

**INFLUENZAVIRUS EM SUÍNOS
UMA ABORDAGEM EPIDEMIOLÓGICA**

WALDYR PESSANHA JUNIOR

1998

INFLUENZAVIRUS EM SUÍNOS UMA ABORDAGEM EPIDEMIOLÓGICA

WALDYR PESSANHA JUNIOR

Aprovado em 30/10/98

CIETUVILIO Almeida de Azevedo
(Nome)

[Assinatura]
(assinatura)

CLAUDIO DE MORAES ANDRADE
(Nome)

[Assinatura]
(assinatura)

PROF. PAULO CÉSAR AUGUSTO DE SOUZA
(Nome)

[Assinatura]
(assinatura)

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

INFLUENZAVIRUS EM SUÍNOS
UMA ABORDAGEM EPIDEMIOLÓGICA

WALDYR PESSANHA JUNIOR, 1963 -

Sob a orientação do professor:
Getúlio Almeida de Mendonça, 1943 -

Tese submetida como requisito
parcial para a obtenção do grau
de mestre em Medicina
Veterinária - Área de
concentração em Patologia
Animal.

Seropédica - RJ
Outubro de 1998

T
636.40896
P475i

Ao velho do Ninhal e Bolacha

AGRADECIMENTOS

Em ordem alfabética agradeço àquelas Instituições e Pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

■ Aos meus Pais

■ Departamento de Virologia do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes/UFRJ.

■ Prof. José Nelson dos Santos Silva Couceiro, Prof. Maulori Curié Cabral

■ Laboratório de Biologia Animal da PESAGRO/RIO

- Dra. Leda Maria Silva Kimura

■ Laboratório de Histopatologia do DESP

- Marta

■ Laboratório de Doenças Respiratórias/FIOCRUZ

- Dra. Marilda Mendonça Siqueira, Médico Veterinário Murilo Martins Krawczuk

■ Laboratório de Víroses Veterinárias (DESP/IV/UFRRJ)

- Ana Paula, Carlos Henrique, Prof. Cláudio de Moraes Andrade, Simone, Solange,

■ Léia de Mattos

BIOGRAFIA SUSCINTA DO AUTOR

Waldyr Pessanha Junior, nasceu no Rio de Janeiro em 28 de maio de 1963, sendo filho de Waldyr Pessanha e Alba Fernandes Pessanha.

Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em 1987.

Trabalhou em atividades particulares, na função de Clínico-Cirurgião.

No período de 1991 a 1992, especializou-se em Homeopatia Veterinária pelo Instituto Hannemaniano.

Em 1996 foi selecionado para realização do Curso de Mestrado em Medicina Veterinária, na área de concentração de Patologia Animal.

Prestou concurso, naquele ano, para Professor Substituto da Disciplina de Anatomia Patológica, foi aprovado, e indicado para desempenhar a função, onde permaneceu até o corrente ano de 1998.

ÍNDICE

	Pag.
1	Introdução
2	Revisão de literatura
2.1	Características gerais do vírus
2.1.1	Características comuns
2.1.2	Tamanho e forma
2.1.3	Composição química
2.1.4	Resistência e inativação
2.2	Classificação
2.3	Composição antigênica
2.3.1	Antígenos tipo-específicos
2.4	Espécies susceptíveis
2.5	Suínos
2.6	Eqüinos
2.7	Aves domésticas
2.8	Aves silvestres
2.9	Influenza humana

3	Materiais e Métodos	51
3.1	Materiais	51
3.1.1	Vírus	51
3.1.2	Soros de suínos	52
3.1.3	Solução salina tamponada, pH 7.2 (PBS)	52
3.1.4	A.C.D. (Ácido-Citrato-Dextrose)	53
3.1.5	R.D.E. (Receptor Destroyng Enzyme)	53
3.1.6	Hemácias de galinha	53
3.1.7	Microplacas	54
3.1.8	Pipetadores/diluidores e ponteiras	54
3.2	Métodos	54
3.2.1	Preparo das hemácias	54
3.2.2	Titulação do vírus	55
3.2.3	Preparo dos soros	56
3.2.3.1	Tratamento dos soros para inativação dos inibidores inespecíficos	56
3.2.3.2	Tratamento dos soros para remoção das aglutininas inespecíficas	57

3.2.4	Prova de hemaglutinação (HA) para padronização dos antígenos	57
3.2.5	Prova de inibição da hemaglutinação (HI)	58
4	Resultados	61
5	Discussão	68
6	Conclusões	72
7	Referências	73

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	12
Figura 2	17
Figura 3	60
Tabela 1	63
Tabela 2	64
Gráfico 1	65
Gráfico 2	66
Gráfico 3	67

RESUMO

No presente trabalho é realizada uma revisão bibliográfica do vírus *Influenza*, enfocando sua ação, e correlacionado-a à espécies como: suínos, aves, equídeos e o homem. Aspectos como as condições ambientais, o sistema hospedeiro, a forte interação entre as espécies, bem como, a importância epidemiológica do suíno como órgão amplificador, são enfatizados nesta revisão. Mudanças em cada uma destas variantes podem afetar a epizootiologia da virose.

Concomitantemente a revisão, foram examinados soros de 100 suínos de uma criação tecnificada, colhidos no Município de Nova Friburgo. Para tal utilizou-se a técnica da inibição da hemaglutinação(HI) frente aos vírus H_1N_1 e H_3N_2 . O teste revelou que 21 soros foram positivos, 14 para o primeiro vírus e 11 para o segundo, sendo que 4 destes soros foram positivos para ambos.

O resultado encontrado demonstra a circulação das amostras do vírus entre suínos, e recomenda a necessidade da realização de estudos mais aprofundados envolvendo outras espécies animais e o homem, nos aspectos sorológicos e virológicos.

SUMMARY

In the current work, a review about Influenza virus is made, with its action in swine and its relationship with animal species, poultry and equids, and with men the epidemiological importance of swine as an amplifier organ and the strong interaction between species, as a host system and the environment conditions. Changes in each of this variants can affected the epizootiological of the viruses.

A hundred swine sera from a technified criation, obtained at the city of Nova Friburgo, were tested by the haemagglutination-inhibition (HI) technique against H_1N_1 and H_3N_2 virus showing a total of 21 positive sera, being 14 for the first, 11 for the last and 4 for both of them.

