

COMPARAÇÃO ENTRE DOIS SISTEMAS BIOLÓGICOS PARA ISOLAMENTO DO VÍRUS INFLUENZA A PARTIR DE AMOSTRAS DE PULMÃO E SECREÇÃO NASAL DE SUÍNOS

Silveira, S.^{1*}; Gava, D.²; Schaefer, R.²; Schiochet, M. F.²; Simon, N.²; Zanella, J. R. C.²

¹Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, Bolsista CNPQ/IC na Embrapa Suínos e Aves. E-mail: sa-se-si@hotmail.com

²Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: influenza suína, isolamento viral, RT-PCR em tempo real.

Introdução

A influenza suína (SI) é uma doença respiratória, infecciosa e aguda, causada pelo vírus influenza A em suínos (SIV). A doença é caracterizada por início súbito, curto período de incubação, disseminação rápida no rebanho, alta morbidade (até 100%) e baixa mortalidade (cerca de 2%). Os sinais clínicos típicos são: febre, tosse, espirros, dispneia e secreção nasal seromucosa (4). Para a detecção do SIV vários métodos podem ser utilizados, como por exemplo, o isolamento viral. O isolamento viral é importante para os estudos de caracterização genética e antigênica dos vírus, o que é fundamental para entender a epidemiologia e a transmissão do vírus entre as espécies animais (1). O objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência do isolamento do vírus influenza A, em células da linhagem MDCK (células de rim de cão) e em ovos embrionados de galinhas SPF (livres de patógenos específicos).

Materiais e Métodos

Foram analisadas vinte e três amostras (nove pulmões e 14 amostras de secreção nasal), recebidas no laboratório de virologia da Embrapa Suínos e Aves e oriundas de granjas comerciais de suínos. Estas amostras, previamente consideradas positivas para influenza A por RT-PCR (transcrição reversa - reação em cadeia da polimerase), foram submetidas ao isolamento viral em células MDCK e em ovos embrionados. Após o isolamento viral, a detecção do vírus influenza A nos sobrenadantes (sbn) de cultivo celular e no fluido cório-alantóide (LCA) dos ovos inoculados foi realizada por RT-PCR em tempo real quantitativa (qRT-PCR).

Resultados e Discussões

Das nove amostras de pulmão analisadas, seis amostras de SIV foram isoladas em células MDCK e sete foram isoladas em ovos embrionados. Das 14 amostras de secreção nasal, apenas uma amostra foi isolada em ovos (Tabela 1). Não houve diferença significativa na eficiência do isolamento viral nos dois sistemas testados (células MDCK x ovos embrionados).

Tabela 1. qRT-PCR influenza A

		qRT-PCR + / total amostras	
Pulmão	sbn	6/9	
	LCA	7/9	
Secreção nasal	sbn	0/14	
	LCA	1/14	

Trabalhos prévios sugerem que o melhor sistema biológico para o isolamento de SIV é em ovos embrionados (2, 3, 6, 7). Porém, outros trabalhos descrevem uma deficiente replicação viral do SIV em ovos embrionados e que melhores resultados foram obtidos pelo isolamento do vírus em células (1, 2, 6).

Embora tenha sido analisado um pequeno número de amostras, os resultados encontrados sugerem não haver diferença no tipo de sistema biológico utilizado para o isolamento viral. Entretanto, a maioria das amostras positivas para o SIV foram obtidas a partir das amostras de tecido pulmonar. Deve-se a isto provavelmente ao fato de estas amostras serem originárias de suínos com sinais clínicos sugestivos de infecção pelo SIV. Por outro lado, as amostras de secreção nasal foram colhidas ao acaso, de suínos com e sem sinais clínicos sugestivos de infecção. Para o isolamento viral, a amostra deve ser colhida durante a fase aguda da doença, ou seja, nos primeiros 4-6 dias de infecção, fase de maior excreção viral. Pois, tanto a quantidade de vírus presente na amostra como a sua qualidade (amostra mantida refrigerada) são fatores fundamentais para o sucesso no isolamento viral (5,7).

Conclusões

Não foi detectada diferença na eficiência do isolamento viral quando comparados os dois sistemas biológicos (células MDCK x ovos embrionados). Entretanto, o sucesso do isolamento do SIV está diretamente relacionado à fase em que ocorre a colheita das amostras, que deve ser realizada na fase aguda da infecção. Também, como existem diferenças no crescimento e tropismo de diferentes cepas do SIV, é recomendado usar ambos os sistemas de isolamento viral a fim de aumentar as chances de detecção do SIV (2,6).

Referências

1. CHIAPPONI, C et al. Comparison of the usefulness of the CACO-2 cell line with standard substrates for isolation of swine influenza A viruses. **Journal of Virology Methods**, v. 163, p. 162 – 165, 2010.
2. CLAVIJO, A et al. Comparison of embryonated chicken eggs with MDCK cell culture for the isolation of swine influenza virus. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 66, p. 117-121, 2002.
3. FERRARI, M et al. Establishment and characterization of two new pig cell lines for use in virological diagnostic laboratories. **Journal of Virology Methods**, v. 107, p. 205 -212, 2003.
4. FLORES, E. F. **Virologia veterinária**. Santa Maria, RS: UFSM, 2007.
5. JANKE, B. H. Diagnosis of swine influenza. **Swine Health and Production**, v. 8, n. 2, p. 79-84, 2000.
6. LOMBARDO, T et al. Susceptibility of different cell lines to avian and swine influenza viruses. **Journal of Virology Methods**, 2012.
7. SWENSON, S. L et al. A comparison of diagnostic assays for the detection of type A swine influenza virus from nasal swabs and lungs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, p. 36–41, 2001.