

PESTE SUÍNA CLÁSSICA: AÇÃO TÉRMICA DA AMOSTRA CHINESA PORTO ALEGRE (CPA) EM COELHOS¹

CLASSICAL SWINE FEVER : THERMAL REACTION IN RABBITS TO THE CHINESE-PORTO ALEGRE STRAIN

Telmo Vidor² Carlos Willi van der Laan³ Carmen Lúcia Garcez Ribeiro³
Alexandre da Rocha Gonçalves³

RESUMO

Foram avaliadas a temperatura normal do coelho e sua reação térmica após inoculação com a amostra Chinesa Porto Alegre (CPA) do vírus da Peste Suína Clássica (PSC), sob três condições de temperatura ambiental. Os resultados mostraram que a temperatura normal do coelho aumenta com a elevação da temperatura ambiental ($P < 0,001$). As médias das temperaturas normais dos coelhos foram de $39,53^{\circ}\text{C}$; $39,65^{\circ}\text{C}$ e $39,92^{\circ}\text{C}$, nas temperaturas ambientais de $12,82 \pm 1,29^{\circ}\text{C}$; $20,65 \pm 1,79^{\circ}\text{C}$ e $28,24 \pm 2,09^{\circ}\text{C}$ respectivamente. Os coelhos inoculados tiveram seu pique térmico também aumentado com a elevação da temperatura ambiental ($P < 0,001$), mas não sofreram influência da diluição do vírus. As médias dos piques térmicos observados foram de $41,17^{\circ}\text{C}$; $41,24^{\circ}\text{C}$ e $41,47^{\circ}\text{C}$. Para um intervalo de confiança de 95%, estabeleceram-se as temperaturas de $40,60^{\circ}\text{C}$; $40,67^{\circ}\text{C}$ e

$40,90^{\circ}\text{C}$ como limites, a partir dos quais a reação térmica foi considerada específica, em cada uma das temperaturas ambientais utilizadas. A elevação térmica não sofreu influência da temperatura ambiental nem da diluição do vírus, apresentando uma média global de $1,59^{\circ}\text{C}$. Para um intervalo de confiança a nível de 95%, estabeleceu-se o limite de $1,06^{\circ}\text{C}$ como o mínimo de elevação térmica para uma reação específica. O pique térmico iniciou a partir de 24h após inoculação. Seu início foi retardado com o aumento da diluição do vírus ($P < 0,001$), mas não com a temperatura ambiental. A sensibilidade e especificidade da reação térmica foi avaliada pelo teste de desafio. A análise de regressão permitiu concluir que um pique térmico mínimo de $40,6^{\circ}\text{C}$, associado a uma elevação térmica mínima de $1,06^{\circ}\text{C}$, pode ser considerada reação específica dos coelhos inoculados com a amostra CPA.

Palavras-chave: Peste suína clássica, vacina, amostra CPA, coelho.

¹Parte da tese apresentada pelo segundo autor ao Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

²Médico Veterinário, Doutor, Laboratório de Virologia, Faculdade de Veterinária, UFPel, Campus Universitário, 96010-900, Pelotas, RS. Autor para correspondência.

³Médico Veterinário, Msc, Professor, Faculdade de Veterinária, UFPel.

SUMMARY

Rectal temperatures of normal rabbits inoculated with different dilutions of a vaccine prepared with Chinese-Porto Alegre (CPA) strain of classical swine fever virus, were evaluated under 3 different environmental temperatures. Temperatures of normal un-vaccinated rabbits increased significantly when environmental temperature increased ($P < 0.001$). At environmental temperatures of $12.82 \pm 1.29^\circ\text{C}$, $20.65 \pm 1.79^\circ\text{C}$, and $28.24 \pm 2.09^\circ\text{C}$ the mean rectal temperatures were 39.53°C , 39.65°C and 39.92°C , respectively. Temperatures of the vaccinated rabbits also increased significantly when environmental temperature increased ($P < 0.001$), but did not vary with different vaccine dilutions. At environmental temperatures of $12.82 \pm 1.29^\circ\text{C}$, $20.65 \pm 1.79^\circ\text{C}$ and $28.24 \pm 2.09^\circ\text{C}$, the mean higher rectal temperature were 41.17°C , 41.24°C and 41.47°C , respectively. Within a 95% confidence interval was determined that, under the 3 environmental temperatures, the rectal temperatures equal to 40.60°C , 40.67°C and 40.90°C or higher, indicated a thermal reaction to the vaccine. In vaccinated rabbits, the mean thermic rise was of 1.59°C and there were no significant differences at different environmental temperatures or virus dilutions. Within a 95% confidence interval was determined that a rise of 1.06°C or higher indicated a specific reaction to the vaccine. The rise in temperature started 24 hours after the inoculation. This time was delayed when virus dilutions decreased ($P < 0.001$), but did not vary with different environmental temperatures. The sensitivity and specificity of the thermic reaction was evaluated by the challenge test. By regression analysis was concluded that a temperature of 40.6°C , associated with a rise in at least 1.06°C , could be considered a specific reaction of the rabbits to the CPA strain.

