA, H.; MAKABE, T.; FUKUDA, M.; OGAWA, T. and HATAKEYAMA, H. Levels of passive antibodies against Aujeszky's Disease Virus in piglets derived from infected sows. *Jpn. J. Vet. Sci.*, Tokyo, 48(3):633-5, 1986.
30. LUNA, L. G. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3 ed., New York, Mac Graw-Hill, 1968. 258p.
31. MAES, R.K.; KANITZ, C.L.; GUSTAFSON, D.P. Shedding Patterns in swine of virulent and attenuated pseudorabies virus. *Am. J. Vet. Res.*, Schaumburg, 44(11):2083-6, 1983.
32. MARQUES, J.L. & ROMERO, C.H. Estratêgia de controle da doença de Aujeszky em suínos no Estado de Santa Catarina em 1985. In: CONGRESSO LATINO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 1. & CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2. Rio de Janeiro, 1985. *Anais*. Rio de Janeiro, 1985. p.131.
33. Mc CULLOUGH, S.J. & TODD, D. Subclinical Aujeszky's Disease virus infection in a pig herd and the characterisation of the strain of virus isolated. *Vet. Rec.*, London, 122: 77-81, 1988.
34. Mc FERRAN, J.B. & DOW, C. The distribution of the virus of Aujeszky's Disease (Pseudorabies virus) in experimentally infected swine. *Am. J. Vet. Res.*, Schaumburg, 26 (112):631-5, 1965.
35. Mc FERRAN, J.B. & DOW, C. The effect of colostrum derived antibody on mortality and virus excretion following experimental infection of piglets with Aujeszky's Disease Virus. *Res. Vet. Sci.*, London, 15:208-14, 1973.

36. NARA, P.L. Porcine Herpesvirus 1 In: OLSEN, R.G. *Comparative pathobiology of viral diseases*. Boca Raton, CRC Press, 1985. p.179-225.
37. NARITA, M.; HARITANI, M.; MORIWAKI, M. Necrotizing Vasculitis in piglets infected orally with the virus of Aujeszky's Disease. *Jpn J. Vet. Sci.*, Tokyo, 46(1):119-22, 1984.
38. NARITA, M.; KUBO, M.; FUSUSHO, A. M.; HARITANI, M. and MORIWAKI, M. Necrotizing enteritis in piglets associated with Aujeszky's Disease Virus Infection. *Vet. Pathol.*, Washington, 21:450-2, 1980.
39. OLANDER, H.J.; SAUNDERS, J.R.; GUSTAFSON, D.P. and JONES, R.K. Pathologic Findings in Swine Affected with a virulent strain of Aujeszky's virus. *Pathol. Vet.*, Basel, 3: 64-82, 1966.
40. RAJČANI, J.; SABŐ, A.; BLASKOVIC, D. Studies on the pathogenesis of Aujeszky's disease II. The distribution of virus after subcutaneous infection. *Acta. Virol.*, Prague, 13:52-9, 1969.
41. ROMERO, C.H.; ROWE, C.A.; GILBERTO, I.P.; FLORES, R. S.; BRETANO, L.; MARQUES, J.L.L. Distribuição e prevalência de anticorpos precipitantes para o vírus da Doença de Aujeszky em Plantéis Suínos no Estado de Santa Catarina. *Pesq. Vet. Bras.*, Rio de Janeiro, 4(4):123-7, 1984.
42. ROMERO, C.H. A doença de Aujeszky: I. Avanços na pesquisa sobre o vírus da Doença de Aujeszky. II. Situação da doença no país. In: CONGRESSO LATINO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 1. CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2, Rio de Janeiro, 1985. *Anais*, Rio de Janeiro, 1985, p.23-7.
43. ROMERO, C.H.; ROWE, C.A.; FLORES, R.S.; BRETANO, L. R.; MARQUES, J.L. Erradicação do vírus da doença de Aujeszky de plantéis de reprodutores suínos através da testagem e

