

INQUÉRITO SOROLÓGICO DO VÍRUS DA GASTROENTERITE TRANSMISSÍVEL EM GRANJAS DE REPRODUTORES SUÍNOS DO ESTADO DE SANTA CATARINA¹

CARLOS H. ROMERO², CHERYL ANN ROWE², LIANA BRENTANO² E ROBIS S. FLORES²

ABSTRACT.- Romero C.H., Rowe C.A., Brentano L. & Flores R.S. 1985. [Seroepidemiological survey of transmissible gastroenteritis virus in reproductive swine herds in the State of Santa Catarina.] Inquérito sorológico do vírus da gastroenterite transmissível em granjas de reprodutores suínos do Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 5(4): 129-132. Centro Nac. Pesq. Suínos e Aves, Embrapa, C.P. D-3, Concórdia, SC 89700, Brazil.

A seroepidemiological survey utilizing the micro serum neutralization test for the detection of antibodies to transmissible gastroenteritis (TGE) virus was carried out on 5859 swine sera obtained from 59 of the 70 reproductive herds, registered with the Swine Breeding Association of Santa Catarina, distributed in 24 counties within the state. When tested undiluted and in the 1:2 and 1:4 dilutions, none of the 403 sera obtained from boars contained antibody, while of the 5451 sow sera tested, 5444 were devoid of antibody, five were toxic for the indicator cells and two had a neutralizing activity up to the 1:2 dilution. Testing of a second sample obtained from these two pigs revealed that they were free of antibody. The results of this survey indicate that the reproductive swine herds of the State of Santa Catarina tested in the present study are free of infection with TGE virus.

INDEX TERMS: Transmissible gastroenteritis, antibodies, reproductive swine herds, Santa Catarina (State).

SINOPSE.- Foi realizado um inquérito soro-epidemiológico utilizando o microteste de soroneutralização para a detecção de anticorpos para o vírus da gastroenterite transmissível (TGE) em 5859 soros suínos obtidos de 59 dos 70 plantéis de reprodutores registrados na Associação Catarinense de Criadores de Suínos (ACCS), distribuídos em 24 municípios do Estado de Santa Catarina. Quando testados não diluídos e nas diluições de 1:2 e 1:4, nenhum dos 403 soros obtidos de cachos continham anticorpos, enquanto que, dos 5451 soros de porcas testados, 5444 estavam isentos de anticorpos, cinco foram tóxicos para as células indicadoras e apenas dois possuíam uma atividade neutralizante até a diluição de 1:2. A testagem de uma segunda amostra destes dois suínos revelou que eram livres de anticorpos. Os resultados do inquérito indicam que os plantéis de reprodutores suínos do Estado de Santa Catarina testados no presente estudo, encontram-se livres da infecção com o vírus da TGE.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Gastroenterite transmissível, anticorpos, plantéis reprodutores, suínos, Santa Catarina (Estado).

INTRODUÇÃO

A gastroenterite transmissível (TGE) é uma infecção dos suínos causada por um Coronavírus (Tajima 1970), que afeta principalmente o jejuno e o íleo, caracterizada por vômitos e diarreia aguda. A doença é de grande impacto econômico, es-

pecialmente quando é introduzida pela primeira vez em plantéis não infectados, causando epizootia aguda com alta mortalidade de leitões de até duas semanas de idade (Bohl 1981). Após esta idade, a doença é mais difícil de diagnosticar devido aos sintomas leves observados, geralmente caracterizados por inapetência e/ou diarreia de curta duração. Outras vezes, a TGE adquire características enzoóticas e se limita, quase que exclusivamente, a plantéis com partos frequentes ou com adição constante de suínos.