Key words: Classical swine fever, vaccine, CPA, rabbit.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de vacina com vírus vivo atenuado para Peste Suína Clássica (PSC) provocou a substituição das vacinas inativadas, em especial a Cristal Violeta. A adaptação de amostras a cultivos celulares proporcionou a substituição do coelho como sistema de produção do vírus. A amostra Chinesa Porto Alegre (CPA), desenvolvida no Brasil (VIDOR, 1980; VIDOR & MARTINS, 1991), a partir da adaptação da amostra chinesa em cultivos de células de linhagem de rim de coelho (RK₁₃), faz parte das amostras vacinais utilizadas em campanhas de vacinações no Brasil. Apesar dos testes realizados com esta amostra terem demonstrado o mesmo comportamento de sua semente original quanto a reações térmicas em coelhos (VIDOR, 1980), foi necessário um estudo mais detalhado

das reações térmicas produzidas, por ser o sistema utilizado como indicador da presença do vírus. Os resultados inconstantes observados nas titulações desta amostra através do método de contagem de placas por imunofluorescência (VAN DER LAAN, 1987), indicaram o coelho, como sendo ainda o sistema mais confiável para os testes de titulação da amostra CPA. O presente trabalho relata os resultados sobre variações da temperatura normal de coelhos em diferentes temperaturas ambientais e suas reações térmicas frente a inoculação com diferentes concentrações da amostra CPA, visando determinar os valores que identifiquem uma reação térmica específica, para a definição de um critério a ser utilizado nas titulações dessa amostra.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra CPA foi produzida em células de rim de coelho (RK₁₃), em garrafas cilíndricas rotativas, com meio Eagle-MEM, suplementado com 10% de soro de cabra. As suspensões assim produzidas, constituíram cinco lotes homogêneos que foram distribuídos em frascos de 15ml e estocados a -20°C . Foram utilizados 360 coelhos mestiços de ambos os sexos, de 3 a 4 meses de idade, pesando em média 2,5kg. O experimento foi montado em três salas com temperatura controlada, programadas para 10, 20 e 30°C . Em cada sala foram alojados quatro grupos de 6 coelhos, sendo cada grupo inoculado com uma diluição de uma suspensão da amostra CPA, contendo um título de $10^{4.7}$ DI 50% coelho/ml. O experimento foi realizado da mesma forma e simultaneamente em cada temperatura ambiente, sendo realizadas cinco repetições. Ao início de cada repetição as salas foram reguladas para as temperaturas programadas e os coelhos foram alojados por sorteio, em gaiolas individuais numeradas. Após três dias de aclimação, foi realizado o controle térmico, através de duas tomadas diárias da temperatura retal durante 3 dias, visando determinar a temperatura média normal. Logo após, os coelhos foram inoculados com 1ml das diluições do vírus, via intravenosa e submetidos novamente ao controle térmico por mais sete dias. A especificidade da reação térmica foi confirmada pelo teste de desafio (THOMAS, 1971), realizada sete dias após a primeira inoculação, com 1.000 DI 50% coelho/ml da amostra CPA. Após a inoculação da dose de desafio os coelhos foram controlados termicamente por mais quatro dias. Os dados obtidos da temperatura normal e das reações térmicas foram processados através do sistema de análise estatística SANEST (ZONTA et al., 1984).

RESULTADOS

Os resultados da temperatura normal e da reação térmica dos coelhos foram obtidos sob condições de temperatura ambiente constantes, que apresetnaram médias

de $12,82 \pm 1,29^\circ\text{C}$; $20,65 \pm 1,79^\circ\text{C}$ e $28,24 \pm 2,09^\circ\text{C}$. Nessas condições, os coelhos apresentaram temperaturas médias de $39,53^\circ\text{C}$; $39,65^\circ\text{C}$ e $39,92^\circ\text{C}$, respectivamente, conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Médias da temperatura normal de coelhos, em três condições de temperatura ambiental.

