

DIAGNÓSTICO



organização pan-americana da saúde
repartição sanitária pan-americana, escritório regional da
organização mundial da saúde



ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE

Repartição Sanitária Pan-Americana. Escritório Regional da

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE

CENTRO PAN-AMERICANO DE FEBRE AFTOSA

CAIXA POSTAL 589 - ZC/00 - RIO DE JANEIRO, BRASIL

D I A G N Ó S T I C O

DIAGNÓSTICO DAS ENFERMIDADES VESICULARES

CLASSIFICAÇÃO DO VÍRUS DA FEBRE AFTOSA

por

A. Alonso Fernández

e

M. S. Söndahl

1 9 7 8

(Rev. 1)

INTRODUÇÃO

De forma geral em medicina o diagnóstico é o ato de reconhecer as enfermidades e determinar seus agentes causadores, individualmente ou em populações específicas animal ou humana.

Quanto à natureza os agentes das enfermidades se classificam como físicos, químicos e biológicos. Particularizando nossos estudos pelos agentes biológicos, vamos nos referir unicamente aos vírus e mais concretamente aqueles relacionados às enfermidades vesiculares (febre aftosa, estomatite vesicular, exantema vesicular e enfermidade vesicular do suíno). A este grupo de enfermidades, por apresentar uma série de particularidades características, é conveniente ter presente para o diagnóstico os seguintes aspectos:

a) apresentam patogenicidade semelhante para as espécies receptivas, fato que obriga um diagnóstico diferencial de laboratório;

b) por serem enfermidades de elevada contagiosidade, seu controle exige rapidez no diagnóstico e na aplicação das medidas de profilaxia;

c) são produzidas por diversos tipos e subtipos (Figura 1) o que indica uma grande plasticidade destes vírus;

d) a febre aftosa, devido às grandes perdas econômicas que acarreta pela diminuição e desvalorização dos produtos de origem animal, assim como a limitação do mercado internacional, ocasionando sérios obstáculos para o desenvolvimento das nações envolvidas com este problema é a enfermidade de maior interesse em combater por parte dos países afetados. Está distribuída na maioria dos países da América do Sul, produzida pelos tipos O, A e C;

e) os vírus de estomatite vesicular do tipo New Jersey e tipo Indiana estão presentes nos Estados Unidos da América do Norte, México, América Central, Panamá, Venezuela, Colômbia,

Equador e Peru. O tipo Cocal foi diagnosticado em Trinidad (1962), Argentina (1963) e Brasil (1965). O tipo Alagoas foi descrito no Brasil em 1964. Os tipos Cocal e Alagoas também são conhecidos como subtipos Indiana 2 e 3, respectivamente;

f) O exantema vesicular do suíno é uma enfermidade histórica, tendo sido diagnosticada nos Estados Unidos da América do Norte a partir de 1932, inicialmente na Califórnia e posteriormente em outros Estados, e a partir de 1955 não foi descrita nem identificada em qualquer outro país. Foram identificados unicamente tipos de vírus;

g) a enfermidade vesicular do suíno foi diagnosticada inicialmente na Itália em 1966 e posteriormente notificada em Hong Kong, Polônia, Áustria, Checoslováquia e Inglaterra. Até o momento não foi diagnosticada nas Américas. Não se conhece diferentes tipos e subtipos;

h) não se pode desprezar o fato de que na América do Sul um dia possa aparecer um tipo exótico do vírus da febre aftosa (SAT₁, SAT₂, SAT₃ ou Ásia₁) assim como focos de estomatite vesicular podem se apresentar em regiões onde nunca existiram;

i) com respeito a área livre de febre aftosa, essa correrá permanentemente o risco de ser afetada por esta enfermidade.

Portanto em nossas condições, o diagnóstico compreende definir, comprovar e delimitar geograficamente o que temos no momento atual (Figura 2). Devemos estar sempre preparados para detectar o mais rápido possível um surto de febre aftosa produzido por um vírus exótico, já que da rapidez do diagnóstico dependerá o êxito de sua erradicação. Estes fatores fazem com que o diagnóstico seja um trabalho de integração entre epidemiologistas, clínicos e laboratório, correspondendo a cada, uma missão específica que representa uma responsabilidade a cumprir.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

É o diagnóstico clínico que vai determinar o tipo de enfermidade, mediante a observação dos sintomas nos indivíduos enfermos.

A patogenicidade dos vírus das enfermidades vesiculares é de natureza epiteliotrópica, provocando lesões do tipo vesicular principalmente nos epitélios da boca, língua, patas e úberes, acompanhadas de um estado febril e transtornos gerais, mais ou menos acentuados, sendo suscetíveis os bovinos, suínos, ovinos, caprinos e outros biungulados domésticos e selvagens. Os bovinos e ovinos são sensíveis à febre aftosa e à estomatite vesicular, os suínos podem enfermar com as quatro enfermidades do grupo das vesiculares e os equinos estão sujeitos de forma natural, somente à estomatite vesicular. (A Figura 3 indica uma série de lesões passíveis de se confundir comparativamente com as do tipo vesicular).

O vírus da febre aftosa em algumas ocasiões produz vesículas no aparelho digestivo (rúmen principalmente), pode afetar o miocárdio (coração tigrado), músculos esqueléticos, em alguns casos lesões no pâncreas e também alterações nervosas. O vírus de estomatite vesicular é epitélio-neurotrópico.

Os dados clínicos por si só não são suficientes para determinar com precisão a enfermidade e muito menos o tipo de vírus, porém podem ser valiosos para o pessoal de laboratório e epidemiologistas no caso de um surto produzido por um vírus exótico de febre aftosa ou outra enfermidade vesicular.

A coleta de materiais que se segue a todo o exame clínico deverá prever a obtenção de duas ou três amostras por foco, que permitam um diagnóstico correto (na Figura 4, indica-se a influência da qualidade dos materiais nos resultados obtidos pela fixação do complemento). Para se obter amostras de qualidade aceitável é aconselhável seguir as indicações da Figura 5. Quando é impossível obter materiais virulentos

adequados, o soro de convalescentes de duas ou três semanas é um elemento útil para o diagnóstico. Em caso de mortes, durante a necrópsia se devem tomar amostras dos órgãos afetados (coração, músculo esquelético, rúmen, etc.).

O envio de amostras se deve fazer pensando que o vírus é sensível a variação de pH, calor, etc., e que posteriormente se rão submetidos a investigações basicamente biológicas. Estes detalhes unidos a que qualquer foco se deve diagnosticar o mais rapidamente possível, obriga a que o envio de amostras ao laboratório seja em caráter de urgência, protegendo-as contra os agentes físicos e químicos que as deterioram. (Na Figura 6, indica-se a repercussão do calor na infecciosidade das amostras de campo).

DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO

Ocupa-se de analisar os elementos que em cada foco formam o aspecto epidemiológico da enfermidade.

Os elementos de suspeita para as enfermidades vesiculares correspondem ao caráter de alta contagiosidade, que se traduz por elevada taxa de morbidade e escassa mortalidade, assim como a determinação das espécies afetadas, referidas às idades dos animais enfermos.

Com base nesse tipo de observações foi possível através do diagnóstico epidemiológico suspeitar de estomatite vesicular em eqüinos, na província de Buenos Aires (Argentina) em 1963 e nos Estados de Alagoas (1963), São Paulo (1965 e 1966), Minas Gerais (1971 e 1972), o que depois se comprovou mediante provas de laboratório. Nas Figuras 7 e 8 se relacionam dados sobre espécies afetadas e na Figura 9 a morbidade e mortalidade de diversas enfermidades, que poderiam se confundir com as vesiculares.

Também é de grande interesse observar se a população está submetida a vacinações e revacinações sistemáticas, quando

se realizou a última vacinação, a incidência em áreas vizinhas, medidas que foram tomadas e quais os resultados proporcionados.

A virulência, que é uma expressão da interação agente-hóspede-ambiente, e que se expressa pelos parâmetros de morbidade e mortalidade, estará influenciada, entre muitos outros fatores, pela cepa de vírus atuante no momento, pelo estado imunitário da população afetada, etc. Quadros de morbidade sobrepassando os habituais em populações vacinadas com vacinas comprovadamente imunogênicas, são indicadores de que o vírus sofreu variações profundas (novo subtipo), assim como poderia tratar-se de um novo tipo ou outra enfermidade vesicular. Neste sentido existem exemplos explicativos da influência da trilogia agente-hóspede-ambiente na virulência. A epidemia do Oriente Médio em 1961 ocasionada pelo tipo SAT₁ e a do Peru em 1963 produzida pela cepa O₁ Urubamba, caracterizaram-se por uma alta morbidade em ovinos. No Uruguai, Argentina e Sul do Brasil em 1934-44 produzida pelo tipo C-Waldmann e da Argentina durante o ano de 1963 pelo subtipo O₁, apresentaram uma morbidade mais elevada que a normal em bovinos principalmente jovens.

Ultimamente a aftosa em suínos aparece com mais destaque. Provavelmente não se trata de um aumento da virulência do vírus para esta espécie e sim de um melhor estado imunitário da população bovina, havendo portanto uma diminuição da incidência da enfermidade nesta espécie. Esta situação indiretamente faz ressaltar a aftosa em suínos.

As enfermidades vesiculares no continente Americano estão assim distribuídas:

- a) Países livres de febre aftosa e de estomatite vesicular:
Canadá e países do Caribe, Guiana, Surinam e Guiana Francesa;
- b) Países livres de febre aftosa porém com estomatite vesicular:
Estados Unidos, México, países da América Central e Panamá;

- c) Países com febre aftosa e com estomatite vesicular:
Venezuela, Colômbia, Equador e Peru;
- d) Países com febre aftosa e livres de estomatite vesicular:
Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai.

DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO

O diagnóstico de laboratório está encaminhado para confirmar o diagnóstico clínico e epidemiológico, comprovando a presença do vírus causador da enfermidade indicando o tipo e o subtipo.

Normalmente o laboratório de diagnóstico de enfermidades vesiculares recebe dois tipos de materiais para determinar o agente causador da enfermidade.

1) Materiais Infecciosos (Figura 10)

São normalmente os epitélios obtidos nas lesões linguais, bucais, podais ou de úbere, materiais nos quais se pode detectar o vírus com relativa facilidade, podendo ser também utilizado, porém com menos possibilidade de êxito, sangue, saliva, material de necrópsia, etc. Em todos estes materiais o elemento a determinar é o vírus (antígeno), que serão enfrentados a anticorpos conhecidos mediante o emprego de provas físico-químicas (*in vitro*) e biológicas (*in vivo*).

a) Provas físico-químicas

Ainda que existam inúmeras técnicas de diagnóstico dentro deste grupo, para as enfermidades vesiculares se utiliza quase exclusivamente a fixação do complemento (FC) que serve para diferenciar a febre aftosa da estomatite vesicular e determina ainda o tipo e subtipo do vírus, dependendo dos soros hiperimunes que se utilizem na reação, sendo uma prova altamente eficaz para o diagnóstico (Figura 11).

