

OBSERVAÇÕES SOBRE A OCORRÊNCIA DO VÍRUS DA FEBRE AFTOSA NA MUCOSA DO ESÔFAGO DE BOVINOS VACINADOS PROCEDENTES DE ÁREAS ENDÊMICAS.

Valdson de Angelis CÔRTEZ *
José Vicente Lino de SOUZA **
Omar MIGUEL ***
José de Angelis CÔRTEZ ***

RFMV-A/16

CÔRTEZ, V.A.; SOUZA, J.V.L.; MIGUEL, O.; CÔRTEZ, J.A. *Observações sobre a ocorrência do vírus da febre aftosa na mucosa do esôfago de bovinos vacinados procedentes de áreas endêmicas.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo 14(1):129-132, 1977.

RESUMO: *O exame de espécimes da mucosa do terço superior do esôfago de 250 bovinos recém-abatidos, revelou, por inoculação em camundongos lactentes, a presença do vírus da febre aftosa tipo "O"₁ Vallée, subtipo "O"₁ Campos, em duas oportunidades. Tal observação sugere que bovinos vacinados, procedentes de áreas endêmicas de febre aftosa, podem albergar este agente na mucosa do esôfago, mesmo em ausência de qualquer sinal evidente da doença.*

UNITERMOS: *Febre Aftosa, vírus *; Esôfago *; Bovinos *; Áreas endêmicas *.*

1. INTRODUÇÃO

Bovinos sadios, suscetíveis ou não, podem, quando expostos a quantidades mínimas de vírus da febre aftosa, tornar-se portadores deste agente de doença^{1,4,5,8-11,13,15}. Embora a condição destes animais como fonte de infecção não esteja suficientemente clara¹⁵, estudos conduzidos em condições naturais tem sugerido que a disseminação do vírus da febre aftosa pode ocorrer em um rebanho, por este mecanismo^{4,14}.

A persistência por vários meses do estado de portador nesta espécie tem sido demonstrada de maneira incontestável^{1,4,5,7,9}.

Como pontos principais de multiplicação do vírus da febre aftosa neste hospedeiro tem sido apontados a face dorsal do palato mole e faringe. Menor predileção parece ocorrer com a face ventral do palato mole e espaço glosso epiglótico. Só ocasionalmente tem sido possível o isolamento do vírus do esôfago¹.

A técnica de colheita de espécimes de

* Professor Assistente
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus Universitário da UNESP, em Jaboticabal.
** Sorologista
Laboratório de Febre Aftosa do Ministério da Agricultura em Barretos - São Paulo.
*** Professor Assistente Doutor
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

líquido esofágico-faríngeo de portadores, descrita por VAN BEKKUM et alii¹⁵ (1959) possibilitou o isolamento, *in vivo*, do vírus da febre aftosa destes portadores, seja em condições naturais ou experimentais.

Ensaio para o isolamento do vírus tem sido feitos em vários sistemas biológicos tanto *in vivo*¹⁵ como *in vitro*^{1, 11, 12, 16}. Todavia, o cultivo de tecidos tem se mostrado mais eficiente no isolamento vírico¹⁰, particularmente a cultura de células de tireóide de bezerro^{1, 3, 4, 10, 12}.

O presente estudo procurou demonstrar a presença do vírus da febre aftosa na porção superior da mucosa do esôfago de bovinos aparentemente saudáveis, abatidos sob condições sanitárias adequadas, utilizando camundongos lactentes como sistema biológico para isolamento do vírus. Considerando a baixa frequência de ocorrência do vírus nesta porção do tubo digestivo de bovinos portadores¹, sua escolha justifica-se, de um lado, pelo fato de tratar-se de um material cuja colheita adequa-se às condições do abatedouro e por outro, pela pressuposição de que a demonstração do vírus em pelo menos uma oportunidade, constitui-se em elemento de real valor como indicador da existência de portadores na população de sua procedência. O nível de rejeição desta hipótese foi fixado em 5%.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras.

Utilizamos amostras de 250 bovinos adultos, machos, azebuados, vacinados regularmente contra a febre aftosa, abatidos em matadouro sob inspeção federal. Esses animais procediam de áreas onde a doença grassa de forma endêmica e foram classificados como saudáveis conforme a condição de aproveitamento da carcaça para consumo *in natura*.