The results obtained demonstrates the circulation of viral samples between swine, recomending the need of more extensive research involving other animal species and men, in sorological and virological aspects.

1- INTRODUÇÃO

A Influenza é uma doença respiratória infecciosa aguda de humanos, causada pelo vírus Influenza tipos A e B, sendo que a mesma ocorre usualmente em forma de epidemia com ataque súbito e disseminação rápida em uma região geográfica. A extensão pode variar desde pequenos surtos focais até epidemias mundiais ou pandemias (Lennette *et al*, 1995).

Com bases epidemiológicas, no mínimo 10 epidemias globais (pandemias), ocorreram nos últimos 200 anos (Lennette *et al*, 1995).

O primeiro vírus tipo A de humanos foi isolado em 1933, contudo evidências sorológicas sugerem que a pandemia próxima a virada do século e a de 1918 seriam da mesma forma causada por um vírus tipo A (Lennette *et al*, 1995).

Em 1940 foi isolado o primeiro vírus tipo B de humanos (Lennette *et al*, 1995).

Em zonas temperadas, epidemias de Influenza de um desses dois tipos ocorrem, principalmente desde o final do outono até a primavera, mas em áreas tropicais a estação de prevalência não é bem definida (Lennette, *et al*, 1979).

Surtos de Influenza ocorrem o ano todo em qualquer lugar do mundo,

alternando seu aparecimento entre os hemisférios norte e sul (Lennette *et al*, 1979).

Existe um terceiro tipo de vírus Influenza, o tipo C, que causa um resfriado brando comum ou uma enfermidade subclínica, não tendo sido documentado nenhuma epidemia atribuída a este tipo (Lennette, 1995).

Epidemias de Influenza A são viroses importantes tanto em veterinária quanto em saúde pública. Amostras tipo A são encontradas em cavalos, porcos e muitas espécies de aves, tanto silvestres quanto domésticas. Os vírus tipo B e C tem sido isolado somente de humanos (Dowdle *et al*, 1977).

Surtos de Influenza ocorrem como resultado da interação entre o vírus, o hospedeiro e as condições ambientais. Mudanças em cada uma dessas variantes podem afetar a epidemiologia da Influenza (Lopez, 1985).

Numerosas epidemias com as características da Influenza foram descritas no passado afetando homens e animais. Beveridge (1977) foi capaz de distinguir 16 epidemias reconhecidas afetando o homem com descrição epidemiológica fidedigna entre 1700 e 1900.

Apesar da pesquisa feita durante o curso da pandemia humana de 1918-1919, a etiologia viral da doença não foi estabelecida até 1933, quando então foi transmitida sucessivamente para furões através de

inoculação intranasal de lavados nasofaríngeais de humanos (Smith *et al*, 1933).

Em reconhecimento ao potencial epidêmico e pandêmico do vírus Influenza, a Organização Mundial de Saúde (WHO) organizou uma rede de laboratórios visando a pesquisa do que ocorreu com o vírus no surto de 1947. Esta rede, possuindo 101 centros nacionais em 71 países, foi designada para servir como um sistema de prevenção inicial para proteção contra subtipos novos ou antígenicamente alterados e para abastecer o mundo com informações sobre o comportamento epidemiológico e características antigênicas das cepas prevalentes do vírus (Dowdle *et al*, 1977; Kaplan, 1980).

Neste trabalho, objetivou-se fazer uma breve revisão sobre abordagem epidemiológica da influenza em suínos, equínos, aves e homem, bem como estabelecer uma possível relação entre aves e suínos, enfatizando a importância destes como organismos amplificadores; para tal foram utilizadas amostras isoladas de aves ornamentais (H₁N₁ e H₃N₂) do município do Rio de Janeiro e soros de suínos, coletados no município de Nova Friburgo, Estado do Rio de Janeiro.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Características gerais do vírus

2.1.1- Características comuns

Vírus da Influenza contém um genoma de RNA de cadeia simples segmentado, cercado internamente por membrana celular viral do hospedeiro modificada. O virion RNA tem sido demonstrado contendo 8 segmentos (Lennette *et al*, 1995).

2.1.2- Tamanho e forma

Quando utiliza-se a ultrafiltração os vírus se apresentam, em sua maioria, esféricos possuindo um diâmetro de 80-120 nm (Taylor *et al*, 1943).

Quando observados ao microscópio eletrônico alguns vírus podem apresentar-se alongados e filamentosos possuindo diâmetro de 80-100 nm quando se utiliza coloração negativa com fosfotungstato (Choppin *et Compans*, 1975).

Projeções que são observadas na superfície do vírus são denominadas peplômeros, medindo 16 nm de comprimento (Waterfield *et al*, 1979).

Do peso total da partícula viral 5% representam as neuroaminidases (NA), e 25% representam as hemaglutininas (HA), sendo estas estruturas os dois tipos de peplômeros observados (Lennette *et al*, 1995).

As HA são responsáveis pela adsorção dos vírus através dos receptores presentes em diferentes tipos de células, incluindo eritrócitos de várias espécies animais (Schulze, 1975). Por outro lado, temos a NA com importante função na liberação dos vírus do interior da célula após a replicação viral e em superfícies de hemácias após a adsorção (Hoyle, 1950; Webster, 1970).

2.1.3- Composição química

O vírus Influenza A contém uma ribonucleoproteína formada por pequenos segmentos, em seu interior. Cada um desses segmentos contém uma molécula de RNA viral, algumas moléculas de nucleoproteínas (NP) e um ou mais polipeptídeo (P). Envolvendo este nucleocapsídeo, encontramos uma matriz proteica denominada proteína M (Choppin *et Compans*, 1975).

Os vírus Influenza possuem uma composição química que varia de

acordo com sorotipo e também com a célula hospedeira.

- 0,8 - 1,1% de ácido ribonucleico de cadeia simples;
- 70 - 75% de proteínas;
- 20 - 24% de lipídios e
- 05 - 08% de carboidratos.

A variação na composição é mais acentuada no que se refere a proporção e composição dos lipídios e carboidratos (Ada *et* Perry, 1954; Blough *et al*, 1967; Choppin *et* Compans, 1975).

Os lipídios presentes no vírus, estão localizados no envoltório viral e são na maioria fosfolipídios, colesterol e em alguns glicolipídios (Choppin *et* Compans, 1975).