Com esta técnica, quando se dispõe de amostras de boa qualidade, obtêm-se uma alta percentagem de resultados positivos dentro de algumas horas. Os resultados negativos em fixação do complemento podem ser atribuídos, na maioria dos casos, às deficiências das amostras.

b) Provas biológicas

Analisam a infecciosidade do vírus, ou seja, a sua capacidade de produzir a enfermidade experimentalmente em diversos animais de laboratório. São submetidas a estas provas todas as amostras que proporcionaram resultados negativos na prova de fixação do complemento. Os materiais que se apresentarem infecciosos (positivos) nas provas biológicas, são controlados novamente em FC. O comportamento dos vírus das enfermidades vesiculares para distintos animais de laboratório e cultivos celulares está sumarizado na Figura 12.

2) Soro (Figura 13)

O soro de animais convalescentes da enfermidade é também apropriado para efetuar o diagnóstico. Para ele, ao inverso do que ocorre quando se recebe materiais infecciosos, se deverá contar com antígenos conhecidos. As provas usuais para efetuar o diagnóstico a partir do soro estão indicadas na Figura 14.

Um diagnóstico de laboratório negativo não significa que os animais não tenham enfermado de febre aftosa ou estomatite vesicular, apenas indica que no material ou soro remetido foi impossível detectar o vírus ou seus anticorpos.

DIAGNÓSTICO MEDIANTE O VIA

Para o vírus da febre aftosa existem os antígenos 140 S (virion), 75 S ("vírus vazio" - virion desprovido de RNA), 12 S (subunidades víricas) e VIA (vírus associado à infecção). Todos estes antígenos possuem a propriedade de formar anticorpos específicos (Figura 15).

O antígeno VIA corresponde a polimerase (RNA-replicase), e se forma sempre quando há replicação do vírus da febre aftosa, portanto em todos os animais que padecerem da enfermidade nas diversas formas descritas em epidemiologia, se produzirá o antígeno VIA e posteriormente se formarão os anticorpos anti-VIA. Em animais vacinados com vacinas inativadas não se formará antígeno VIA, já que não deverá haver replicação do vírus, como consequência não se formarão anticorpos anti-VIA.

Tanto o antígeno como o anticorpo anti-VIA específicos de febre aftosa produz reação cruzada com o seu homólogo e com os demais tipos de vírus que produzem febre aftosa, com exceção do tipo SAT₂, o que impede a utilização dessas observações em trabalhos de tipificação, entretanto se torna de grande utilidade para o diagnóstico de febre aftosa. A difusão em agar, segundo a Dupla Difusão de Ouchterlony e a Difusão Radial de Mancini, permite o estudo dos anticorpos anti-VIA, extendendo o diagnóstico além dos animais enfermos, podendo ser também de grande utilidade para estudos de epidemiologia, para diagnosticar a presença de um vírus exótico, para controlar a inocuidade das vacinas a partir do soro dos animais vacinados, e outros aspectos relacionados com a replicação viral e a imunidade (Figuras 16 e 17).

O diagnóstico não deve se limitar a definir uma enfermidade e o agente causador da mesma, como também realizar uma profunda análise da situação e das medidas necessárias para impedir que prognósticos desfavoráveis se façam realidade.

CLASSIFICAÇÃO DO VÍRUS DA FEBRE AFTOSA

INTRODUÇÃO

A febre aftosa é produzida por um vírus descoberto em 1897 por Loeffler e Frosch, sendo o primeiro vírus dos animais a ser identificado. Trata-se de um dos vírus de menor tamanho que se conhece, possui estrutura cúbica (Icosaedro) e está enquadrado entre os Picornavirus. O "virion" tem um diâmetro de $23 \text{ m}\mu \pm 2$ e um coeficiente de sedimentação (S) de 140 S, é um vírus desnudo, resistente ao clorofórmio, sensível ao pH 3, estando composto por ácido ribonucleico (RNA) e proteína muito simples.

A princípio acreditava-se na existência de um único vírus, porém posteriormente se identificaram sete diferentes tipos imunológicos, os quais têm a seguinte denominação, seguido do descobridor, ano da identificação e também a distribuição por continente:

<u>Tipo</u>	<u>Descobridor e ano</u>	<u>Continentes afetados</u>
O Vallée	Vallée e Carrée (1922)	Europa, Ásia, África, América do Sul
A Vallée	Vallée e Carrée (1922)	Europa, Ásia, África, América do Sul
C Waldmann	Waldmann e Trautwein (1926)	Europa, Ásia, África, América do Sul
SAT-1	Galloway e Brooksby (1948)	África e Ásia
SAT-2	Galloway e Brooksby (1948)	África
SAT-3	Galloway e Brooksby (1948)	África
ÁSIA-1	Brooksby e Rogers (1957)	Ásia

A diferença imunológica entre estes tipos é tamanha que os animais no primeiro período de convalescência de um tipo e perfeitamente protegidos contra ele, não estarão para os outros tipos.

Dentro de cada um dos sete tipos conhecidos se têm identificado diferentes cepas entre si, as quais se agrupam em subtipos de acordo a seu comportamento sorológico (Figura 18). A marcada plasticidade do vírus da febre aftosa está perfeitamente comprovada através dos 65 subtipos diagnosticados até o momento. Existe imunidade cruzada entre os diversos subtipos enquadrados em um mesmo tipo, porém o grau de imunidade não é idêntico para todos eles, variando em intensidade e na duração, que será mais prolongada para o subtipo homólogo do que para os heterólogos.

CLASSIFICAÇÃO DE SUBTIPOS

A realidade da existência de subtipos e o aparecimento de outros novos, determinou que a Comissão Européia de Febre Aftosa criasse em 1958 o Laboratório Mundial de Referência, situado em Pirbright (Inglaterra), para que servisse de referência e estabelecesse uma nomenclatura internacional.

Posteriormente em 1967 em Lyon (França), realizou-se o Simpósio Internacional sobre Variantes e Imunidade do Vírus da Febre Aftosa, no qual foram estandarizadas as normas técnicas que deverão ser aplicadas para a classificação dos subtipos.

As mesmas normas são utilizadas para a classificação do vírus da estomatite vesicular, a partir da obtenção das relações antigênicas e imunológicas (r), entre as cepas e o Parentesco (R).

DENOMINAÇÃO DO VÍRUS DE FEBRE AFTOSA

Uma correta denominação do vírus da febre aftosa implica em indicar o tipo e subtipo. O tipo estará indicado pela letra com a qual foi designado, acompanhada do nome de seu descobridor.

O subtipo será sempre designado pelo número que se segue a letra que indica o tipo. A identificação da cepa será sempre omitida, a não ser que se trate de trabalhos técnicos.

Na atualidade, estão presentes no continente Sul-americano, os seguintes subtipos especificando-se os países em que estão identificados:

P a í s e s	O ₁	A ₂₄	A ₂₇	A ₃₂	A*	C ₃
Argentina	x	x	-	-	-	x
Bolívia	x	x	-	-	-	x
Brasil	x	x	-	-	*	x
Colômbia	x	-	x	-	-	-
Chile	-	-	-	-	-	-
Equador	x	x	x	-	-	-
Paraguai	x	x	-	-	-	x
Perú	x	-	x	-	*	-
Venezuela	x	-	x	x	-	-
Uruguai	x	x	-	-	*	x

*Amostras do tipo A com diferenças sorológicas.

FORMAÇÃO DOS SUBTIPOS

Sabemos pela virologia que o vírus da febre aftosa é estruturalmente de composição muito simples, fato que pode induzir uma mutação, que poderá ocorrer durante a multiplicação. Para que o vírus possa multiplicar-se é necessário a replicação do seu ácido ribonucleico (RNA) e também da produção da proteína viral. A replicação do RNA estabelece a presença de polimerase (RNA-replicase) na célula infectada. Esta polimerase tem a propriedade de ser altamente mutágena e pode introduzir erros com relativa facilidade na composição de alguns RNA descendentes

com modificação do seu caudal genético. Se este "MUTANTE" infectar novas células e conseguir dominância sobre o resto da população viral, estaremos diante de uma "VARIANTE", que com relação à população anterior haverá sofrido modificações em suas características biológicas (infectividade, virulência, resistência, antigenicidade, imunogenicidade, etc.), tão profundas quanto tenha sido a mutação no RNA. Esta mutação para que se faça perceptível terá de superar a população viral não mutante, fato que será favorecido mediante a seleção em animais parcialmente imunes, nos quais os anticorpos serão mais afins para os vírus não mutantes, enquanto serão menos para o mutante, havendo portanto maior chance para esse último sobreviver.

Tem-se comprovado que a capacidade de mutação do vírus da febre aftosa para um caráter é de 1 em 10.000 e, como vimos anteriormente, para que esta variante surja, é necessário um processo de seleção. Este segundo aspecto faz com que as possibilidades de aparecimento de novos subtipos não sejam tão grandes, como inicialmente se supõe. É conveniente porém ter bem presente que as campanhas antiaftosas correm sempre o risco do aparecimento de um novo subtipo, risco que estará em relação direta com o número de casos e focos, favorecidos também pelas imunizações de baixo nível.

A Figura 19 demonstra a transformação progressiva do subtipo O₁ em Omat₆₆, exemplo comprovado no Matadouro de Santos, mediante passagens sucessivas do primeiro em bovinos destinados ao sacrifício.

Uma característica do vírus Omat₆₆ é a de ser um excelente estimulador da produção de polimerase, apresentando a particularidade de que o "virion" desta cepa libera com facilidade as subunidades protéicas, o que se traduz por uma viabilidade quase nula.

A época em que foram utilizadas vacinas do tipo "Waldmann", isto é, quando o antígeno era obtido através de passagens do vírus em bovinos nos matadouros, destacou-se pelo

aparecimento de subtipos com características similares a da cepa Omat₆₆. Estes subtipos, indicados na lista internacional, são: O₃, A₁₃, A₁₆, A₁₇ e A₁₉. Todos foram utilizados na produção de vacinas, porém não tiveram difusão no campo.

Estas observações sobre a variabilidade do vírus da febre aftosa nos leva a considerar que o aparecimento de uma variante é uma condição intrínseca do vírus favorecida pela presença de animais parcialmente imunes.

Este panorama, capaz de comprometer toda a estrutura de uma campanha, poderá se desenhar a nível de campo quando os imnógenos utilizados sejam de qualidade duvidosa, e quando as medidas de profilaxia e policiamento sanitário forem mal executadas, permitindo o acesso e o intercâmbio de vírus entre populações de diferentes áreas.