A infecção com o vírus da TGE ocorre durante o ano todo na província de Quebec, Canadá, mas com maior prevalência durante o outono, inverno e primavera. Em levantamento realizado entre 1977 e 1981 (Morin et al. 1983), foi observado que a causa mais frequente de diarreias em suínos menores de duas semanas de idade foi a TGE, sendo o vírus isolado em 52% dos casos clínicos estudados. Estudos similares na província de Saskatchewan, realizados entre 1979 e 1982, permitiram o diagnóstico da TGE clínica em 19 surtos (Bauck 1983). Num caso, apesar da mortalidade de 70-100% em leitões menores de uma semana de idade, a presença de vírus não pode ser demonstrada no intestino dos suínos infectados, confirmando-se o surto somente através da conversão sorológica. No período 1979-1980, 6010 suínos foram avaliados no momento do abate, no Estado do Iowa, EUA, para a presença do vírus da TGE através da recuperação do vírus de "swabs" da região da faringe, isolando-se este vírus em 91 (1,51%) casos (Kemeny 1981). Se deduz que as taxas de infecção devidas ao vírus da TGE devam ser significativamente maiores que a frequência com a qual o vírus foi isolado do material examinado.

Inquérito sorológico similar ao relatado no presente estudo foi realizado na França em 1977, em 5648 soros de suínos, originários de 67 departamentos, coletados no momento do aba-

¹ Aceito para publicação em 29 de agosto de 1985.

² Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves (CNPISA), Cx. Postal D-3, Concórdia, SC 89700.

te. Os resultados indicaram que a infecção pelo vírus da TGE estava presente em 60 departamentos, com uma infecção média de suínos de 17,1% e infecção média de granjas de 20,4% (Toma et al. 1978). Uma estimativa das perdas econômicas causadas pela doença nestes 67 departamentos, durante o ano de 1977, indicava uma cifra de 75 milhões de francos. Na Inglaterra, surtos epidêmicos de TGE foram recentemente reportados em 56 plantéis de reprodutores e em 64 unidades de engorda na região de East Anglia. A doença ocorreu na forma aguda, aparentemente causada por vírus de alta virulência, que resultou em mortalidade de quase 100% dos leitões afetados, menores de uma semana de idade (Pritchard 1982).

Um outro inquérito sorológico realizado na região de Westphalen, na República Federal da Alemanha, entre os anos de 1979 e 1981, evidenciou a presença de anticorpos neutralizantes em 23% dos soros, obtidos de 158 plantéis suínos com problemas de diarreia epizootica (Prager & Witte 1983). A infecção foi demonstrada tanto em plantéis reprodutores como em terminadores e, em 43 plantéis reprodutores, 58% dos surtos de diarreia observados foram devidos a TGE.

No Brasil, apesar de existir um relato publicado sobre um surto da doença (Saraiva et al. 1974), não existem ainda estudos soro-epidemiológicos que possam contribuir para definir a abrangência geográfica da infecção com o coronavírus causal.

O presente estudo, objetiva determinar se a infecção com o vírus da TGE está presente no rebanho reprodutor suíno do Estado de Santa Catarina.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem de soros

Sangue para a obtenção de soro foi coletado entre os meses de janeiro a dezembro de 1984, de 5859 reprodutores suínos pertencentes a 59 dos 70 plantéis filiados a Associação Catarinense de Criadores de Suínos (ACCS). A maioria dos soros estudados foi obtida por técnicos da referida Associação e correspondia a 5456 porcas e 403 cachaços. As granjas avaliadas estavam distribuídas em 24 municípios.

Culturas celulares

As células utilizadas correspondiam a uma linhagem celular contínua, derivada de rim de suíno, e denominada SK-6 (Kasza et al. 1972). As células são mantidas em meio de cultura M25 e tripsinizadas a cada quatro ou cinco dias para passagem e propagação.

Vírus

A cepa Purdue do vírus da TGE, adaptada a culturas celulares foi propagada em células SK-6 e, após 72 horas, quando o efeito citopático (CPE) era confluyente, os sobrenadantes foram coletados em "pool" clarificados por centrifugação em centrífuga refrigerada a 3.000 rpm por dez minutos, dispensados em alíquotas de 1 ml e estocados a -80°C em ultracongelador Revco.

Soros

Os soros a serem testados eram descomplementados por aquecimento em banho de água a 56°C durante 30 minutos e testados não diluídos e nas diluições de 1:2 e 1:4.