Cada amostra consistia de uma secção de 5 cm da mucosa esofágica tomada do terço superior do esôfago a uma distância aproximada de 10 cm da união esôfago-faringe. Para sua retirada procedia-se, inicialmente, ao corte transversal do esôfago em dois pontos distanciados de 5 cm, posteriormente, à abertura longitudinal deste segmento e a seguir,

desprendia-se a mucosa do substrato muscular da parede do órgão. Esta retirada era antecedida de cuidadosa lavagem, em água corrente, da superfície da mucosa, sendo o material coletado submetido a igual tratamento.

Imediatamente após a tomada, as amostras eram acondicionadas, individualmente, em frascos de 100 ml de capacidade, contendo 50 ml de meio conservador, previamente esterilizados. Estes frascos eram em seguida submetidos à refrigeração e enviados ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo.

2.2. Meio conservador.

Consistia de uma solução esteril de glicerina neutra a 50% em água destilada, contendo tampão de fosfatos de pH 7.6.

2.3 Meio diluente.

O meio diluente utilizado foi representado pela solução salina de EARLE, tamponada com fosfatos a um pH de 7,5 a 7,6, conforme a técnica descrita por HOSKINS⁶.

2.4 Camundongos.

Utilizamos camundongos suíços albinos, com 5 a 7 dias de idade, distribuídos em grupos de seis animais acompanhados da respectiva mãe.

2.5 Tratamento.

No laboratório as amostras sofreram duas lavagens sucessivas em meio diluente sendo a seguir submetidas aos procedimentos indicados ao preparo e purificação da suspensão a seguir descritos.

Uma fração de cada amostra, pesando 1,0 grama, era tomada e submetida à trituração em gral com areia estéreis, adicionando-se meio diluente de modo a obter-se uma suspensão final de 1:5. A suspensão assim obtida era adicionada de clorofórmio p.a., na proporção de 1:10, agitando-se a mistura durante 5 minutos. Decorrido este tempo o clorofórmio era extraído por sucção e a suspensão centrifugada a 1.800 rpm durante 20 minutos.

Imediatamente após a centrifugação o sobrenadante era inoculado pela via intraperitoneal, na dose de 0,05 ml por animal em 12 camundongos lactentes, utilizando-se para tal seringa BD de 0,25 ml.

Os animais foram mantidos em observação durante 7 dias e aqueles que sucumbiram neste período foram submetidos a tratamento idêntico àquele dispensado ao material no preparo e purificação da suspensão, com reinoculação de dois novos grupos de camundongos, e identificação pela reação de fixação de complemento.

A identificação do vírus era realizada submetendo-se a suspensão obtida a partir dos camundongos mortos à tipificação frente aos soros hiperimunes para os vírus "O" Vallée, subtipo "O₁" Campos, "A" Vallée, subtipo "A₂₄" Cruzeiro e "C" Waldmann subtipo "C₃" Rezende, segundo a técnica de fixação de complemento descrita por CAMARGO et alii² (1950).

3. RESULTADOS

O exame das 250 amostras estudadas revelou dois resultados positivos para o vírus da febre aftosa tipo "O" Vallée, subtipo "O₁" Campos.

Em ambos os casos o isolamento ocorreu na primeira passagem em camundongos lactentes, todavia a tipificação só se verificou na segunda e terceira passagens, respectivamente.

4. DISCUSSÃO

Estes resultados indicam que, em regiões endêmicas, o vírus da febre aftosa pode estar presente na mucosa do esôfago de bovinos vacinados, ainda que estes animais apresentem perfeito estado de saúde.

Em verdade, apenas duas (0,80%) das 250 amostras estudadas, apresentaram vírus demonstrável pelos recursos utilizados no presente estudo.

Todavia, convém considerar que a mucosa esofágica tem sido considerada como um dos pontos de menor predileção para a instalação e a multiplicação do vírus da febre aftosa¹. Realmente, valores mais elevados têm sido obtidos em condições semelhantes quando a pesquisa de vírus foi levada a efeito em líquido esofágico-faríngeo e o sistema biológico usado representado por cultivos celulares^{4,5}. O fato da tipificação só ter sido possível na segunda e terceira passagens sugere a existência de uma pequena quantidade de vírus no material coletado ou uma baixa patogenicidade do agente isolado para o sistema biológico empregado.

Os limites de confiança de 95%, calculados com base nos valores de nossa amostra revelam que a proporção de positivos na população apreciada, está compreendida entre 0,10 e 2,86%.