Alterações com estas características estarão constantemente sucedendo no campo, chamando a atenção para que epidemiologistas, clínicos e pessoal de laboratório estejam em permanente estado de alerta e cumpram com eficiência a tarefa que lhes está encomendada.

SELEÇÃO DE AMOSTRAS PARA CLASSIFICAR

Deverão ser selecionadas amostras procedentes de surtos que proporcionam quadros epidemiológicos, que superam significativamente a percentagem de morbidade esperada quando relacionada com o estado imunitário da população afetada ou amostras que procedam de quadros clínicos anormais, acompanhadas de mudanças significativas na antigenicidade, quando comparadas com as amostras anteriores de campo, do mesmo tipo. Isto se conseguirá mediante a tipificação e subtipificação rotineira de todos os focos, sendo imprescindível os dados proporcionados pelo diagnóstico epidemiológico e clínico. As amostras assim selecionadas serão então classificadas sorológica e imunologicamente.

CLASSIFICAÇÃO SOROLÓGICA

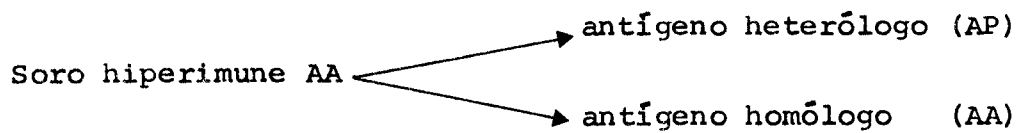
A determinação do agente etiológico a partir de animais supostamente enfermos de febre aftosa, a princípio se fez mediante provas cruzadas em bovinos e cobaios convalescentes. A partir dos trabalhos de Traub e Mölhmann de 1943 e 1946, que comprovaram que o diagnóstico da febre aftosa poderia ser realizado mediante a prova de fixação do complemento (FC), esta técnica substituiu inteiramente as provas de imunidade cruzada.

A Fixação de Complemento (método 50%) é muito útil para estudos de novos subtipos, permitindo conhecer e determinar as diferenças antigênicas existentes entre distintas cepas do vírus da febre aftosa. Seu valor entretanto está limitado unicamente como técnica de apoio no processo de classificação já que os estudos a nível de imunidade é que irão determinar o reconhecimento ou não de um novo subtipo.

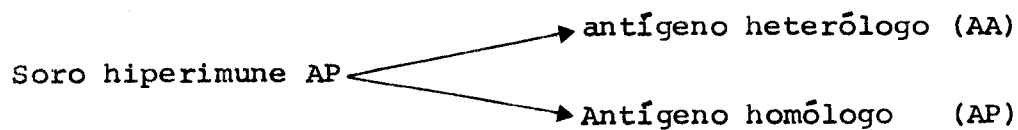
A classificação de um "subtipo sorológico" implica:

a) Produção de soro hiperimune com a amostra que se deseja classificar (AP);

b) obtenção das Relações (r_1 e r_2), que surgem do enfrentamento em fixação do complemento dos soros hiperimunes AA (amostra anterior) e AP (amostra problema) com os antígenos heterólogos e homólogos quando se utiliza o seguinte esquema:



$$r_1 \text{ AA} = \frac{\text{Intensidade reação heteróloga (AP)}}{\text{Intensidade reação homóloga (AA)}}$$

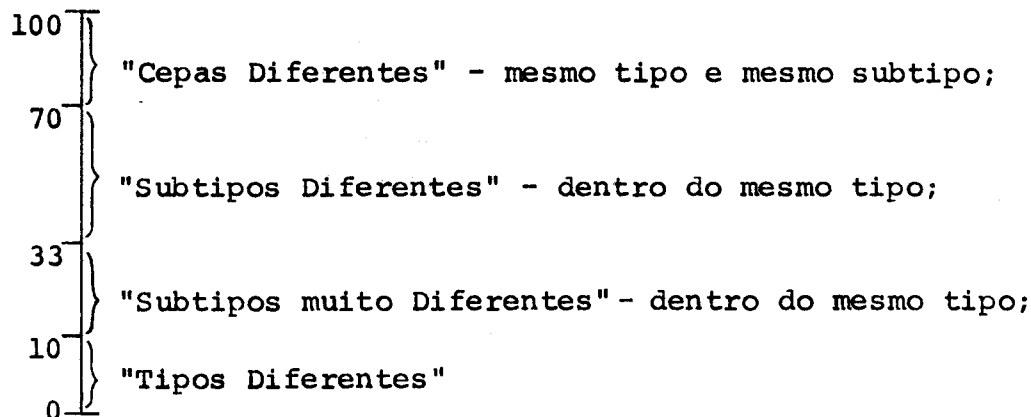


$$r_2 \text{ AP} = \frac{\text{Intensidade reação heteróloga (AA)}}{\text{Intensidade reação homóloga (AP)}}$$

c) Uma vez obtidos os valores de "relação" (r), calcula-se o "Parentesco" (R) segundo a fórmula:

$$R = 100 \sqrt{r_1 \times r_2}$$

Os valores de Parentesco assim obtidos estarão compreendidos em uma escala de 0 e 100 assim interpretados:



A Figura 20 apresenta os valores de Parentesco (R) do tipo A Vallée, subtipo A₂₄, cepa A₂₄ Cruzeiro, quando enfrentado sorologicamente a diferentes subtipos do tipo A Vallée.

A classificação do vírus da febre aftosa nos países que estão empreendendo campanhas antiaftosas, baseadas na imunização preventiva, tem por finalidade conhecer os subtipos existentes no campo, para que possam ser determinados os riscos que a presença destes subtipos supõem a população susceptível e para que possa ser estabelecida uma adequada barreira imunitária que elimine estes riscos.

CLASSIFICAÇÃO IMUNOLÓGICA

Determinada a importância epidemiológica e a variação antigênica nas cepas de campo, será necessário conhecer a ameaça

que estas cepas oferecem à população sob controle, determinando a cobertura imunológica das vacinas e da cepa utilizada na produção. A cobertura das vacinas será conhecida através de um controle de imunidade cruzada entre as cepas de campo e a de produção. Assim, serão produzidas vacinas com as amostras "AA" e "AP" e posteriormente, cada vacina é controlada frente as duas cepas, utilizando-se os métodos de controle de imunidade estabelecidos para as vacinas antiaftosas. Finalmente, com os valores da comprovação se calculam as relações e o Parentesco, aplicando-se as normas indicadas para a classificação sorológica.

Dessa maneira, apesar de demonstrada uma relação entre ambas as classificações, para estabelecer a presença de um novo subtipo a imunológica é a definitiva.

O passo final antes de considerar a cepa em estudo como um novo subtipo dentro da lista internacional, consistirá na obtenção dos Parentescos com os demais subtipos já classificados, utilizando-se então a fixação do complemento, já que seria impraticável realizar provas de imunidade cruzada entre todos os subtipos reconhecidos.

Através da análise dos dados proporcionados pela classificação do vírus e pelo controle de qualidade das vacinas utilizadas no campo, se poderá prognosticar o risco que a cepa estudada apresenta para a campanha, fator que irá determinar as medidas a adotar-se para suprimi-lo.

REFERÊNCIA PARA AS AMÉRICAS

O Centro Pan-Americano de Febre Aftosa, criado em 1951, com sede no Rio de Janeiro, tem como um dos seus objetivos o de investigar, coordenar e ensinar o diagnóstico da enfermidade em escala continental, como Centro de Referência para as Américas, atuando de intermediário, entre os países americanos e o Laboratório Mundial de Referência, fornecendo ainda os vírus e soros hiperimunes de referência.

Além da estreita colaboração e assistência técnica aos países, o Centro promove adestramento de pessoal técnico em diagnóstico mediante cursos anuais, promovendo a cada três anos um seminário de atualização para chefes de Laboratórios Nacionais de Diagnóstico. Como consequência destes cursos e seminários, todos os países afetados por febre aftosa dispõem de laboratórios e pessoal capacitado para realizar um diagnóstico diferencial e determinar o aparecimento de subtipos, utilizando idêntica metodologia.

A Figura 21 apresenta a localização da rede de laboratórios de diagnóstico das enfermidades vesiculares, nas Américas.

Figura 1

CLASSIFICAÇÃO DOS TIPOS DE VÍRUS DO
GRUPO DAS DOENÇAS VESICULARES

Febre Aftosa	Estomatite Vesicular	Exantema Vesicular	Enfermidade vesicular suíno
O Vallée	N.J.	1-34	EVS
A Vallée	Ind.	101-43	
C Waldmann	Cocal	A	
SAT ₁	Alagoas	B	
SAT ₂		C	
SAT ₃		D	
Ásia ₁		E	
		F	
		G	
		H	
		I	
		J	
		K	

Figura 2

FEBRE AFTOSA
CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA REGIONAL
AMERICA DO SUL. 1977.