Meio de Cultura

Células, vírus e soros, foram sempre diluídos em meio de cultura M25. A formulação para preparar este meio era a seguinte: Água destila-

da em vidro (101,3 ml), meio 199 modificado com sais de Hank e L-glutamina 10 vezes a concentração normal, (11,3 ml), caldo triptosa fosfato (TPB) a 2,95% (12,5 ml), bicarbonato de sódio a 10% (0,8 ml), soro bovino (5,0 ml), neomicina (7,5 mg), penicilina (50.000 U) e micostatina (5.000 U).

Placas

Foram utilizadas placas de poliestireno, de 12,7 x 9,5 cm, de 96 orifícios com fundo plano, obtidas dos Laboratórios Dynatech, Flow ou Linbro dos E.U.A.

Microteste de soroneutralização

Cada placa era suficiente para testar 30 soros em três diluições diferentes. As diluições dos soros em teste em volumes de 25 μl , eram realizadas diretamente nas placas e eram adicionadas de 25 μl do vírus da TGE contendo 100 doses infectantes médias para as células SK-6 (100 TCID₅₀). Em cada placa eram também testados um soro de referência com anticorpos e outro sem anticorpos em idênticas diluições. Cada vez que um lote de soros era processado no teste de soroneutralização (> 200 soros), as 100 TCID₅₀ calculadas do estoque viral, eram tituladas em octuplicata em diluições decimais de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , como controle intrínseco da dose infectante viral em teste. As placas contendo as misturas de soro e vírus, e a titulação viral, eram incubadas em estufa convencional ou em estufa de CO₂ a 5%, a 37°C durante uma hora.

Após este período de incubação, cada orifício era adicionado de 200 μl de M25 contendo de 20-30.000 células SK-6. As placas eram logo lacradas com fita adesiva transparente não tóxica e incubadas em estufa convencional. Outras vezes as placas eram cobertas com as próprias tampas de poliestireno e incubadas em estufa de CO₂ a 5%. A leitura do teste era geralmente realizada no terceiro e quinto dia, quando a titulação indicava uma atividade viral de 100 TCID₅₀. O CPE viral estava caracterizado por arredondamento celular que, eventualmente, causava a destruição e a morte da monocamada. O soro era considerado como positivo para anticorpos, quando neutralizava o CPE viral em qualquer uma das diluições testadas. Por outro lado, o soro era considerado isento de anticorpos, e portanto, da infecção, quando a monocamada celular apresentava CPE característico. Em presença de soros de referência positivo e negativo, respectivamente, o vírus era neutralizado nas três diluições permanecendo íntegra a monocamada celular ou o CPE se tornava evidente.

RESULTADOS

Foram testados para a presença de anticorpos neutralizantes para o vírus da TGE, 5859 soros de reprodutores suínos, obtidos de 59 plantéis, distribuídos em 24 municípios do Estado de Santa Catarina. De 5451 soros de porcas testadas, 5444 estavam isentos de anticorpos, cinco foram tóxicos e dois foram positivos até a diluição de 1:2. Uma segunda amostra coletada destes dois suínos não confirmou a positividade dos soros. Todos os 403 soros de cachaços testados eram livres de anticorpos (Quadro 1).

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo, indicam que o rebanho de reprodutores suínos do Estado de Santa Catarina, encontra-se livre do vírus da TGE, uma das infecções mais temíveis e de maior impacto econômico na produção suinícola intensiva mundial (Bohl 1981).

Quadro 1. Distribuição de anticorpos neutralizantes para o vírus da gastroenterite transmissível em soros de reprodutores suínos do Estado de Santa Catarina