Repetições	Tomadas de Temperatura	nº de Coelhos	Temperaturas ambientais (Médias)		
			12,82°C	20,65°C	28,24°C
1	432	72	39,65	39,73	40,08
2	432	72	39,60	39,66	40,04
3	432	72	39,50	39,75	39,77
4	432	72	39,41	39,52	39,80
5	432	72	39,50	39,59	39,89
Global	2.160	360	39,53	39,65	39,92

A análise da variação para o estudo do efeito de temperatura normal do coelho apresentou significância ($P < 0,001$). Observou-se que a temperatura normal aumentou com a elevação na temperatura ambiental.

O ajustamento de uma curva polinomial para exprimir a tendência da temperatura normal com a variação da temperatura ambiental (Figura 1), mostrou significância dos componentes linear ($P < 0,001$) e quadrático ($P < 0,05$).

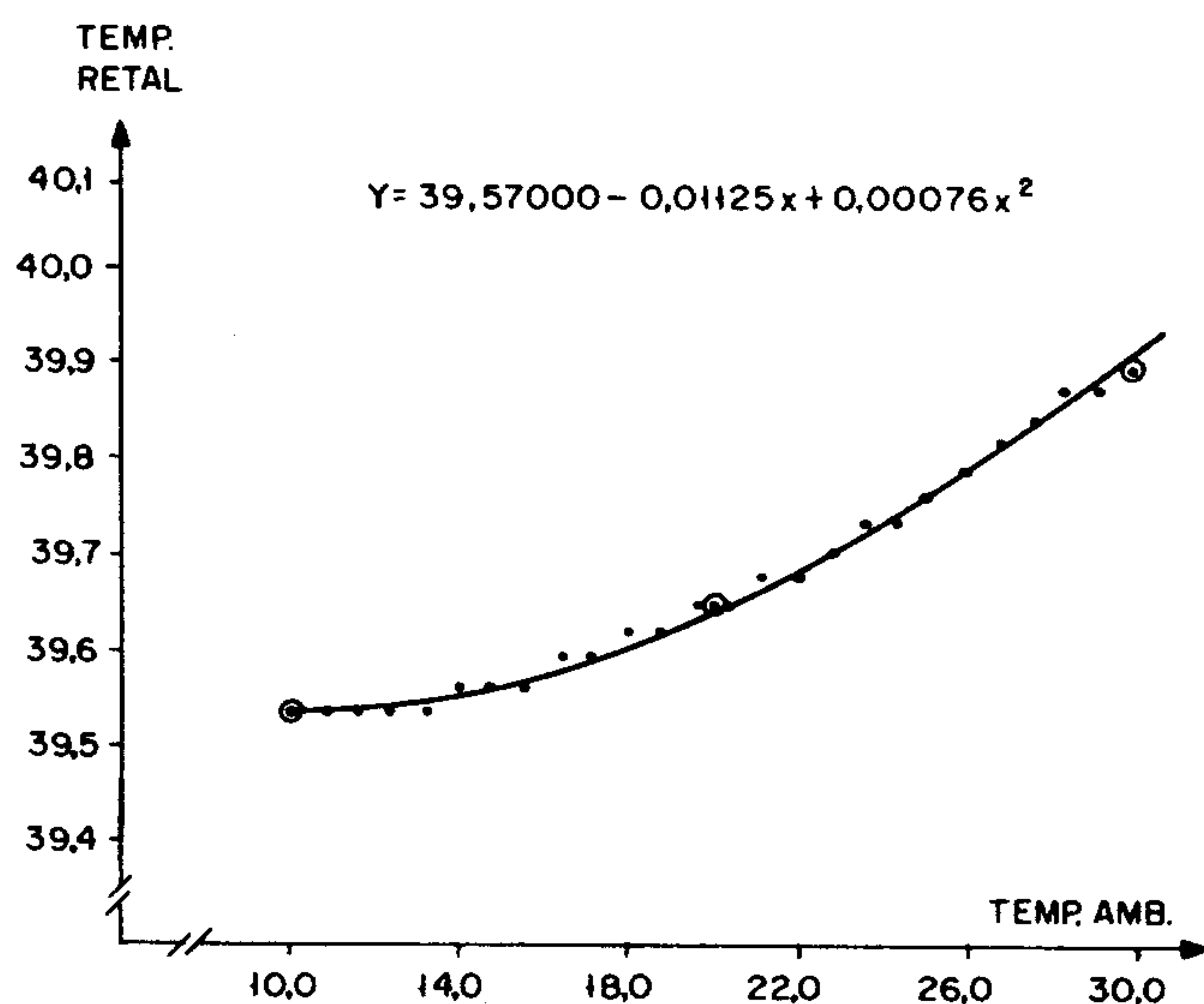


Figura 1. Curva ajustada da variação da temperatura normal em três condições de temperatura ambiental.

As análises da reação térmica dos coelhos inoculados foram realizadas com os coelhos reagentes, que apresentaram reações confirmadas pelo teste de desafio, para que os valores obtidos fossem representativos de uma reação específica. O pique térmico, considerado como a temperatura retal mais elevada durante a reação, foi observado a partir das 24 horas após a inoculação, nas maiores concentrações de vírus. O tempo de aparecimento do pique térmico aumentou com a diluição do vírus, apresentando uma média de 78 horas (Tabela 2).

Tabela 2. Médias do tempo (horas) de aparecimento do pique térmico em coelhos após inoculação com amostra CPA em cinco repetições.

Diluições*	Temperaturas Ambientais (Médias)			