A ribose, galactose, manose, frutose e glicosaminas representam os carboidratos que estão presentes nos vírus na forma de glicoproteína e glicolipídios, estando a ribose presente no ácido nucleico viral (Choppin *et* Compans, 1975).

Através da ultracentrifugação analítica é possível indicar-se o peso molecular de glicoproteínas como a HA que chegam a atingir 192.000 a 205.000 daltons, tratando-se de um trímero formado por moléculas de 70.000 daltons de peso molecular. A HA é formada por duas cadeias polipeptídicas denominadas:

- HA1(peso molecular 45.000-50.000 d) e
- HA2 (Peso molecular 25.000-30.000 d) ,

sendo a última a parte que se liga diretamente a superfície do vírus. As cadeias polipeptídicas estão ligadas entre si por pontes de dissulfato (Waterfield, 1979).

A NA, que também é uma glicoproteína apresenta seu peso molecular de 50.000-60.000 d (Webster, 1970; Skehel *et* Schild, 1971), estando esta proteína presente na superfície do vírus em forma de tetrâmero, com peso molecular 200.000-250.000 d (Lazdins *et al*, 1972; Bucher *et* Kilborne, 1972).

O ácido nucleico viral é formado por oito segmentos de RNA de cadeia simples com peso molecular total de 4×10^6 a 5×10^6 . Cada segmento de RNA é transcrito em RNA mensageiro que codifica um polipeptídeo viral (Desselberger *et* Palese, 1978; Barry *et* Mahy, 1979; Hay *et* Skehel, 1979).

Dos oito polipeptídeos que formam o vírus, sete são estruturais sendo um não estrutural. P1, P2 e P3 são polipeptídeos que estão associados a polimerase, uma nucleoproteína (NP) ligada ao ácido nucleico, existindo ainda uma matriz proteica (M), a neuraminidase (NA) e a hemaglutinina (HA). Nas células infectadas encontra-se o polipeptídeo não estrutural (NS) (Inglis *et al*, 1976).

2.1.4- Resistência e inativação

Os diferentes sorotipos requerem tempos diferentes de exposição dos raios ultra-violeta para sua inativação, sendo os mesmos destruídos em pH ácido e relativamente estáveis entre o pH 7,0 e o pH 8,0 (Lang, *et al*, 1968^a; Moses *et al*, 1947).

O vírus tem sua capacidade infectiva reduzida quando aquecido em banho maria a 56°C por 15 minutos, porém a esta mesma temperatura após 30 minutos é inativado (Bier, 1975) e só bem mais tarde desaparecerá sua capacidade hemaglutinante (Salcedo, 1980; Homme *et* Easterday, 1970).

O vírus Influenza resiste por muitos anos quando mantidos a uma temperatura de -70 °C, e mantém o seu poder infectante por várias semanas quando são conservados a 4 °C. Liofilizados e estocados nesta temperatura permanecem viáveis por muito tempo. A -20 °C em pouco tempo terão sua capacidade infectante reduzida (Salcedo, 1980).

Em virtude do seu alto teor de lipídios é inativado pelo éter e pelos detergentes, sendo sua infecciosidade é rapidamente destruída quando o vírus é tratado com formaldeído, agentes oxidantes, ácidos, éter, hidroxilamina, ions amônio e detergentes como: desoxicolato de sódio e duodecil sulfato de sódio (Bier, 1975).

O líquido alantóico infectado, quando tratado com formalina de 5% a 10%, perde a infecciosidade após 48 horas mesmo mantido a 4°C. Contudo a capacidade hemaglutinante permanece por quatro semanas (Salcedo, 1980).

A capacidade infectiva e de aglutinar eritrócitos dos vírus é mantida mesmo quando estes são precipitados com alúmen, fosfato de cálcio e protamina, ou mesmo quando são tratados com 35% de metanol a -5°C (Salcedo, 1980).

Exemplos de agentes capazes de inibir a replicação viral são abaixo citados com posterior descrição do respectivo mecanismo de ação de cada um:

- Actinomicina D - Responsável pela inibição da síntese da cadeia complementar de RNA viral (Scholtissek *et* Rott, 1970),

- Ciclohexamida - Responsável pela inibição da síntese de proteínas por inibir a enlocação da cadeia de polipeptídeos (Watanabe, *et al*, 1967), redução da formação de RNA complementar e inibição total da formação de RNA viral (Pons, 1972; Scholtissek *et* Rott, 1970).

- Amantidina - Nos primeiros estágios da replicação viral inibe a atividade da RNA polimerase2, que é uma enzima

DNA dependente (Barry *et* Mahy, 1979). Este mecanismo impede a estimulação da produção de RNA na célula hospedeira, impedindo a replicação viral por inibir a formação do RNA viral (Rott *et* Scholtissek, 1970; Lang *et al*, 1970).

2.2- Classificação

Os *Ortomixovírus* com relação a sua forma apresentam-se esféricos, com diâmetro de 80-120 nm, ou filamentosos com até vários micrômetros de comprimento. Possuem nucleocapsídeo helicoidal simétrico, com genoma de RNA segmentado (peso molecular de $2-4 \times 10^6$ daltons), provavelmente em seis peças separadas as quais se ligam os capsômeros proteicos. Tais vírus tendem a ser muitos pleomórficos e podem parecer esféricos ou tubulares. Esta ribonucleoproteína é enrolada para formar uma massa arredondada que é coberta por um envelope. Deste envelope projetam-se espículas de seção triangular e com 10 nm de comprimento. Estas espículas são hemaglutininas, sendo proteínas de origem viral. Entre elas a protusões com formas de cogumelos compostas de neuroaminidases que junto com a hemaglutinina constituem os antígenos de superfície (Pelczar, *et al*, 1981).

Classificado dentro da família orthomyxoviridae os vírus da Influenza, pertencem ao gênero *Influenzavírus* com dois tipos específicos A e B. Um terceiro tipo (Influenza C) é considerado como um provável gênero da mesma família (Acha *et Szyfries*, 1986).