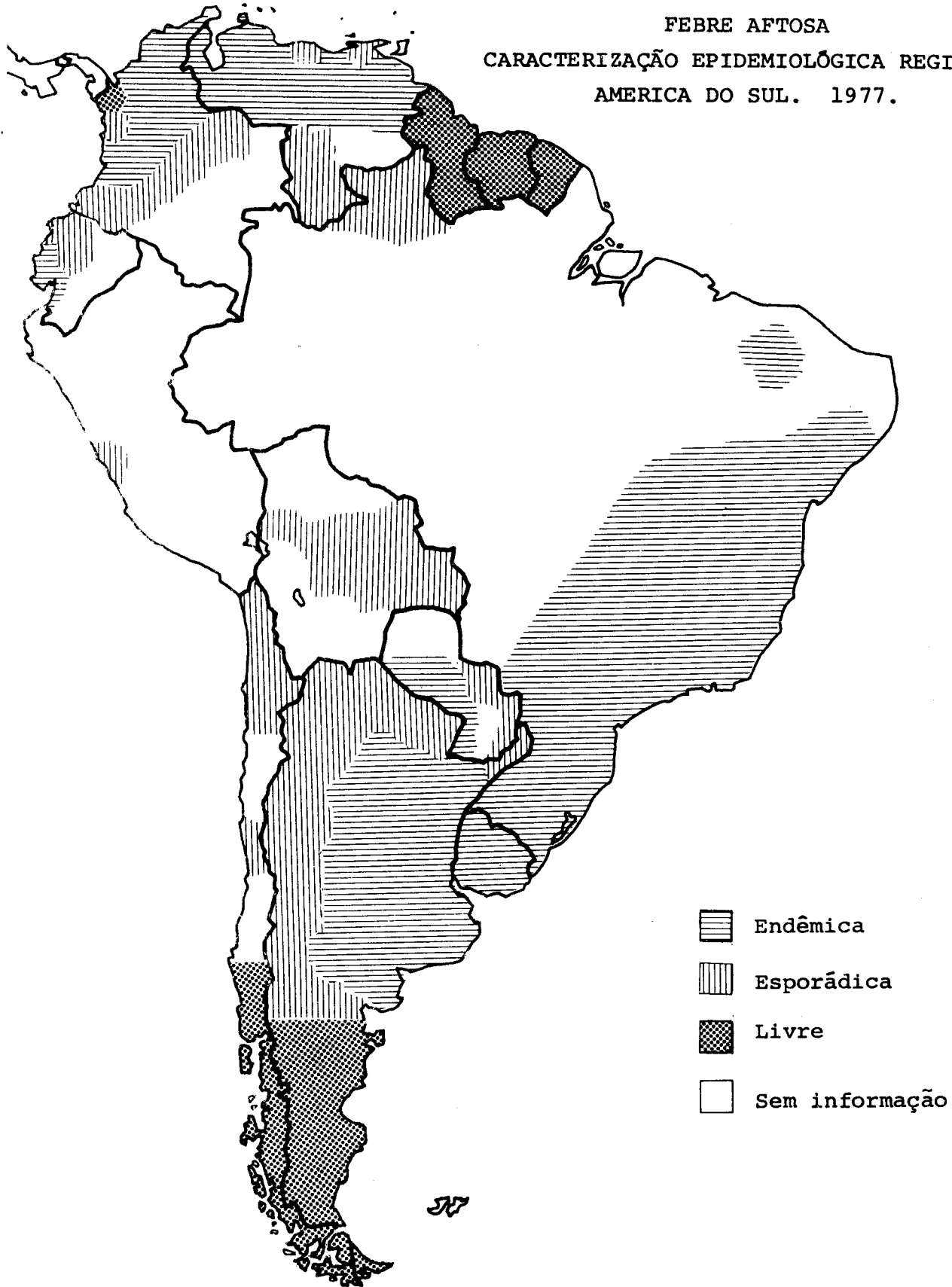


Figura 3

DESCRIÇÃO ESQUEMÁTICA DAS LESÕES CLÍNICAS DA ESTOMATITE



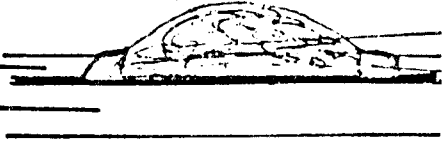
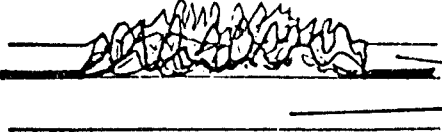
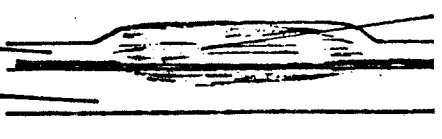
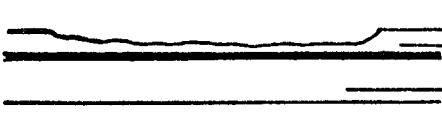
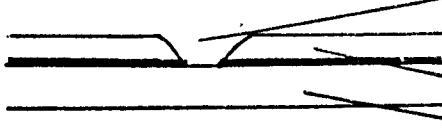
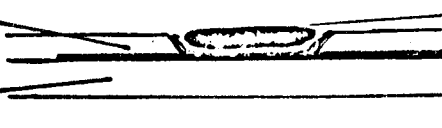
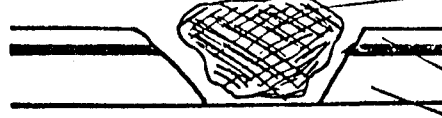
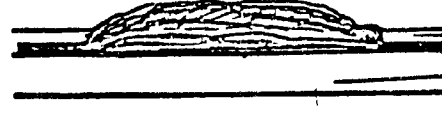
<p>AFTA, VESÍCULA OU AMPOLA (ex.: Febre Aftosa)</p>		<p>linfa epiderme Camada de derme Malpighi</p>
<p>PÁPULA (ex.: Estomatite pseudo Aftosa e Papulosa)</p>		<p>elevação fechada seca borde hemorrágico epiderme derme</p>
<p>PÚSTULA (ex.: Variola)</p>		<p>pus auréola inflamatória epiderme derme</p>
<p>LESÕES PAPILOMATOSAS (ex.: Estomatite pseudo Aftosa)</p>		<p>epiderme derme</p>
<p>EXANTEMA (ex.: Exantema Vesicular do suíno) A vesícula se prende a esta lesão.</p>		<p>mancha vermelha irregular estendida com fenômenos inflamatórios que desaparecem sob a pressão do dedo.</p>
<p>EROSÃO (ex.: raspado)</p>		<p>epiderme derme</p>
<p>ESCORIAÇÃO (ex.: raspado)</p>		<p>perda de substância superficial traumática epiderme derme</p>
<p>EXULCERAÇÃO (ex.: lesão de febre aftosa depois da queda do epitélio). Também se observam na enfermidade das mucosas.</p>		<p>serosidade coagulada, ou tecido necrosado, ou falsa membrana epiderme derme</p>
<p>ULCERAÇÃO - ÚLCERA (ex.: antiga lesão de coriza gangrenosa)</p>		<p>falsa membrana fibrino-purulenta necrosada. epiderme derme</p>
<p>COSTRA (período final da pústula. Ex.: Variola)</p>		<p>epiderme derme</p>

Figura 4

PERCENTAGEM DE DIAGNÓSTICOS + E - NO I.P.V.D.F. COM AMOSTRAS DE CAMPO RECEBIDAS EM 1970 CLASSIFICADAS DE ACORDO COM A QUALIDADE DO MATERIAL

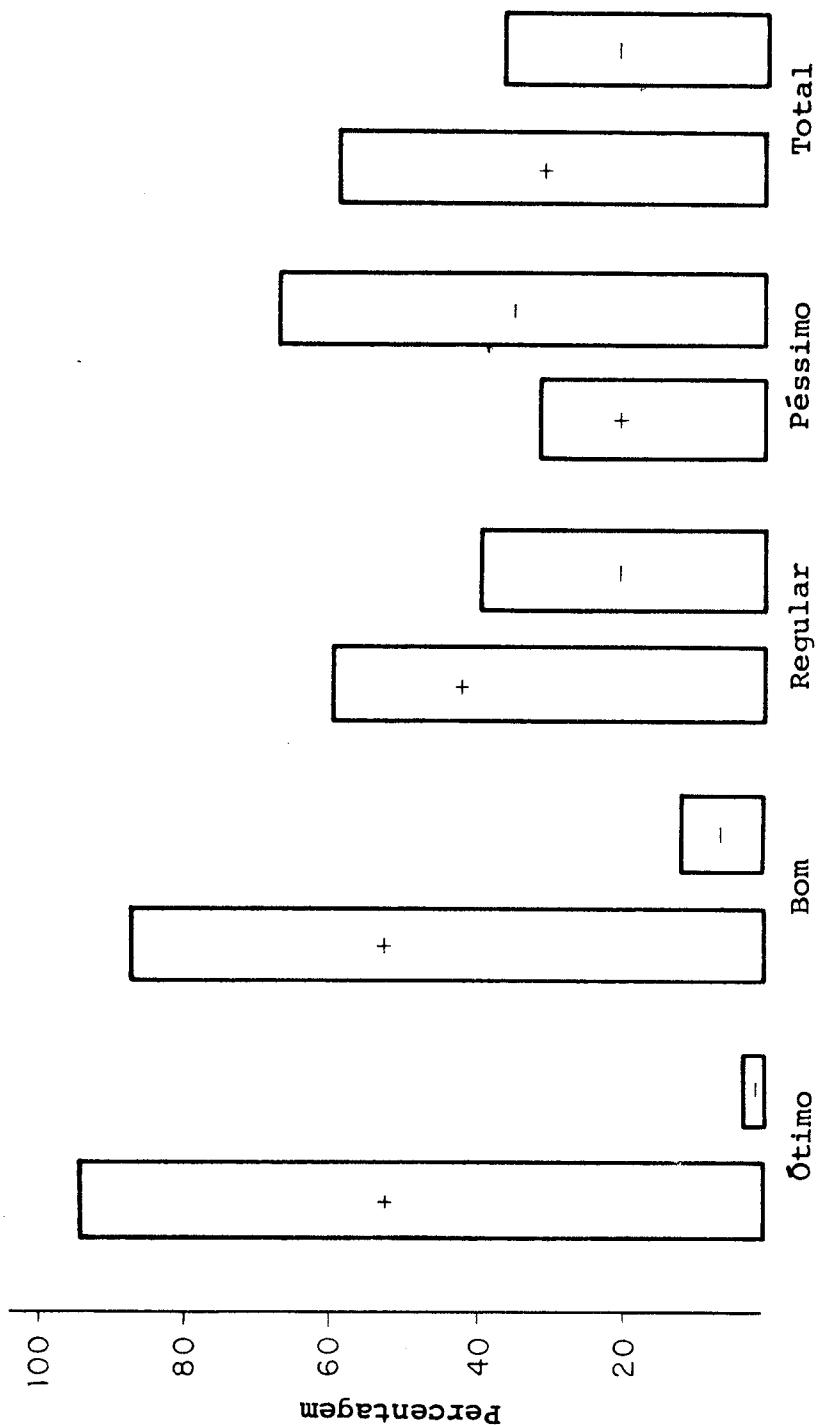
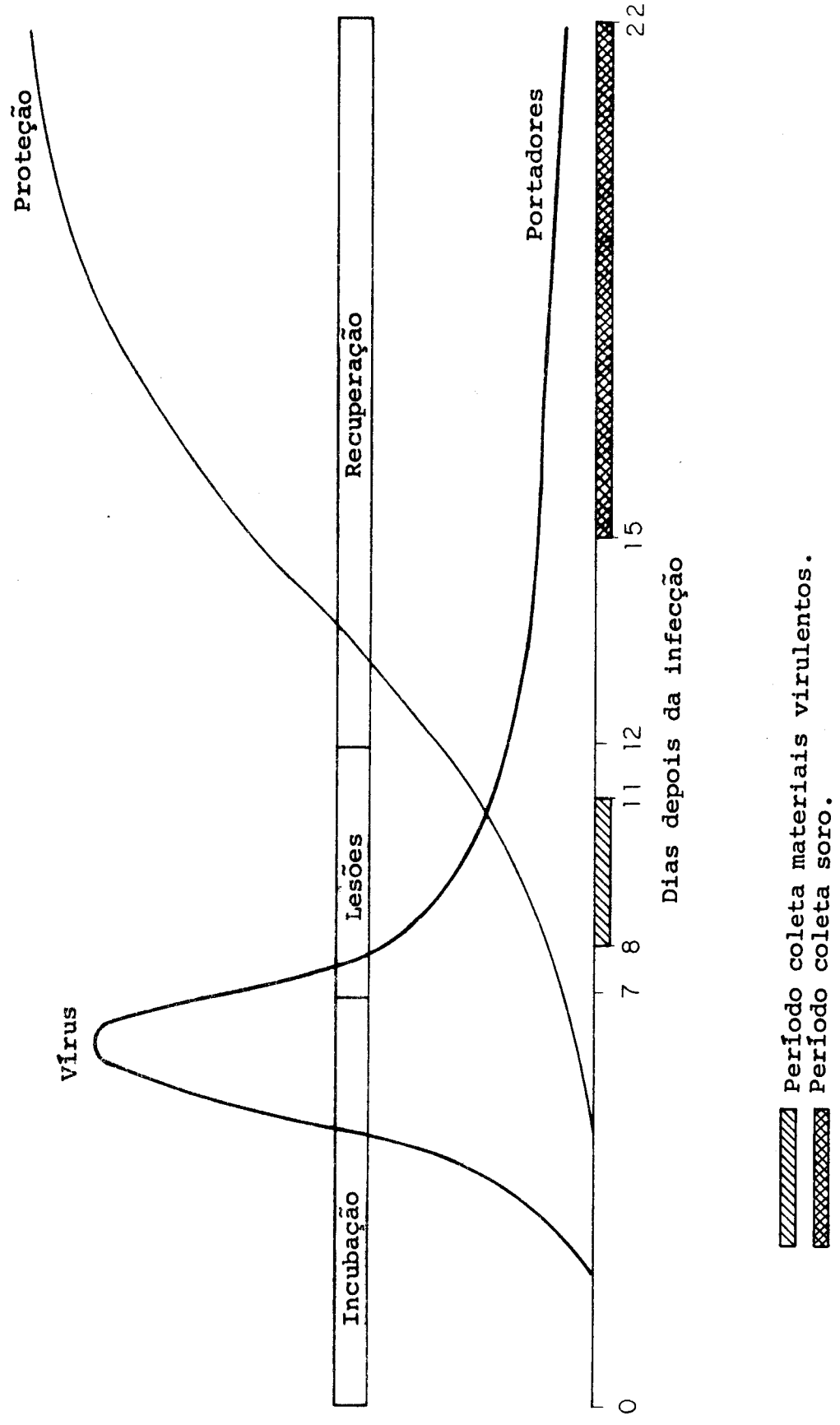