	12,82°C	20,65°C	28,24°C	Média
10^{-3}	66	75	72	71
10^{-4}	86	80	78	81
10^{-5}	91	82	76	83

* Título do vírus: $10^{4,7}$ DI 50%/ml.

A análise da variação para o estudo do efeito da diluição do vírus e a temperatura ambiente, sobre o tempo de aparecimento do pique térmico, mostrou significância para a diluição do vírus ($P < 0,001$), mas não para a temperatura ambiental.

O ajustamento de uma curva polinomial para exprimir o efeito da concentração do vírus sobre o tempo de aparecimento do pique térmico (Figura 2) apresentou significância dos componentes linear ($P < 0,001$) e quadrático ($P < 0,05$).

A partir da análise dos resultados, foi definido um critério de identificação da reação térmica específica dos coelhos inoculados com amostra CPA, baseado nos valores mínimos significativos do pique térmico e da elevação térmica, calculados através do intervalo de confiança a nível de 95%. Os valores assim determinados podem ser vistos na Tabela 3.

O valor mínimo da elevação térmica foi calculado de forma global, por não sofrer influência da temperatura ambiental. O critério assim definido considerou simultaneamente um pique mínimo e uma elevação térmica mínima. Pelos valores obtidos, foi considerado como pique mínimo indicativo de reação térmica específica a temperatura de $40,6^\circ\text{C}$ em temperaturas ambientais próximas de 20 e 40°C , ou seja, temperaturas ambientais em torno de 30°C . Para elevação térmica mínima, foi determinado um mínimo de $1,0^\circ\text{C}$, independente da temperatura ambiente. Pode-se observar que os picos mais elevados ocorreram