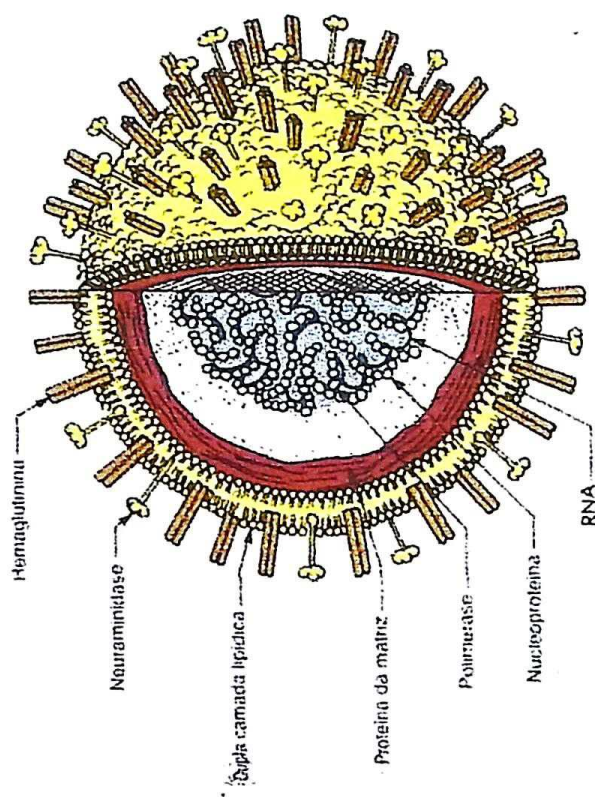
A nomenclatura dos vírus de Influenza adotada por um grupo de estudo da Organização Mundial de Saúde em 1971 ainda é a forma empregada para caracterizar este vírus (WHO Study Group, 1971).

A designação de cada amostra inclui: o tipo/ espécie de hospedeiro(quando diferente da espécie humana)/ local de origem/ nº de série/ ano de isolamento, seguido do antígeno de superfície entre parênteses como mostra o exemplo:

A/ Turkey/ Ontário/ 6118/ 68 (Hav8 Nav4)

Para servir como referência, a Organização Mundial de Saúde, publicou em 1971 uma relação contendo os antígenos de superfície dos vírus Influenza identificados até aquele ano. Baseando-se na relação entre hemaglutininas (HA) que apresentam reações cruzadas, a OMS propôs em 1979, uma reconsideração quanto a nomenclatura dos vírus de Influenza, levando-se em consideração as características dos antígenos de superfície dos vírus (WHO Study Group, 1979).

FIGURA 1 -- MODELO ESTRUTURAL DO VÍRUS INFLUENZA A



2.3- Composição Antigênica

Existem dois tipos de variações antigênicas demonstradas nos vírus Influenza: uma modificação gradual e lenta (*drift*), em que ainda permanece uma relação de semelhança entre a cepa original e a variante, a outra variação antigênica (*shift*), determina uma total alteração da superfície do vírus, dando origem a uma cepa completamente diferente da original (Webster *et* Laver, 1975).

Um dos grandes problemas de controle do vírus da Influenza deve-se a capacidade, deste agente, de alterar a sua identidade antigênica, visto que a imunidade contra um vírus pode ser fraca ou inócua em relação a outro (Webster *et* Laver, 1975).

Como o genoma viral é constituído de RNA de cadeia simples segmentada, durante o arranjo dos segmentos podem ocorrer recombinações (Sugiura *et* Kilbourne, 1966; Webster *et* Laver, 1975).

Muitos vírus antigenicamente híbridos foram obtidos "*in vitro*" utilizando misturas de líquidos alantóicos e células infectadas com diferentes vírus de Influenza tipo A (Tumová *et* Pereira, 1965; Kilbourne *et al.*, 1967; Easterday *et al.*, 1969; Webster *et* Campbell, 1972).

Híbridos foram obtidos "*in vivo*", por infecção mista em suínos com

A/Swine/Wisconsin/1/67 (Hsw₁, N₁) e A/Fowl Plaque vírus/ Dutch/27 (Hav₁, Neq₂) (Tumová *et al.*, 1965; Kilbourne *et al.*, 1967; Easterday *et al.*, 1969).

Após 3 dias foram isolados de suspensões de células pulmonares, além dos vírus *parentais*, um terceiro vírus *recombinante* (Hav₁ N₁) (Webster *et al.*, 1971).

Muitos sistemas foram testados e a obtenção de híbridos foi demonstrada em condições similares às naturais, sugerindo que *recombinantes* Humanos x Animais, Animais x Animais possam dar origem a epidemias e pandemias (Webster *et al.*, 1973; Webster *et al.*, 1974).

2.3.1 -Antígenos tipo específicos

O NP (Hoyle *et al.*, 1954) ou antígeno solúvel do vírus Influenza é tipo-específico para Influenza vírus A, B ou C (Pereira, 1969). A proteína M (Membrana ou Matriz) associada com estrutura interna do envelope viral também é do Tipo-Específica (Schild, 1972; Tumová *et al.*, 1972).

Variações antigênicas num vírus de Influenza ocorrem primariamente nos antígenos de superfície dos vírus, originalmente chamados antígenos “V” (Hoyle, 1968). Esta variação mediada por múltiplos determinantes na

HA e NA, é antígeno independente (Schulman *et* Kilbourne, 1969; Smith *et al*, 1933). O grau de variação na amostra é menor no Influenza B que no Influenza A e variações antigênicas em Influenza C tem sido estudadas somente em poucos isolamentos (Pereira, 1969).

A mudança abrupta na composição antigênica do vírus da Influenza A é chamada “*Antigenic Shift*”, e nestes casos a HA, esta usualmente associada com epidemias mundiais, tanto como nas viroses de 1957 (Kaplan *et* Payne, 1959) na Ásia (H₂) e em 1968 em Hong Kong (H₃) (Davenport *et al*, 1969). Mudanças mais graduais nos antígenos internos de um subtipo são descritas como “*Antigenic Drift*”, as quais podem ou não ser associadas com epidemias (Webster *et* Laver, 1972).

Os 4 principais subtipos de HA, descritos em isolamentos de Influenza A para humanos não representam, necessariamente, mudanças antigênicas. Alguns determinantes antigênicos são divididos em Hsw₁, H₀ e H₁, os quais podem ser reconhecidos por reação cruzada em testes HI em estudos imunológicos primários (Davenport *et al*, 1969).