Figura 5

EVOLUÇÃO TEÓRICA DA FEBRE AFTOSA EM UM INDIVÍDUO INFECTADO



▨ Período coleta materiais virulentos.
▩ Período coleta soro.

Figura 6

PERCENTAGEM DE AMOSTRAS DE CAMPO QUE RESULTARAM NEGATIVAS
EM FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO DIRETA E QUE POR PASSAGENS EM CAMUNDONGO LACTENTE
OU EM CÉLULAS FORAM POSITIVAS NO I.P.V.D.F. EM 1970

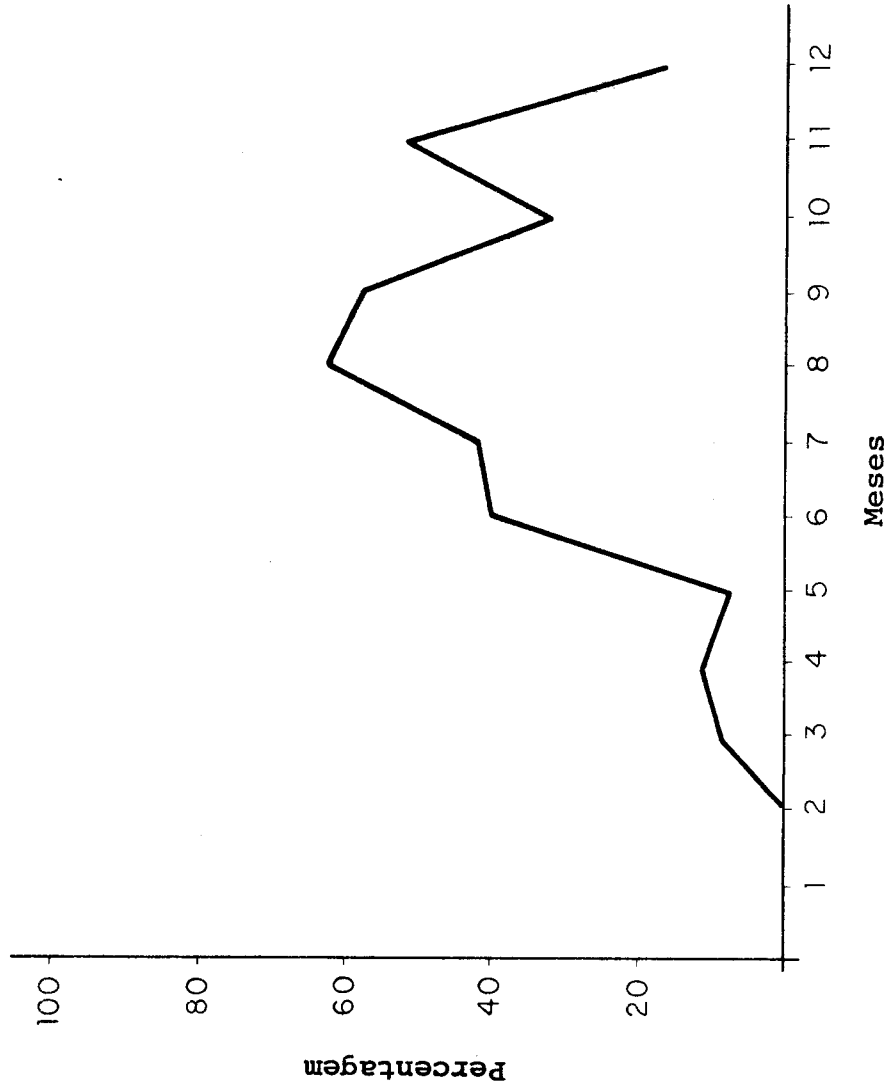


Figura 7

Doenças	Tipo de lesões ao princípio da infecção	Espécies afetadas	Local das lesões										Contagiosidade	Morbidade %	Mortalidade	
			Boca			Foco e nã riz	Pele	Mamas	Órgãos genitais	Partas	Afetou o esta do geral	Adultos %			Jovens %	
			Língua	Gen. gi-vas	Inf. dar											
																Sup.
Febre aftosa	vesícula	bovinos, ovinos caprinos, porc. domést. e selv.	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	100	0 ou 80 (1)	20 a 100 (1)	
Estomatite pseudo-aftosa papulosa	pápula lesões papilomatosas	bovinos	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	80 a 100	0	0	
Doenças das mucosas	ulceração com necrose	bovinos	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	80 a 100	0	10 a 20	
Coriza gangrenosa	ulceração purulenta	bovinos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	60 a 80	80 a 100	
Rinotraqueíte	ulceração fibrinopurulenta	bovinos	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	10 a 20	3 a 10	3 a 10	
Varíola	pústula	bovinos, ovinos caprinos, suínos, eqüinos, etc	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	80 a 100	0	0	
Estomatite vesicular	vesícula	bovinos, ovinos caprinos, suínos, eqüinos	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	50 a 100	0	0	
Peste bovina	vesícula, ulceração seguida com necrose	bovinos, ovinos caprinos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100	60 a 80	80 a 90	
Estomatite ulcerosa	pústula	ovinos caprinos	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	90 a 100	0	0	
Varíola (varíola ovina)	pústula	ovinos	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	80 a 100	2 (1)	10 (1)	
Febre catarral ovina	ulceração congestiva	ovinos	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	60 a 80	5 ou 50 (1)	10 ou 60 (1)	
Exantema vesicular	exantema vesicular	suínos	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	100	?	?	

(1) De acordo com a virulência e o tropismo do vírus.

Figura 8

PATOGENICIDADE DO VÍRUS DE DIVERSAS DOENÇAS QUE PODERIAM CONFUNDIR-SE COM A FEBRE AFTOSA

Espécie	Febre aftosa	Estomatite vesicular	Exantema vesicular	Ectima contagiosa	Língua azul	Peste Bovina	Doenças das mucosas	Enf. Ves. do suíno
Equina	-	(+)	-	-	-	-	-	-
Bovina	(+)	+	-	-	+	(+)	(+)	-
Ovina	+	+	-	(+)	(+)	+	+	-
Suína	+	+	(+)	-	-	+	-	(+)
Características	Vesicular	Vesicular	Vesicular	Pustular	Pápu-las	Ves. Exul. Necr.	Ulceração	Vesicular

- + = Receptivo.
- = Refratário.
- (+) = Espécies mais receptivas.