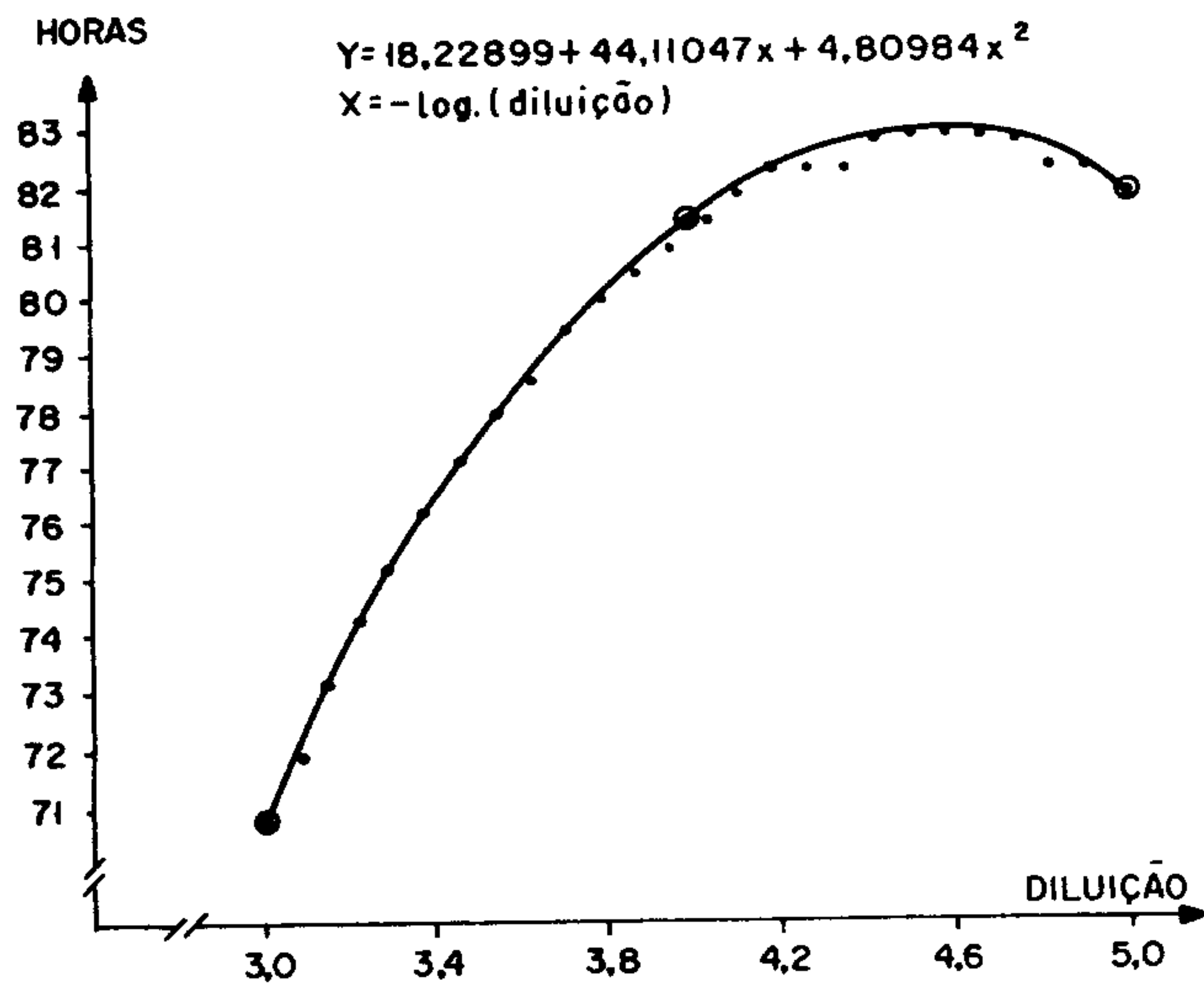


Figura 2. Tempo de aparecimento do pique térmico em coelhos inoculados com três diluições da amostra CPA, global para as temperaturas ambientais.

Tabela 3. Médias de temperatura normal, pique térmico e elevação térmica, com respectivos intervalos de confiança (IC), em cada temperatura ambiente.

Temperatura ambiente	Temperatura normal		Pique térmico		Elevação térmica	
	\bar{X}	IC	\bar{X}	IC	\bar{X}	IC
12,82	39,53	max. 39,89 min. 39,17	41,17	max. 41,73 min. 40,60	1,63	-
20,64	39,65	max. 40,01 min. 39,29	41,24	max. 41,80 min. 40,67	1,58	-
28,24	39,92	max. 40,28 min. 39,56	41,47	max. 42,03 min. 40,90	1,61	-
Global	-	-	-	-	1,60	max. 2,14 min. 1,06

nas temperaturas mais altas. O estudo do efeito da temperatura ambiente sobre o pique térmico apresentou significância ($P < 0,001$), demonstrando uma tendência muito semelhante a da temperatura normal, com a variação da temperatura ambiente.

O ajuste da curva polinomial para mostrar a tendência do pique térmico com a variação da temperatura ambiente (Figura 3), revelou significância do componente linear.