2.4 - Espécies Susceptíveis

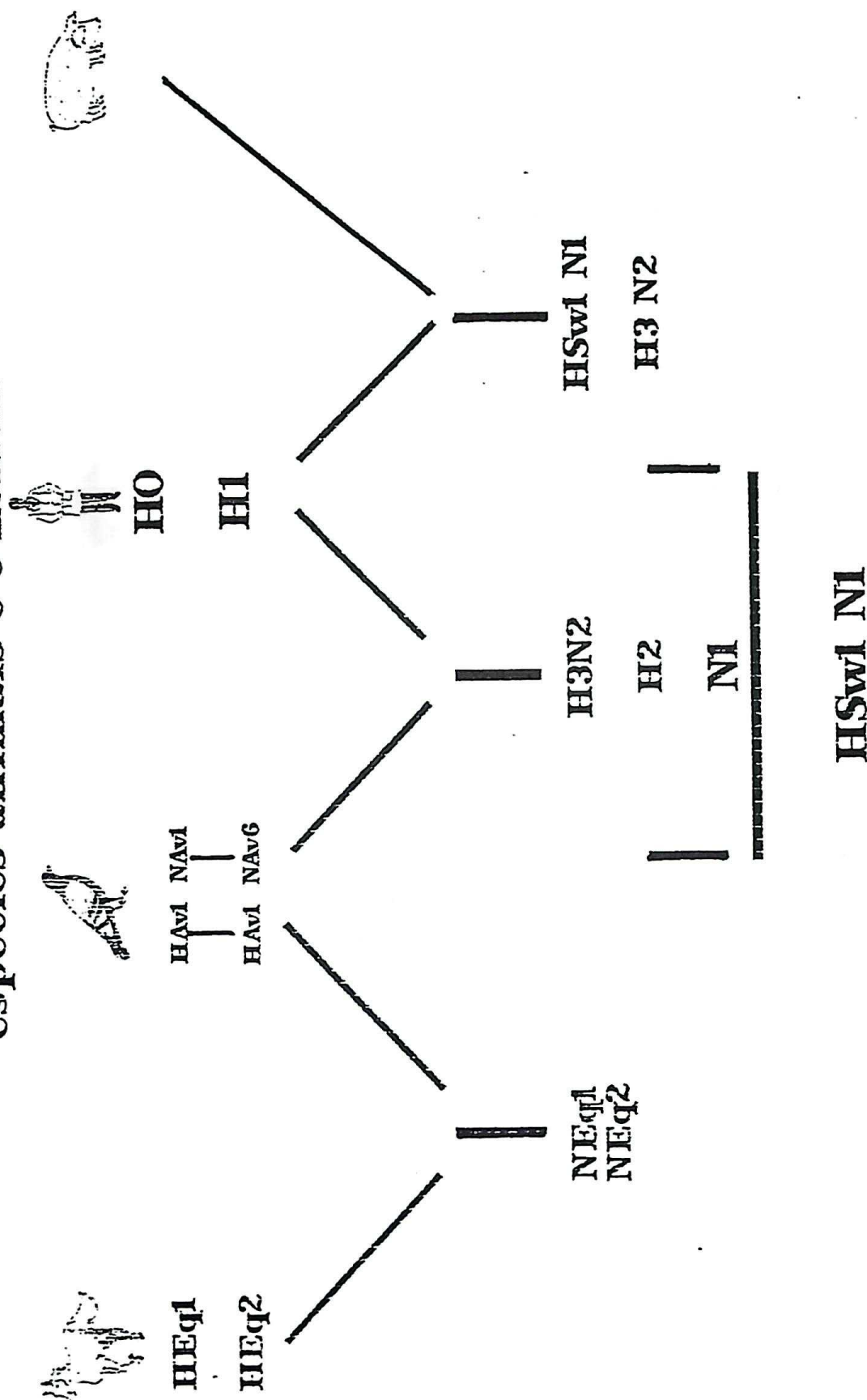
Vírus da Influenza A, na natureza podem também possuir como seus

hospedeiros normais: aves, eqüinos ou suínos. Contudo os tipos B e C têm sido isolados somente de humanos (Lennette, *et al*, 1979). A ocorrência natural de infecção de suínos com a cepa de Influenza humana H₃N₂, tem sido observada (Easterday, *et al*, 1981).

Evidências têm sido recentemente obtidas de que vírus, similares a cepa humana H₃N₂, podem, ocasionalmente, infectar vários animais incluindo primatas, bovinos e galinhas. Quanto mais estudos do relacionamento antigênico entre vírus Influenza são realizados, mais reações cruzadas são construídas entre diferentes espécies isoladas, sugerindo que vírus em diferentes sistemas ecológicos podem, independentemente, desenvolver antígenos possuindo estruturas comuns, ou que, infecções mistas de um animal possam ocorrer com dois vírus que resultem na produção de um vírus derivado dos genes oriundos da cadeia do hospedeiro e genes especificamente hemaglutinantes e ou antígenos NA de outra origem (Easterday, *et al*, 1981; Lennette, *et al*, 1979).

Dentre as várias espécies susceptíveis, nesta revisão será dado enfoque aos suínos, equinos, aves domésticas, aves silvestres e humanos.

Figura 2. — Interrelação do vírus Influenza com as espécies animais e o homem



2.5 - Suínos

A Influenza suína é conhecida também como gripe suína, gripe dos porcos e na Alemanha é chamada "*Ferkelgrippe*" (Easterday, B. C., 1981).

Koen, em 1918 reconheceu uma doença respiratória em suínos, diferentes das doenças anteriormente descritas, impressionando-se pela coincidente prevalência com Influenza humana, e da similaridade entre as duas doenças (Easterday, B. C., 1981).

Ao término do verão de 1918, uma epidemia de doença respiratória em suínos teve muitas similaridades patológicas e clínicas com Influenza humana existente, sendo reconhecida em suínos no centro-oeste dos EUA. Havia uma concordância geral entre veterinários e criadores de suínos, que esta era uma doença completamente nova. Alguns aspectos coincidiam com os da grande pandemia mundial de Influenza humana nos tempos modernos (Acha *et Szyfries*, 1986).