Figura 9

VIRULÊNCIA DE DIVERSAS DOENÇAS QUE PODERIAM CONFUNDIR-SE COM A FEBRE AFTOSA

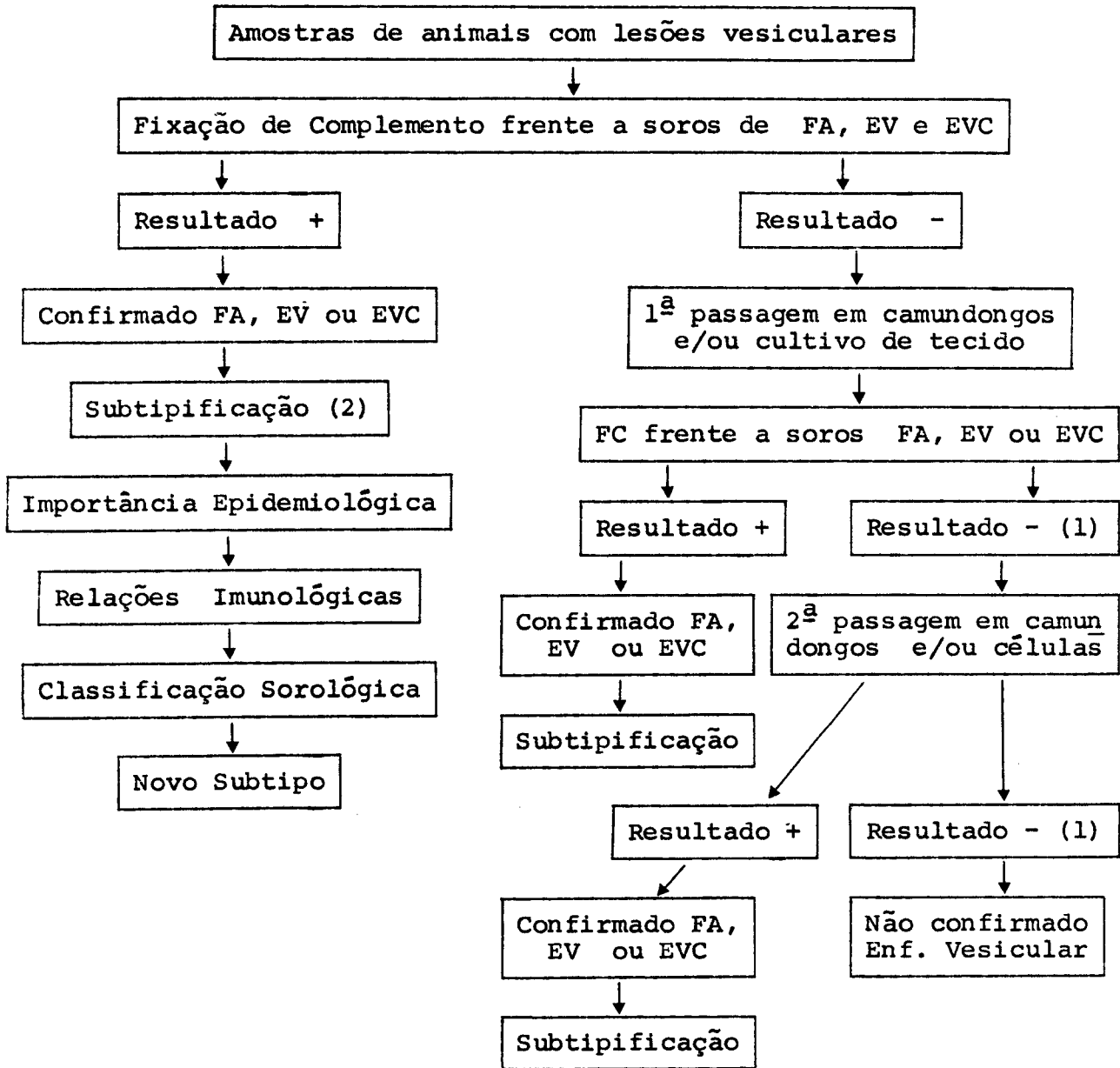
	Febre aftosa	Estomatite vesicular	Exantema vesicular	Ectima contagiosa	Língua azul	Peste bovina	Doenças das mucosas	Enf. Ves. do suíno
Morbili-dade	+++	+++	++++	+++	+++	++++	+++	+++
Mortali-dade	±	-	?	-	±	+++	±	-

- < 0,1%
- ++++ > 80%
- ± em jovens

Figura 10

DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO DAS ENFERMIDADES VESICULARES CPFA

Esquema utilizado com amostras epiteliais de campo

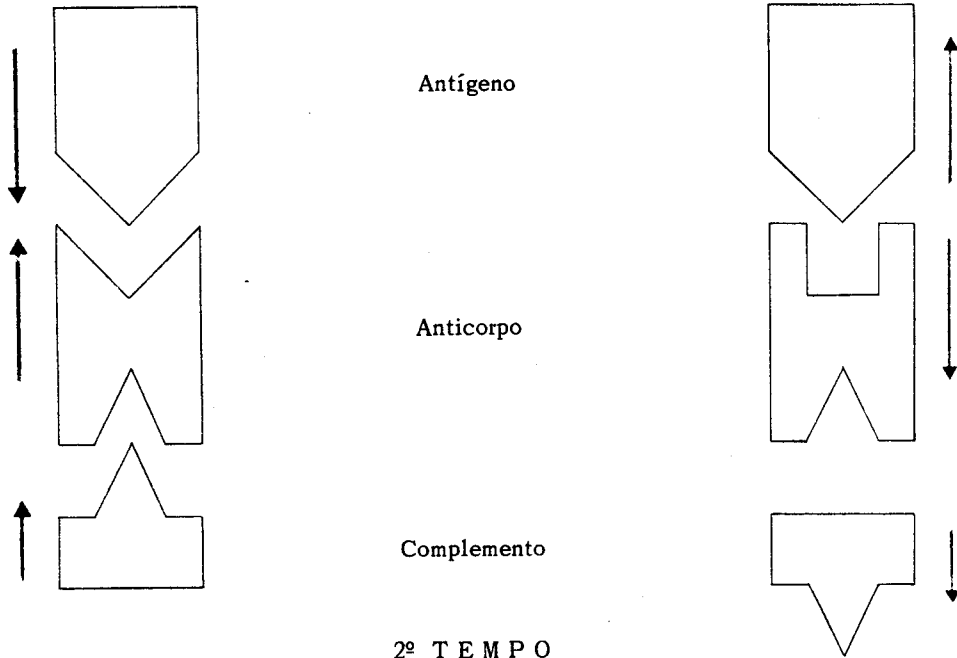


- Nota: (1) O resultado negativo (-) refere-se a amostra recebida e inclui ausência de efeito citopático e/ou letalidade e FC.
(2) Refere-se principalmente a resultados positivos (+) de febre aftosa.

Figura 11

FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO

1º TEMPO



2º TEMPO

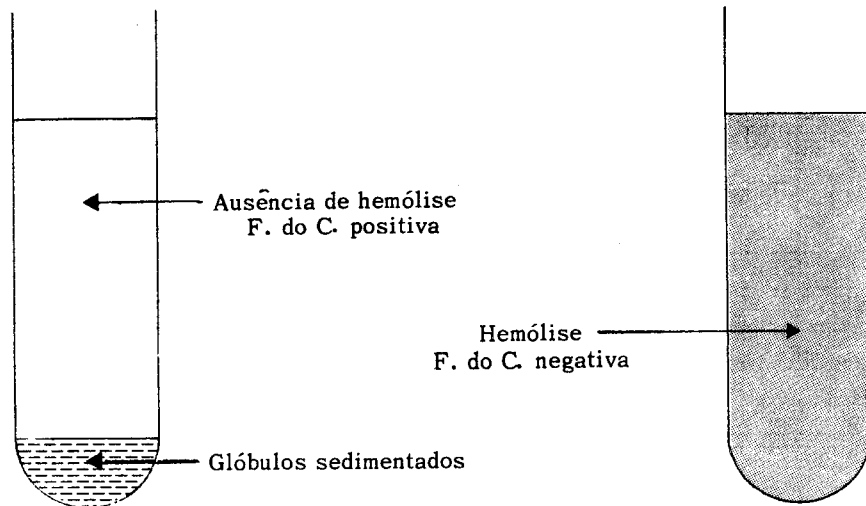
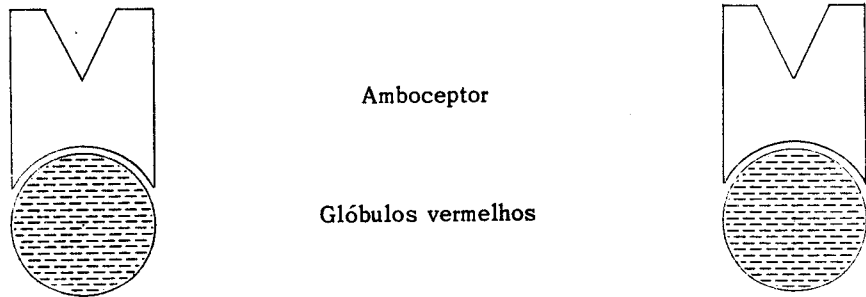


Figura 12

COMPORTAMENTO DOS VÍRUS DAS DOENÇAS VESICULARES
EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO E CULTURAS CELULARES

Animais de laboratório	Via de inoculação	Febre aftosa	Estomatite vesicular	Exantema vesicular	Enf. Ves. do suíno
Camundongo lactante	Subcutânea	+	+	-	-
	Intraperitoneal	+	+	-	-
	Intramuscular	+	+	-	-
	Intracerebral	+	+	-	+
Camundongo adulto	Intracerebral	+	+	-	-
Cobaio	Intradermoplantar	+	+	+	+
	Saco alantoideo	-	+	-	-
Culturas celulares	-	+	+	+	+

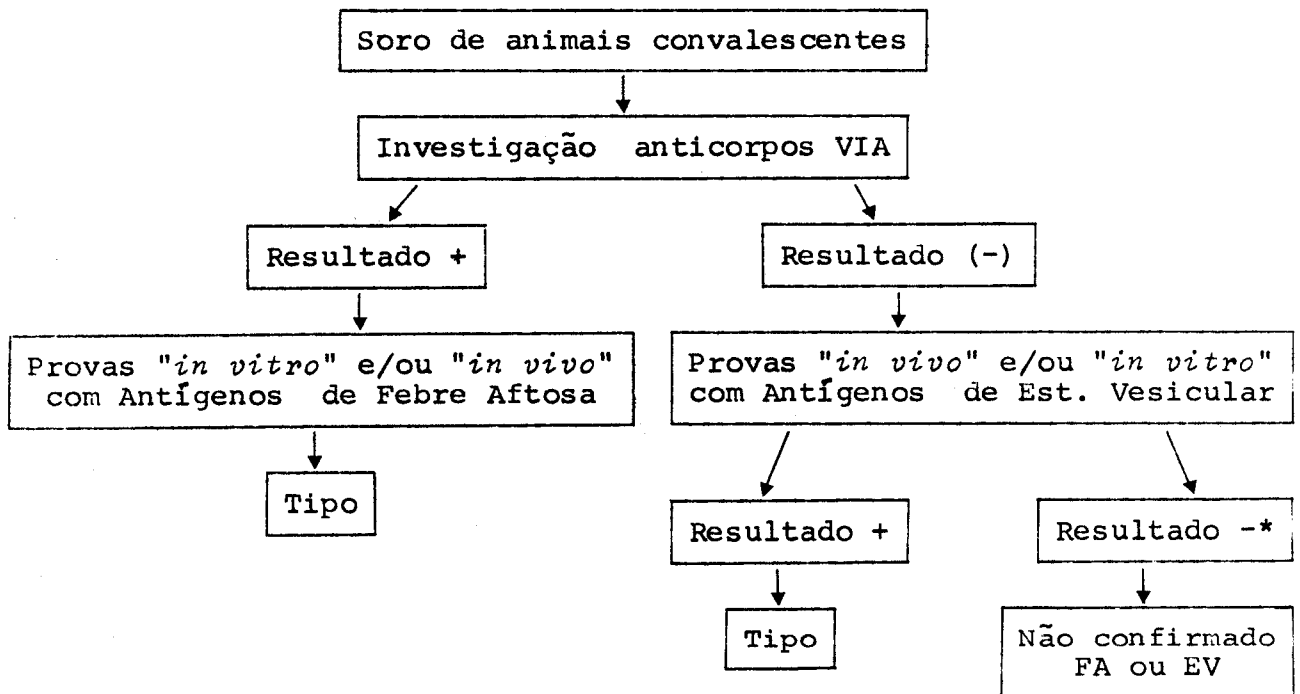
+ = Sensível.