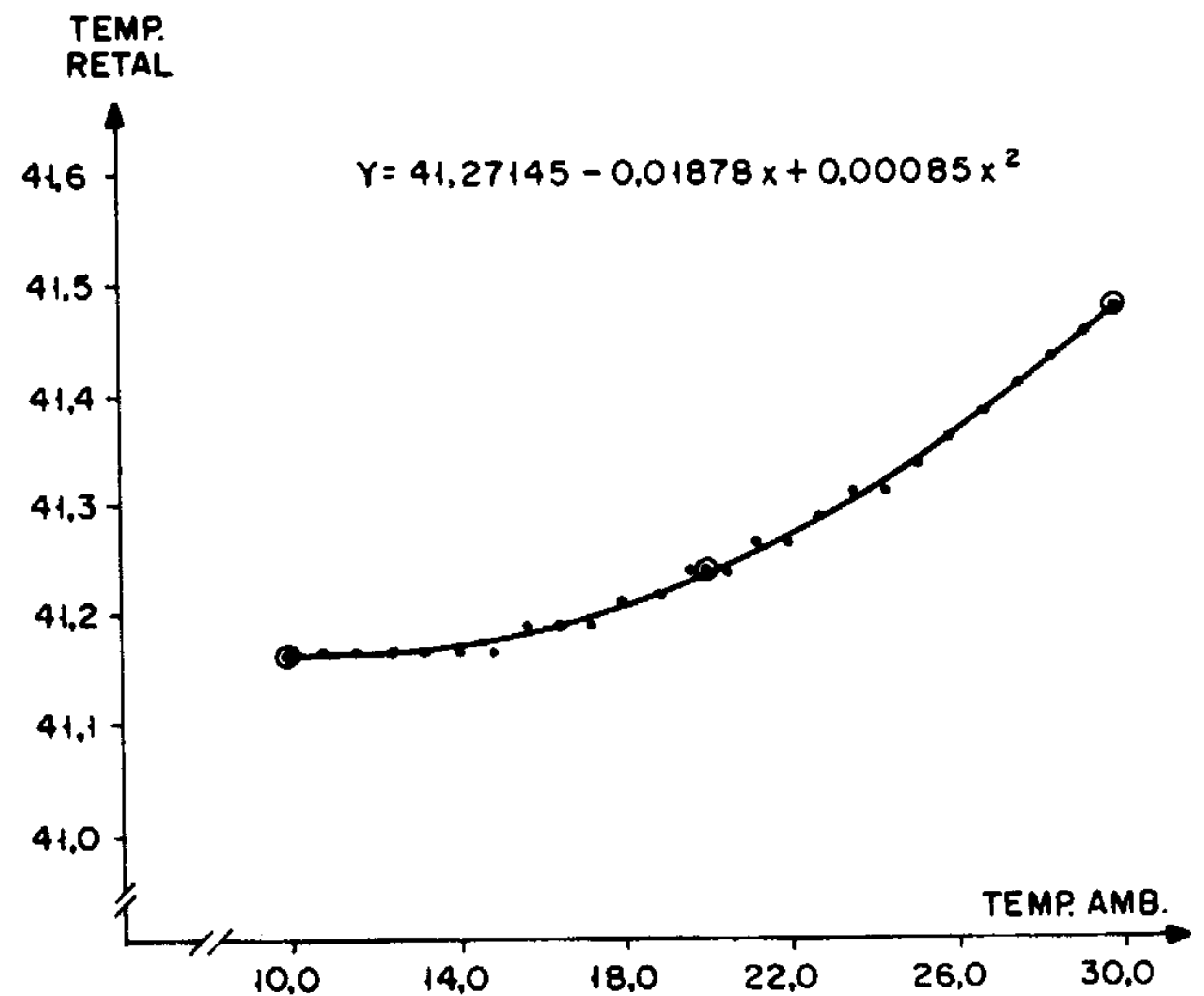


Figura 3. Curva ajustada do pique térmico com a variação da temperatura ambiente, global para todas as diluições.

O efeito da diluição do vírus sobre o valor do pique térmico não foi significativo. A elevação térmica, considerada como a diferença entre o pique térmico e a média da temperatura normal individual, não apresentou variação significativa para os efeitos da diluição do vírus, nem da temperatura ambiente. O fato da temperatura ambiente não haver influenciado a elevação térmica pode ser melhor entendido comparando-se as curvas da temperatura normal e pique térmico (Figuras 1 e 3) mostrando que ambas apresentam a mesma tendência com a variação da temperatura ambiente, portanto, suas diferenças permanecem constantes.

DISCUSSÃO

O coelho é um animal de experimentação sensível a variações de ambiente e manejo. Conforme os dados aqui obtidos, verifica-se que as temperaturas normais de coelhos não inoculados foram influenciadas pelas temperaturas ambiente experimentais utilizadas. Estes resultados conferem com os observados por outros autores (GRAMENZI & CAPORALE, 1968; RUSSELL & SCHILLING, 1974).