- eliminação de suínos com anticorpos. *Pesq. Vet. Bras.*, Curitiba, 6(1):1-4, 1986.
44. REED, L.J. & MUENCH, H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.*, Baltimore, 27(3):493-7, 1938.
  45. SABŐ, A.; RAJCANI, J.; BLASKOVIC, D. Studies on the Pathogenesis of Aujeszky's Disease. I. Distribution of virulent virus in piglets after peronal infection. *Acta. Virol.*, Prague, 42:214-21, 1968.
  46. SABŐ, A.; RAJCANI, J.; BLASKOVIC, D. Studies on the pathogenesis of Aujeszky's Disease. III. The distribution of virulent virus in piglets after intranasal infection. *Acta Virol.*, Prague, 13:407-14, 1969.
  47. SABŐ, A. & RAJCANI, J. Latent pseudorabies virus infection in pigs. *Acta Virol.*, Prague, 20:208-14, 1976.
  48. SANTOS, J.L.; FERREIRA, L.F.A.; MELO, R.V.; SILVA, J.C.P. and LIMA, J.A.F. Economic losses due to pseudorabies surge in the state of Minas Gerais-Brazil. In: International Pig Veterinary Society. Barcelona, Espanha, 1986. p.340.
  49. SILVA, R.A. & DOUBEREINER, J. Nota sob a Doença de Aujeszky no município de Sapucaia, Estado do Rio de Janeiro. *Arq. Inst. Biol. Anim.*, Rio de Janeiro, 3:83-90, 1960.
  50. SILVA, R.A. & GIOVANE, N. Novos focos de Doença de Aujeszky no Estado de Minas Gerais. I. Estudo do foco no município de Almenara. *Arq. Inst. Biol. Anim.*, Rio de Janeiro, 4:99-104, 1961.
  51. SONCINI, R.A.; VIDOR, T.A.; SOBESTIANSKY, J.; BONA, R. Doença de Aujeszky em suínos. Comportamento de três amostras isoladas em em diferentes surtos no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. I. Curitiba, 1984. *Anais*. Curitiba, ABRAVES, p.5-6.
  52. THAMLEY, D.G.; GUSTAFSON, D.P.; BERAN, G.W. Procedures for

- the elimination of pseudorabies virus from herds of swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, 181(12):1513-8, 1982.
53. THOW, D.A.R. Aujeszky's Disease in Great Britain. INTERNATIONAL PIG VETERINARY CONGRESS, 10, Rio de Janeiro, 1988. *Proceedings*. Rio de Janeiro, 1988. p.194.
54. THUNG, M.C.; LIU, C.I.; LEE, C.C.; KWANG, H.S. Studies on Swine Pseudorabies II. Viral distribution and histopathology in experimentally infected swine. Taiwan, *J. Vet. Med. Anim. Husband.*, Taiwan, 25:1-15, 1974.
55. VALK, P.C. van der. Erradication of Aujeszky's Disease in the Netherlands. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY CONGRESS, 10. Rio de Janeiro, 1988. *Proceedings*. Rio de Janeiro, 1988. p.195.
56. VANNIER, P.; TOMA, B.; COSTES, M.; DUFOUR, B.; ELIOT, M.; FORGUES, M.; HAVAGE, J.P.; LE GOSLES, J.P. Strategy of measures applied in France to control the Aujeszky's Disease (AD). In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 9, Barcelona, 1986. *Proceedings*, Barcelona, 1986. p.333.
57. 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.*, Ottawa, 46:420, 1982.
58. WITTMANN, F.; JAKUBIK, J.; AHL, R. Multiplication and Distribution of Aujeszky's Disease (Pseudorabies) Virus in vaccinated and Non-vaccinated pigs after intranasal infection. *Arch. Virol.*, Vienna, 66(3):227-40, 1980.
59. YANG, S.Y.; LI, N.J.; YANG, Y.H.; LAI, S.S. Pathological changes in piglets inoculated intranasally with TNL strain of pseudorabies virus. *J. Chin. Soc. Vet. Sci.*, Taiwan, 10:76, 1984.