- = Não sensível.

Figura 13

DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO DAS ENFERMIDADES VESICULARES CPFA

Esquema utilizado com soros



*Quando os soros são de suínos, recomenda-se coletar amostras epiteliais e aplicar medidas quarentenárias. Esta espécie é susceptível a todas as enfermidades vesiculares.

Figura 14

DIAGNOSTICO A PARTIR DO SORO DE ANIMAIS CONVALESCENTES DE DOENÇAS VESICULARES

Pr o v a s	T é c n i c a	Febre aftosa vesicular	Estomatite vesicular	Exantema vesicular	Enf.Ves. do suíno
Biológicas	Soroproteção em camundongos lactentes	+	±	-	?
	Soroneutralização em células	+	+	+	+
	Soroneutralização em camundongos adultos	-	+	-	-
Físico-químicas	Fixação de complemento (frio)	±	+	?	?
	Inibição fixação de complemento	+	±	?	?
	Difusão em agar	+	+	+	+

+ = Apropriada.

- = Não apropriada.

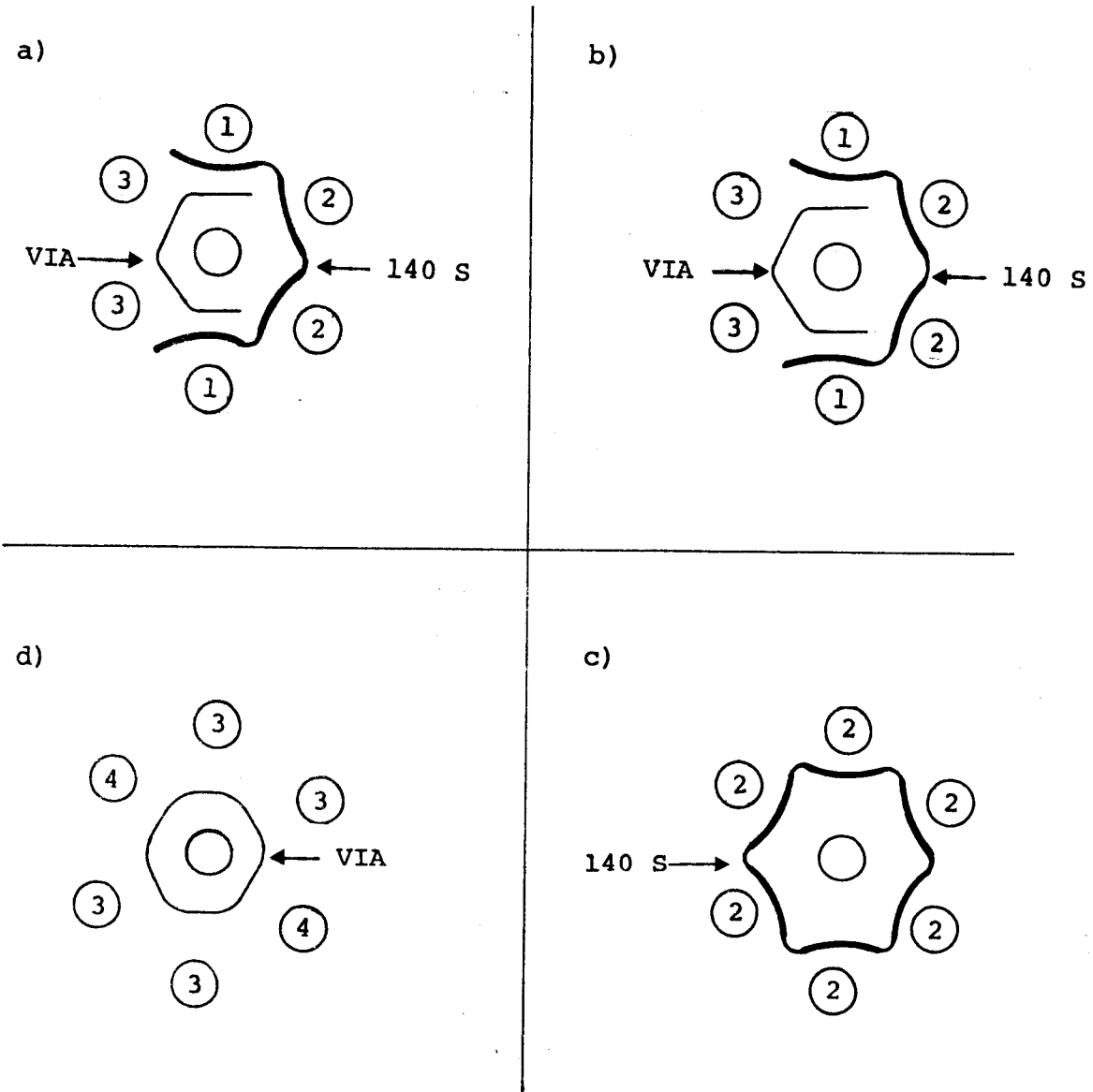
Figura 15

PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E BIOLÓGICAS DO VIRION AFTOSO,
DO CÁPSE VAZIO, DOS CAPSÔMEROS E DO ARN

Parâmetro, unidades	Virião	Cápside vazio	Capsômeros	ARN
Coefficiente de sedimentação S	140	75	12	37
Diâmetro, configuração (nm)	23 ± 2	21 - 22	7 - 8	Cadeia simples tamanho da cadeia 0,1-5 u
Peso molecular	6,9 x 10 ⁶	ca. 4,7 x 10 ⁶	2,7 x 10 ⁵	2,2 x 10 ⁶
Densidade (CsCl g/ml)	1,43	1,31	1,5	1,67
Estabilidade a pH	<7 inestável	<6 inestável	5,25 - 10,5 estável	3,5 - 11,5 estável
Resistência térmica	30' 56° C sensível	?	30' 56° C estável	5' 100° C estável parcialmente
Composição química	31% ARN 69% proteína	4 polipéptidos	4 polipéptidos*	Composição básica 22 U 28 C 26 A 24 G
Replicação	+	0	0	+
Infectividade	+	0	0	0
Imunogenicidade	+	+	0	0
Alergenicidade	+	+	+	0

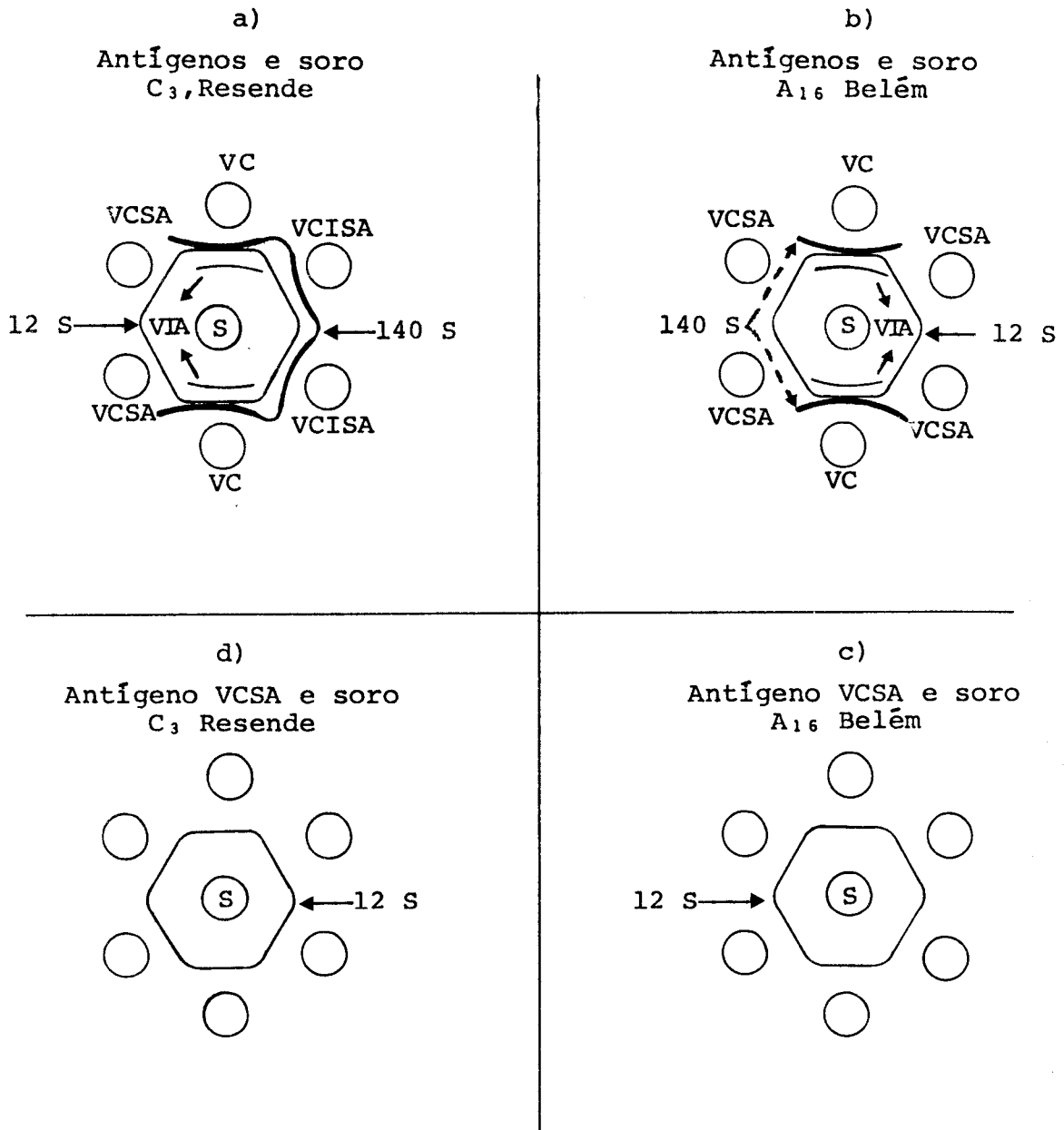
*Sem unidade proteica imunogênica tripsino-sensível.

Figura 16



Reação de precipitação em gel de agar com soro hiperimune (cavidade central), vírus cru (1), preparação 140 S (2), - preparação VIA (3) e antígeno VIA PIADC (4); a, c e d) soro e antígeno A₂₄ Cruzeiro; b) soro e antígeno O₁ Campos.