AGRADECIMENTOS

Para a realização deste trabalho contamos com a colaboração do Grupo Executivo de Combate à Febre Aftosa em São Paulo, a cuja direção apresentamos nossos melhores agradecimentos.

De modo particular queremos agradecer ao Chefe do Laboratório de Febre Aftosa de Barretos, Dr. Isacídio Marques de Souza e sua equipe pela dedicação e facilidades que nos propiciaram.

RFMV-A/16

CÔRTEZ, V.A.; SOUZA, J.V.L.; MIGUEL, O.; CÔRTEZ, J.A. *Information on the foot-and-mouth disease virus in the upper oesophagus epithelium of cattle coming from endemic areas.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S.Paulo, 14(1):129-132, 1977.

SUMMARY: *Examining specimens of epithelium from the upper oesophagus of cattle by suckling mice inoculation was possible demonstrate the "O" type of Foot-and-Mouth disease virus (FMDV) in two opportunities. These results provide evidence that the vaccinated cattle from endemic areas of Foot-and-Mouth disease may harbour the disease agent even if the animals seem to be health.*

UNITERMS: *Foot-and-Mouth disease virus *; Oesophagus *; Cattle *; Endemic areas.*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BURROWS, R. Studies on the carrier state of cattle exposed to foot-and-mouth-disease virus. *J. Hyg.*, 64: 81-90, 1966.
- 2 - CAMARGO, N.F., et alii. A complement-fixation technique for foot-and-mouth-disease and stomatitis. ANNUAL MEETING OF AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION, 87., México, 1950. *Proceedings*. p.207-11.
- 3 - FELLOWERS, O.N., et alii. Foot-and-mouth-disease virus. Biological characteristics of virus from bovine carriers. *Arch. Ges. Virus-forsch.*, 30: 173-80, 1970.
- 4 - HEDGER, R.S. The isolation and characterization of foot-and-mouth-disease virus from clinically normal herds of cattle in Botswana. *J. Hyg.*, 66: 27-36, 1968.
- 5 - HEDGER, R.S. Observations on the carrier state and related antibody titres during and outbreak of foot-and-mouth-disease. *J. Hyg.*, 68: 63, 1970.
- 6 - HOSKINS, J.W. *Virological procedures*. London Butter Worths, 1967. p.311
- 7 - HYSLOP, N.S.G. La epizootiología y epidemiología de la fiebre aftosa. *Advanc. vet. Sci.*, 14: 261-307, 1970.
- 8 - MCVICAR, J.W., et alii. The epizootiological importance of foot-and-mouth-disease carriers. *Arch. Ges. Virus-forsch.*, 26: 217-24, 1969.
- 9 - SINGH, B.S. The carrier state in cattle in foot-and-mouth disease. *N. Z. vet. J.*, 17(9): 173-77 1969.
- 10 - STRAVER, P.J., et alii. Some properties of carrier strains of foot and mouth-disease virus. *Arch. Ges. Virus-forsch.*, 29: 113-26, 1970.
- 11 - SUTMOLLER, P., et alii. Foot-and-mouth-disease carriers. *Vet. Rec.*, 77(33): 968-69, 1965.
- 12 - SUTMOLLER, P., et alii. Improved techniques for the detection of foot-and-mouth-disease virus in carrier cattle. *Arch. Ges. Virus-forsch.*, 21(2): 170-77, 1967.
- 13 - SUTMOLLER, P., et alii. The epizootiological importance of foot-and-mouth-disease carriers. I. Experimentally produced foot-and-mouth-disease carriers in susceptible and immune cattle. *Arch. Ges. Virus-forsch.*, 23: 227-35, 1968.
- 14 - SUTMOLLER P., et alii. The epizootiological importance of foot-and-mouth-disease carriers. III. Exposure of pigs to bovine carriers. *Arch. Ges. Virus-forsch.*, 37: 78-84 1972 .
- 15 - VAN BEKKUM, J.G., et alii. Observations on carrier state of cattle exposed to foot-and-mouth-disease virus. *T. Diegeneesk. geneesk.*, 84: 1159-64, 1959.
- 16 - VAN BEKKUM, J.G., et alii. Further information on the persistense of infective foot-and-mouth-disease virus in cattle exposed to virulent strains. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 65(11/12): 1949-65. 1966.

Recebido para publicação em 19-4-77
Aprovado para publicação em 3-8-77