Na década de 20 esta enfermidade foi bem descrita em suínos, contudo o agente etiológico permanecia desconhecido. Em 1931, Shope demonstrou ser esta etiologia viral. Durante o período de 1931 a 1945, Shope trabalhou de forma expandir suas pesquisas com a inclusão de estudos de imunologia, transmissão e características antigênicas do vírus, e

formulou sua hipótese concernente a origem, patogenia e epizootiologia da doença e sugeriu que a Influenza suína era causada por vírus semelhantes aos causadores da pandemia de Influenza humana de 1918-1919, e que este patógeno humano alojava-se em suínos e de serem vermes pulmonares dos suínos os reservatórios do vírus da Influenza suína (Shope, 1931b).

O vírus pode ser transmitido por vermes pulmonares e também pela ingestão da minhoca comum (*anelídeo oligoqueta*). Entretanto a Influenza pode ocorrer também nas modernas instalações de criação, onde estes fatores são controlados (Shope, 1931a).

A Influenza suína continua a ser uma doença endêmica comum na América do Norte. O vírus e a doença têm, da mesma forma, sido identificados em outras partes do mundo, incluindo Taiwan, Hons, Kong, Itália, Tchecoslováquia, URSS e Colômbia (Easterday, B. C., 1981).

a) Definição

A Influenza suína é uma doença aguda respiratória, infecciosa e contagiosa de suínos caracterizada por ataque súbito, com tosse, dispnéia, febre, prostração, e usualmente com rápida recuperação. Geralmente não é fatal. Nem toda infecção com este vírus em porcos culmina com a clássica

descrição da doença. O curso da infecção pode ser alterado pela presença de anticorpos maternos, tornando-a suave ou subclínica (Easterday, B. C., 1981).

A influenza suína tem existido principalmente como uma doença enzoótica em suínos da América do Norte desde a epizootia inicial de 1918-1919. Resultados de estudos sorológicos indicaram que vírus Influenza suíno (SIV) A/Swine/Iowa/15/30 (H₁N₁) é o protótipo sobrevivente da cepa de vírus Influenza da pandemia humana de 1918 (Easterday, B. C., 1981).

b) Clínica

A influenza suína clássica como ocorre na natureza, é uma doença de rebanho com alta morbidade e baixa mortalidade (Done *et* Brown, 1998), que freqüentemente envolve todos os suínos em uma propriedade num período de 01 a 03 dias , após um período de incubação de 02 a 07 dias a doença surge repentinamente e, isto ocorre mais comumente no outono, inverno e início da primavera. Os sinais da doença, como descritos pelas investigações iniciais, são similares e próprios para Influenza suína como tem sido observado até então, seguindo a descrição existente feita por Dorset *et al.* em 1922.

“O começo era súbito e todos ou grande parte do rebanho desenvolvia rapidamente sérios sintomas. O rebanho estava tão doente que eles tinham que andar devagar jogando as patas para fora forçando-as se mover. A recuperação era mais ou menos rápida e surpreendente como o ataque, os sintomas podiam desaparecer rapidamente, dependendo em parte dos níveis de colostro, contudo o estado grave da doença permanecia inalterado praticamente 06 dias quando havia uma mudança notável nesta condição. Praticamente o rebanho inteiro levantava e comia, deslocando-se rapidamente um grande número de jardas, devido a aparente recuperação”.

Clinicamente, há um súbito surto de tosse dolorosa e freqüentemente paroxística, febre elevada, rigidez, fraqueza ou mesmo prostração na maioria ou em todo o rebanho, inclusive em todas as faixas etárias. Freqüentemente, este quadro se segue a alterações estressantes do manejo, ou a uma virada no tempo, particularmente no outono ou inverno. O surto esmaece, virtualmente, sem mortalidade, dentro de uma semana, com o aspecto clínico sendo muito mais alarmante do que as alterações patológicas, a menos que bactérias secundárias causem maiores problemas. (Lopez, 1985)

Os sinais observados nos animais, individualmente, são quase

exclusivamente referentes ao trato respiratório. Há tosse considerável, dispnéia e descarga nasal e ocular aquosa, com congestão das conjuntivas (Lopez, 1985).

Geralmente os sinais da doença incluem inatividade, prostração, anorexia completa e febres que pode atingir 42 °C. No auge da doença a respiração espasmódica causada pelos espasmos do diafragma são comumente chamadas de batidas (“*sons surdos*”), sendo acompanhadas por espirros e tosse intensa e dolorosa. A mortalidade devido ao edema pulmonar e broncopneumonia, ambas no passado e no presente é usualmente menor que 1%. Além desta clássica forma de Influenza suína, infecções subclínicas ou suaves são comuns em suínos com anticorpos maternos ou níveis baixos de anticorpos ativos. Infecções secundárias com *Hemophilus suis* ou outra bactéria freqüentemente complicam o quadro clínico (Easterday, B. C., 1981).

c) Patologia

Animais mortos no auge da doença apresentam atelectasia pulmonar causada por exsudato mucilaginoso espesso nos brônquios e bronquíolos. As áreas envolvidas são claramente demarcadas, colapsadas e na cor roxa-

avermelhada com o restante dos pulmões pálidos devido ao enfisema intersticial. Os lobos cefálico, cardíaco e vertebral estão, a maioria das vezes, comumente envolvidos, integralmente ou em parte. O baço apresenta-se, freqüentemente, moderadamente aumentado; a mucosa gástrica, usualmente, está hiperêmica mas, outros órgãos abdominais estão essencialmente normais. Os nodos linfáticos cervicais, bronquiais e mediastínicos estão dilatados e edemaciados. Histologicamente, as lesões pulmonares são de uma bronquiolite exsudativa (Easterday, B. C., 1981).