Figura 17



S: Soro Hiperimune
VC: Vírus Cru
VCISA: VC Inativado e concentrado com SO₄ (NH₄)₂
VCISA: VC ajustado o pH 5,5, inativado e concentrado com SO₄ (NH₄)₂

Figura 18

SUBTIPOS DO VÍRUS DA FEBRE AFTOSA RECONHECIDOS PELO LABORATÓRIO
MUNDIAL DE REFERÊNCIA, PIRBRIGHT, INGLATERRA

Tipo O Vallée

- O₁ Lombardia/46
Campos-Brasil/58*
- O₂ Brescia/47
- O₃ Venezuela/50
- O₅ Índia/62
- O₆ Pirbright - OVI/24
- O₇ Itália/58
- O₈ Brasil/60*
- O₉ Quênia/60
- O₁₀ Filipinas/58
- O₁₁ Indonésia/62

Tipo A Vallée

- A₁ Bavaria/42
- A₂ Espanha/43
- A₃ Mecklenburg/44
- A₄ Hessen/48
- A₅ Westerwald/47 = A₇ Grécia/50
- A₈ Parma
- A₁₀ Kemron; Argentina/61
- A₁₁ Pirbright - AGB/Alemanha/29
- A₁₂ Pirbright - A 119/32
- A₁₃ Brasil/59 - A Santos*
- A₁₄ Espanha/59
- A₁₅ Tailândia/60
- A₁₆ Brasil/59 - A Belém*
- A₁₇ Brasil/59 - A Guarulhos*
- A₁₈ Venezuela/62 - A Zulia*
- A₁₉ Argentina/63 - A Suipacha*
- A₂₀ USSR/64 - Usbek/60
- A₂₁ Quênia/64 - Lumbwa
- A₂₂ Iraque/64-Variante Oriente Medio
- A₂₃ Quênia/65
- A₂₄ Brasil/55 - A Cruzeiro*
- A₂₅ A-Argentina/59*
- A₂₆ A-Argentina/66*
- A₂₇ A-Colômbia/67*
- A₂₈ Polatli, Turquia/69
- A₂₉ A-Peru/69*
- A₃₀ A-Uruguai/68*
- A₃₁ A-Colômbia/69*
- A₃₂ A-Venezuela/70*

Tipo C Waldmann

- C₁ GC Cepa de campo e de produção
de vacinas de Holanda/62
Cepa de campo de Grã
Bretanha/65
- C₂ 997 Cepa de campo de Grã
Bretanha/53
-C Pando Uruguai/45**
- C₃ Brasil/55 - C Resende*
- C₄ Argentina/66 - C Terra do Fogo*
- C₅ Argentina/69*

Tipo SAT₁

- SAT 1/1 Bechuanaland 1
- SAT 1/2 Rodésia/37
- SAT 1/3 África do Sudoeste/49
- SAT 1/4 Rodésia do Sul/58
- SAT 1/5 África do Sul/61
- SAT 1/6 África do Sudoeste/61
- SAT 1/7 Israel/62-Variante do
Oriente Médio

Tipo SAT₂

- SAT 2/1 Rodésia/48
- SAT 2/2 África do Sul/59
- SAT 2/3 Quênia/60

Tipo SAT₃

- SAT 3/1 Rodésia/34
- SAT 3/2 África do Sul/59
- SAT 3/3 Bechuanaland/61
- SAT 3/4 Bechuanaland/65

Tipo ASIA₁

- Paquistão/64
- Israel/63
- Kemron Ásia 1

* Identificados por Federer e col. no Laboratório de Referência para as Américas do CPFA.

**Classificado pelo CPFA somente em 1959.

Figura 19

MODIFICAÇÃO DO VÍRUS O₁ SÃO PAULO/66
POR PASSAGENS EM BOVINOS PARCIALMENTE IMUNES

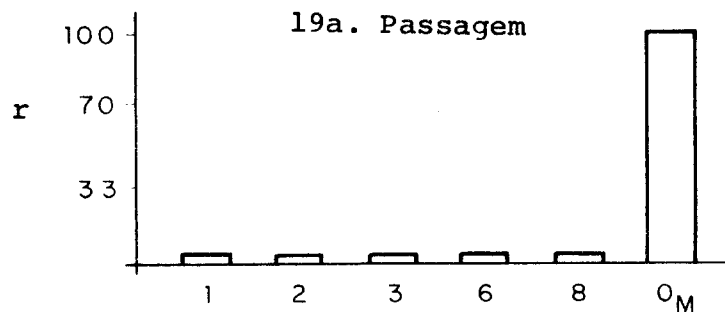
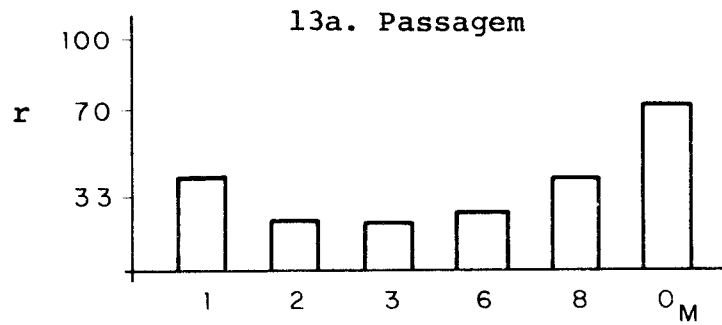
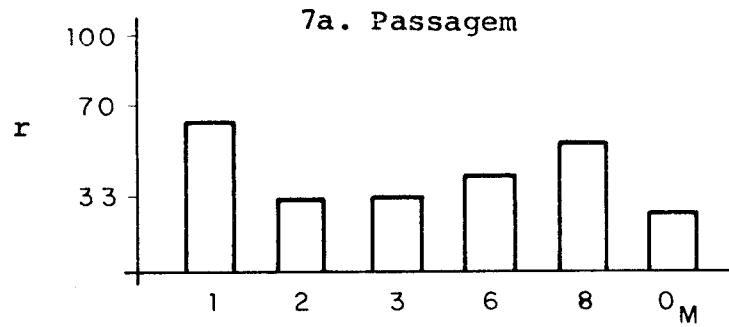
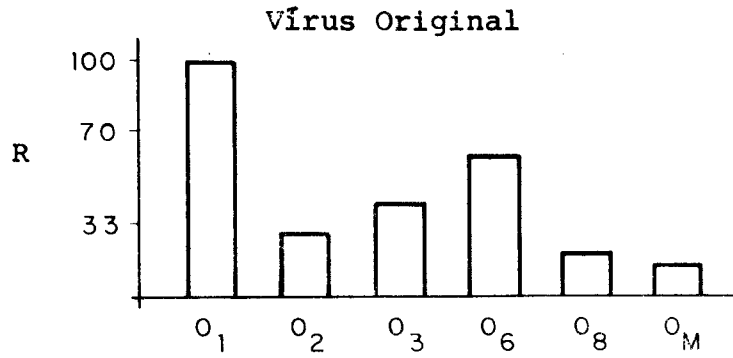
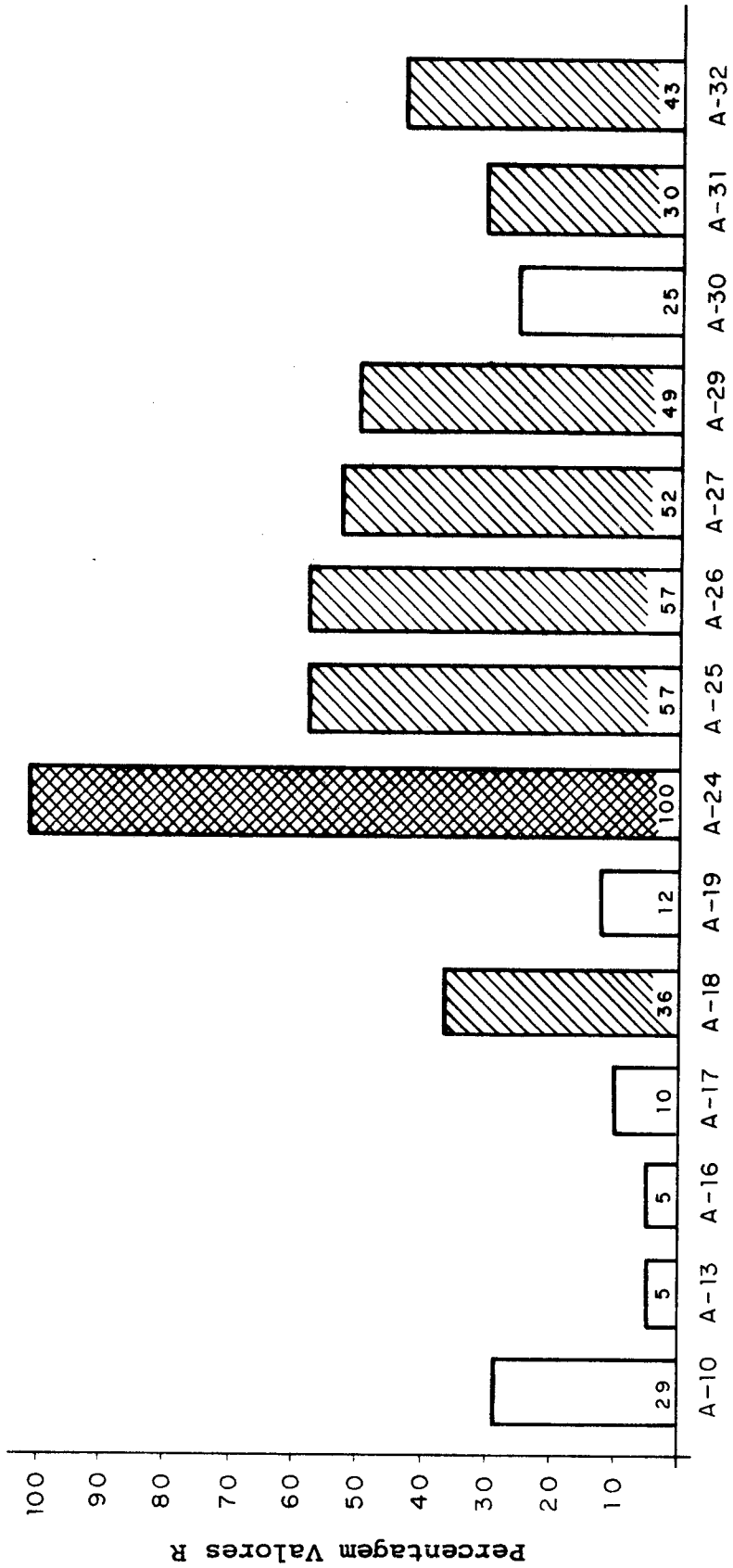


Figura 20

SUBTIPO A-24



Subtipos Sul-americanos do tipo A Vallée

Figura 21

LABORATÓRIOS OFICIAIS DE DIAGNÓSTICO
DE ENFERMIDADES VESICULARES DOS ANIMAIS
1977