Município	Nº de granjas	Nº de suínos testados	Nº com anticorpos / Nº de fêmeas testadas	Nº com anticorpos / Nº de machos testados
Caibí	01	42	0/36	0/6
Capinzal	01	52	0/46	0/6
Chapecó	08	1137	0/1067	0/70
Concórdia	23	2165	1/1993	0/172
Coronel Freitas	01	36	0/32	0/4
Criciúma	01	115	0/115	—
Guaraciaba	01	43	0/40	0/3
Itapiranga	01	105	0/94	0/11
Jaborá	02	58	0/55	0/3
Lacerdópolis	01	47	0/41	0/6
Palma Sola	01	79	0/75	0/4
Pinhalzinho	01	73	0/69	0/4
Quilombo	01	39	0/36	0/3
São Carlos	01	40	0/35	0/5
São José do Cedro	01	102	0/95	0/7
São Lourenço do Oeste	01	107	1/89	0/18
São Miguel do Oeste	03	338	0/307	0/31
Seara	01	22	0/20	0/2
Três Barras	01	145	0/133	0/12
Urussanga	03	532	0/521(5) ^a	0/6
Videira	01	38	0/33	0/5
Xanxerê	02	282	0/267	0/15
Xavantina	01	161	0/153	0/8
Xaxim	01	101	0/99	0/2
Total	59	5859	2/5451(5)	0/403

^a Soros tóxicos para as células indicadoras.

Estes resultados foram obtidos utilizando-se o microteste de soroneutralização, teste altamente específico e sensível, considerado como padrão para a detecção de anticorpos (Toma & Benet 1976). De um total de 5859 amostras de soro, correspondente a número idêntico de reprodutores suínos, somente dois soros neutralizaram as 100 TCID₅₀ do vírus da TGE em teste. Um soro correspondia a uma porca do Município de Concórdia, que tinha sido importada da Holanda em 1981, país com sérios problemas de TGE (Arendok & Renkema 1983), e somente neutralizou até uma diluição de 1:2. A porca tinha histórico de três partos, com uma média de desmame de leitões superior a nove e foi considerada como não portadora do vírus da TGE por ser a única positiva, e a título baixo na propriedade. Um segundo soro, obtido de uma porca do Município de São Lourenço do Oeste, também neutralizou o vírus da TGE até uma diluição de 1:2 em dois testes consecutivos. Com o objetivo de confirmar ou negar a atividade neutralizante destes dois soros, foram obtidas novas amostras dos suínos reagentes, as quais não neutralizaram mais o vírus da TGE, mesmo quando avaliadas sem diluir no teste de SN. Desconhece-se a origem desta rara falsa positividade das primeiras duas amostras testadas.

Todos os 403 soros de cachaços avaliados estavam isentos de anticorpos, enquanto que, 5444 soros de porcas estavam des-

providos de anticorpos e cinco eram tóxicos para as células indicadoras, cifra insignificante (0,09%) se considerarmos o número total de soros testados.

Uma avaliação da literatura nacional sobre TGE somente revelou que a doença foi diagnosticada clinicamente no Município de Concórdia, no Estado de Santa Catarina em 1974. Este surto de TGE afetou suínos de todas as idades, com morbilidade de 100% e mortalidade variável entre 0% para suínos maiores de três semanas a 100% para os leitões lactantes (Saraiva et al. 1974). A doença foi diagnosticada com base nos achados epidemiológicos, histopatológicos e por ter-se reproduzido o quadro clínico com suspensões de conteúdo intestinal, administradas experimentalmente por via oral a leitões hígidos.

Relatos não publicados, no entanto, indicam que a doença existe em outros estados da Federação. Exames histopatológicos do jejuno e microscopia eletrônica de conteúdo intestinal revelaram, respectivamente, lesões compatíveis com TGE e partículas virais características de Corona e Rotavírus (Correa W.M., comunicação pessoal) em leitões examinados, durante surto de doença entérica no Município de Águas de Santa Bárbara no Estado de São Paulo. Uma avaliação sorológica para anticorpos neutralizantes foi recentemente realizada em duas granjas localizadas nos municípios de São Joaquim da Barra e Sertãozinho no Estado de São Paulo, ambas com problemas de

diarréia. Na primeira granja, 24 de 28 suínos da raça nacional Nilo, entre dois e cinco anos de idade, e na segunda granja, nove de 31 suínos das raças Nilo, Landrace e Large White, de um a dois anos de idade, possuíam anticorpos neutralizantes para o vírus da TGE, indicando uma situação enzoótica nestas duas instalações (Romero C.H., dados não publicados).