As reações térmicas mais precoces quando inoculadas concentrações maiores do vírus lapinizado, especialmente as amostras chinesas, descritas por GORET et al. (1971) e LOPEZ et al. (1973) foram igualmente observadas com a amostra CPA. Estes resultados estão muito próximos das médias descritas para amostras chinesas (GRAMENZI & CAPORALE, 1968; THOMAS, 1971; LOPEZ, 1973; MAHNEL & MAYR, 1974), mostrando que a CPA conserva as características de origem.

O critério de considerar simultaneamente um pique térmico mínimo de 40,6°C em temperaturas ambientais próximas de 30°C, bem como de 1,0°C, como elevação térmica, independente de temperatura ambiente, encontra similaridade dos valores e critérios adotados por THOMAS (1971). Para amostras chinesas, este autor considera um pique térmico mínimo de 40,5°C e uma elevação térmica mínima de 1,0°C.

A adoção de critérios que consideram somente um pique térmico mínimo de 41,0°C (MAHNEL & MAYR, 1974), pode excluir reagentes positivos com piques inferiores. Por outro lado, considerando somente uma elevação térmica de 1,0°C considerada indicativa de reação específica ao vírus (GRAMENZI & CAPORALE, 1968; BRASIL, 1978), poderão ser incluídos animais que não apresentam um pique térmico mínimo de 40,6°C. O critério descrito por MAHNEL & MAYR (1974), é concordante quanto ao pique térmico de 40,5°C. Entretanto, quanto à elevação térmica há discordância, uma vez que, se for considerado unicamente a elevação de 1,5°C, haverá exclusão de animais que reagiram positivamente, embora com uma elevação térmica menor. Por estas razões, a utilização de um critério que considere um pique térmico mínimo significativo, juntamente com uma elevação térmica mínima, oferece maior segurança na identificação de uma reação específica, fornecendo resultados mais confiáveis para o cálculo da titulação da amostra CPA e das que reagem de modo similar como outras amostras chinesas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL, Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Portaria, 190**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1978.
- GORET, P., PRECAUSTA, P., PERRENOT, F. Étude d'un virus-vaccin modifié contre la peste porcine classique préparé a partir d'une souche "chinoise" adptée à la culture de cellules rénales d'agneau. *Rec Med Vet*, v. 149, p. 937-953, 1971.
- GRAMENZI, F., CAPORALE, V. Il ceppo "C" (Chinese) del virus della peste suina classica nel coniglio: I - Reazione termiche. *Vet Ital*, v. 19, p. 108-119, 1968.
- LOPEZ, L.G.P. Vacuna lapinizada contra la peste porcina classica, "cepa china". In: CONGRESSO PANAMERICANO DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA, 1973. Bogotá, Colombia. *Anais...* Bogota, 1973.
- MAHNEL, H., MAYR, A. *Schweinepest*. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1974.
- RUSSEL, R.J., SCHILLING, P.W. *El conejo*. Centro Panamericano de febre aftosa, 1974. p. 79. (Série de monografias científicas y técnicas, n. 4).
- THOMAS, J. Rabbit diagnosis of hog cholera. **Properties of the virus of classical swine fever an differential diagnosis of classical and african swine fever**. Luxembourg: Comission of the European Communities, 1971.
- VAN DER LAAN, C.W. **Reação térmica do coelho e sensibilidade das linhagens celulares RK₁₃ e PK₁₅, inoculados com amostra CPA, do vírus da peste suína clássica**. Pelotas, RS. 84 p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 1987.
- VIDOR, T. Patogenia e imunoprofilaxia da peste suína clássica. In: SIMPÓSIO DO CENTRO NACIONAL DE PESQUISAS E AVES E SIMPÓSIO CATARINENSE DE SANIDADE SUÍNA, 1980. Concórdia, SC. *Anais...* Concórdia, p. 63-72.
- VIDOR, T., MARTINS, R.M. Peste suína clássica: - Estudo sobre um vírus amostra Chinesa, adaptado ao cultivo celular (Amostra Chinesa Porto Alegre), CPA. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v. 43, p. 397-403, 1991.
- ZONTA, E.P., MACHADO, A.A., SILVEIRA JUNIOR, P. SANSET - Sistema de análise estatística. **Manual do usuário**. Pelotas: Departamento de Estatística, Universidade Federal de Pelotas, 1984.