A patogênese do processo patológico é a infecção do epitélio do trato respiratório, com surtos mais severos refletindo maior envolvimento das vias respiratórias intrapulmonares, e a infecção secundária por *Haemophyllus* e/ou *Pasteurella*. Macroscopicamente, há uma copiosa inflamação que varia de catarral a mucopurulenta, desde as fossas nasais até os bronquíolos, com um volume de muco suficiente para entupir as vias respiratórias pouco calibrosas, e causar um padrão lobular ou multilobular de atelectasia nas regiões anteroventrais dos pulmões. Nos casos fatais, pode haver severo edema pulmonar, com alargamento dos septos interlobulares. Microscopicamente a lesão é uma bronquite-bronquiolite necrosante que, nos casos graves, se estende até o parênquima, como pneumonia broncointersticial. Os plugues formados por restos necrosados e células

inflamatórias são neutrofílicas nos primeiros dias, predominando mais tarde os macrófagos. Casos fatais, devido a bactérias secundárias, são broncopneumonias purulentas. O mais importante efeito da maioria dos surtos é a severa perda de peso, da qual os animais precisam recuperar-se, mas as porcas prenhes podem também abortar ou parir leitões fracos. (Lopez, 1985)

Uma leucopenia moderada desenvolve-se nos estágios iniciais, sendo que os animais recuperados podem ser identificados por teste de neutralização do vírus e inibição da hemaglutinação (Easterday, B. C., 1981).

d - Infecções Humanas

d.1) Clínica

Há no momento vários casos documentados de Influenza humana causada pelo vírus Influenza Hsw₁N₁. A natureza da doença nestes pacientes humanos, não possui uma característica única comparada com casos de Influenza em seres humanos causados por subtipos que são considerados vírus de Influenza humana. Pacientes que tiveram

confirmadamente infecções pelo vírus da Influenza com o tipo Hsw₁N₁ apresentaram febre, calafrios, dor de cabeça, mialgia, faringite e tosse típica da Influenza humana (Easterday, B. C., 1981).

d.2) Patologia

Somente uma morte foi relatada em ser humano na qual tenha sido isolado o vírus Hsw₁N₁. As lesões eram de uma pneumonia viral não complicada, com observação dessas lesões em infecções causadas pelos vírus da influenza humana (Easterday, B. C., 1981).

d.3) Diagnóstico

O isolamento e a identificação dos vírus são importantes no diagnóstico das infecções humanas pelos vírus Influenza de suínos. Em um determinado paciente, o sorodiagnóstico pode não ser suficientemente específico para demonstrar segurança (Easterday, B. C., 1981).

e) Epidemiologia

Acredita-se que o vírus Influenza suíno tem estado presente no centro oeste dos Estados Unidos desde que a doença clínica foi primeiramente observada em 1918. Os surtos, caracteristicamente, começam no final de setembro quase simultaneamente em várias propriedades em uma região na qual acredita-se ter sido espalhado o vírus inicial, ocorrido em surtos clínicos menores devido a *stress* por calor e/ou outros fatores. Tais surtos cresceram rapidamente em número durante os meses de outubro e novembro vindo então a diminuir durante os meses de dezembro, janeiro e o restante do inverno. Enquanto esta prevalência sazonal de Influenza suína típica é mais comum de ocorrer anualmente no início do inverno persistindo por toda a estação, a doença respiratória relacionada com a infecção pelo vírus da Influenza suína ocorre o ano inteiro. Em um recente levantamento sorológico no Estados Unidos o vírus da Influenza suína foi isolado de porcos abatidos em todos os meses do ano (Easterday, B. C., 1981; Nakamura *et al* 1972; Hinshaw *et al*, 1978).

e.1) Reservatório

O suíno parece ser o reservatório do vírus da Influenza suína (Shope, 1931a).

Este mesmo autor propôs a hipótese de que minhocas (*anelídeos oligoquetas*) e larvas de diferentes vermes pulmonares de suínos, mantêm e transmitem o vírus da Influenza suína, e demonstrou que ovos dos mesmos podem conter o vírus da Influenza, e com estes, serem eliminados nas fezes de suínos infectados e serem ingeridos por minhocas, as quais podem ser ingeridas novamente por suínos. As larvas dos vermes pulmonares, carregam em sua migração, o vírus para os pulmões dos suínos. Os mesmos permanecem clinicamente normais até que a infecção ativa venha a ser precipitada por um ou mais fatores estressantes. A extensão com qual este ciclo ocorre não é bem elucidada, o vírus é conhecido por circular ativamente em suínos e por ter transmissão aérea durante o ano inteiro (Easterday, B. C., 1981).

A influenza suína ocorre também no Hawai onde pode perpetuar-se por muitos anos nos suínos, mesmo diante da inexistência dos vermes pulmonares anteriormente citados (Easterday, B. C., 1981).

Nakamura *et* Easterday (1967) propuseram a hipótese que alguns

porcos, mesmo convalescentes da infecção aguda, podem permanecer carreando o vírus e servir para perpetuar o mesmo no rebanho.

Blaskovic *et al* (1970) sustentaram a hipótese de que uma condição de transporte ou persistência do vírus com relação a existência de animais migratórios ocasionais ou intermitentes, quando eles verificaram que animais susceptíveis postos em contato com porcos infectados anteriormente a três meses, vieram também a infectar-se e o vírus foi isolado destes.

e.2) Transmissão

A transmissão parece ocorrer através do contato direto com aerossóis de suíno à suíno, do vírus contido na secreção nasal, ou contato indireto com fômites contaminados com secreções nasais infecciosas, podendo o vírus ser introduzido em um grupo susceptível de suínos por recrudescência da eliminação do vírus por um animal persistentemente infectado ou pela introdução de um animal oriundo de outro rebanho (Easterday, B. C., 1981).

Não é incomum a infecção ser introduzida em um rebanho, quando animais expostos retornam para o mesmo, quando é adicionado uma nova raça ao rebanho ou quando introduz-se novas raças em uma propriedade, uma vez introduzido o vírus espalha-se muito rapidamente em um rebanho

de suínos (Easterday, B. C., 1981).

Geralmente é difícil demonstrar o vírus na secreção nasal de suínos infectados depois de 70 a 80 dias de curso da doença (Easterday, B. C., 1981).

e.3) Hospedeiros Humanos

Os seres humanos parecem não desempenhar um papel direto nem como reservatório nem como hospedeiro na manutenção das infecções de influenza em suínos (Easterday, B. C., 1981).

Suinocultores fazem, contudo, a perpetuação da infecção nestes, por práticas de manejo, as quais concentram um grande número de suínos, por troca-los extensivamente entre rebanhos, através da aquisição de rações para suínos e devido a criação e apresentação de raças (Easterday, B. C., 1981).