O fato do rebanho reprodutor catarinense encontrar-se livre da infecção e, conseqüentemente, da doença clínica, indica uma situação privilegiada do ponto de vista sanitário, pois a infecção pelo coronavírus causal é de ampla disseminação em países com uma suinocultura avançada. A TGE é de grande importância econômica, causando prejuízos sérios quando presentes em plantéis infectados com o agente causal. Resultados anteriores indicaram que o rebanho reprodutor suíno do Estado de Santa Catarina, se encontra livre da infecção com o vírus da doença de Aujeszky (Romero et al., dados não publicados) e, os resultados deste primeiro inquérito sorológico para o vírus da TGE indicam que também se encontra livre desta infecção. Esforços para garantir que o rebanho reprodutor suíno do Estado de Santa Catarina continue livre destas duas infecções não devem ser interrompidos. Esses esforços envolvem a vigilância sorológica a cada seis meses, de 100% dos suínos reprodutores em idade de reprodução e, a fiscalização sanitária de possíveis introduções de suínos no Estado.

Agradecimentos. - Agradecemos a Auria Dartora e Ivane Müller pela valiosa assistência laboratorial.

REFERÊNCIAS

- Arendok J.A.M. Van & Renkema J.A. 1983. Computer simulation of the course and consequences of an infectious disease of animals, with transmissible gastroenteritis in a pig breeding herd as an example. *Tijdschr. Diergeneeskd.* 108 (15/16): 608-614.
- Bauk S. 1983. Transmissible gastroenteritis in swine in Saskatchewan and some of the difficulties in diagnosing infection due to the virus. [Correspondence] *Can. Vet. J.* 24(4): 137.
- Bohl E.H. 1981. Transmissible gastroenteritis, p. 195-208. In: Leman A.D., Glock R.D., Mengeling W.L., Penny R.H.C., Scholl E. & Straw B. (ed.) *Diseases of Swine*, 5th ed. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
- Correa W.M. 1985. Comunicação pessoal (Fac. Medicina Vet. Botucatu, Unesp, São Paulo).
- Kasza L., Shaddock J.A. & Christophinis G.J. 1972. Establishment, viral susceptibility and biological characteristics of a swine kidney cell line SK-6. *Res. Vet. Sci.* 13:46-51.
- Kemeny L.J. 1981. Isolation of transmissible gastroenteritis virus, pseudorabies, and porcine enterovirus from pharyngeal swabs taken from market-weight swine. *Am. J. Vet. Res.* 42(11): 1987-1989.
- Morin M., Turgeon D., Jolette J., Robinson Y., Phaneuf J.B., Sauvageau R., Beaugard M., Teuscher E., Higgins R. & Lariviere S. 1983. Neonatal diarrhea of pigs in Quebec: Infectious causes of significant outbreaks. *Can. J. Comp. Med.* 47(1): 11-17.
- Prager D. & Witte K.H. 1983. Die Häufigkeit von Transmissible Gastroenteritis (TGE) - und Epizootische Virus diarrhoe (EVD) - Virus Infektionen als Ursachen seuchenhafter Durchfälle in Westfälischen Schweinezucht-und-mast Beständen. *Tierärztl. Umschau* 38(3): 155-156.
- Pritchard G.C. 1982. Observations on clinical aspects of transmissible gastroenteritis of pigs in Norfolk and Suffolk, 1980-81. *Vet. Rec.* 110: 465-469.
- Saraiva D., Barros C.S.L., Silveira P.R. & Kuntz A. 1974. Gastroenterite infecciosa em suínos de Santa Catarina. *Revta Centro Ciências Rurais, Sta Maria*, 4(3): 295-297.
- Tajima M. 1970. Morphology of transmissible gastroenteritis virus of pigs. A possible member of coronaviruses. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 19: 105-108.
- Toma B. & Benet J.J. 1976. Technique de recherche sur microplaques des anticorps neutralisant le virus de la gastro-entérite transmissible du porc. *Rec. Méd. Vét.* 152(9): 565-568.
- Toma B., Vannier Ph. & Aynaud J.M. 1978. Enquête épidémiologique sur la gastroentérite transmissible du porc en France. *Rec. Méd. Vét.* 154(10): 853-858.