Os seres humanos parecem ter sido envolvidos diretamente na exposição suína para o vírus da Influenza do grupo de Hong Kong, o qual tem pessoas como hospedeiros primários, contudo, tem sido demonstrado ser transmitido por suínos, os quais podem ou não desenvolver abertamente a doença. Estes vírus não surgiram para se estabelecer em populações de suínos, pois infecções em porcos tem ocorrido somente quando seres

humanos infectados vem a ter contato com eles (Easterday, B. C., 1981; Acha *et Szyfres*, 1986).

f) Aspectos de Saúde Pública

A mini epidemia de influenza suína em soldados do Forte Dix, Nova Jersey, em janeiro de 1976 e subsequente transmissão limitada humano a humano do vírus, teve um impacto social e econômico tremendo nos Estados Unidos, a epidemia de Influenza suína diz respeito a um excessivo potencial em pessoas guiadas para um Programa Nacional de Imunização para influenza suína, o qual custa aproximadamente 135 milhões de dolares no orçamento federal, e um alto custo adicional em fundos estatais apropriados. Até então desde o episódio do Forte Dix, infecções humanas devido ao vírus da Influenza suína tem sido limitadas em número e alcance. Isto surge no momento em que a infleunza suína é um dos riscos ocupacionais de pessoas que trabalham manuseando intimamente com suínos (Acha *et Szyfres*, 1986; Easterday *et al*, 1977).

O custo preciso da doença para indústria suína não tem sido avaliado, em parte porque não tem sido, a infecção, considerada importante. Isto talvez estimasse que cada porco que sofreu a influenza clínica tem o

desenvolvimento retardado, impossibilitando a sua comercialização, no mínimo por algumas semanas (Easterday, B. C., 1981).

Aproximadamente 30% dos casos clínicos da doença, em média, ocorrem em porcos em crescimento nos Estados Unidos, a cada ano, o que torna o impacto econômico considerável (Easterday, B. C., 1981; Acha *et Szyfres*, 1986). A pesquisa sorológica da infecção em suínos não é difícil. Estudos epidemiológicos nacionais tem sido conduzidos através de exames do soro e de suabes nasais, coletados de animais selecionados para o abate em propriedades, nos Estados Unidos (Easterday, B. C., 1981).

A sorologia das infecções de Influenza suína em seres humanos é muito mais difícil. Geralmente é necessário a identificação dos indivíduos doentes em propriedades com suínos enfermos (Acha *et Szyfres*, 1986).

Que a Influenza suína é uma zoonose é indiscutível, mas a magnitude e significância da Influenza suína como uma zoonose permanece sem ser determinado. Parece que a Influenza suína tem sido uma zoonose desde o seu surgimento e o vírus de suíno parece ter mudado muito pouco biologicamente e antigênicamente decorridos mais de 60 anos. O vírus da Influenza em suínos constitui algum risco ocupacional para aquelas pessoas próximas aos suínos, mas de humano à humano a distribuição da infecção tem sido muito limitada e isto faz não parecer ser neste momento um vírus

com potencial epidêmico para a população humana. O fato dele não ter potencial epidêmico não o torna menos importante para a saúde pública . Um número significativo de pessoas estão em contato com suínos e seus produtos e constituem uma grande população de risco. Autoridades médicas e de saúde pública as quais se confrontam com doenças respiratórias não diagnosticadas em seres humanos associadas com porcos, consideram a possibilidade de infecção pelo vírus da Influenza suína (Acha *et Szyfres*, 1986).

2.6 - Equinos

Heller *et al.* em 1957, revelou a ocorrência de anticorpos fixadores de complemento do vírus Influenza tipo A acompanhando uma doença respiratória em soro de equinos convalescentes (Bryans, *et al*, 1967).

O termo Influenza eqüina foi empregado indiscriminadamente em medicina veterinária para descrever um complexo clinicamente variado de etiologia indefinida nas doenças respiratórias de equinos. Sinônimos empregados na literatura mais antiga para a doença, a qual sabe-se ser causada pelo Influenza vírus tipo A, foram construídos usualmente prefaciando a palavra “tosse” seguida do nome do centro de treinamento de

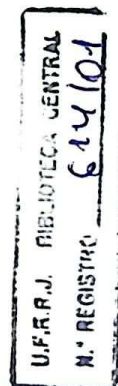
equinos ou hipódromo onde a doença foi historicamente prevalente. Assim “tosse New market” (Beveridge, *et al*, 1965), “tosse Belmont” ou simplesmente “a tosse” foram aplicados e bem compreendidos, para significar a ocorrência de uma rápida e extensa epidemia de doença respiratória, com prevalência maior sobre equinos jovens e caracterizada por tosse seca entrecortada (Bryans, J. T., 1981)

a) Clínica

A maior parte dos casos ocorrem em animais com aproximadamente 02 anos de idade, o tempo no qual são usualmente expostos (Bryans, 1966).

Cavalos com mais de 2 anos os quais são utilizados em carroças, em áreas de treinamento ou diferentemente em competição usualmente são imunes em virtude de infecções prévias. Os sinais cardinais da influenza eqüina são tosse seca freqüente, a qual se desenvolve durante o primeiro ou segundo dia da doença (Bryans, 1967).

Os sinais que variam grandemente em severidade somam a tosse freqüente, entrecortada e seca a inclusão da febre, laringite, descarga nasal serosa, inflamação muscular e inapetência (Waddell, *et al*, 1963). Em geral, cavalos infectados pelo vírus Heq₂, Neq₂ exibem sinais mais severos da



doença do que aqueles infectados pelo tipo Heq₁, Neq₁ (Acha *et* Szyfres, 1986). O vírus Heq₂, Neq₂ tende também a produzir bronquiolite, bronquite difusa, pneumonia e edema pulmonar mais freqüentemente do que o tipo Heq₁, Neq₁. A maioria dos cavalos infectados por vírus Influenza, contraem infecções bacterianas secundárias, as quais, são produzidas principalmente pelo *Streptococcus zooepidermidis*. A ocorrência de infecção secundária é usualmente manifestada pelo aparecimento de descarga nasal mucopurulenta, febre contínua, mudança na característica da tosse, e desenvolvimento de linfadenite intramandibular (Bryans, J. T., 1981).

b) Patologia

As alterações patológicas causadas pelas infecções em cavalos com vírus de Influenza eqüina são similares aquelas que tem sido descritas para Influenza no ser humano e nos animais de laboratório. Tipicamente, os vírus produzem múltiplos focos de lesões do epitélio ciliado do trato respiratório (traqueobronquites) e edema da mucosa respiratória que, nos estágios iniciais da doença, vem a ser infiltrada por linfócitos. A maioria das pneumonias causadas por vírus Influenza, não complicadas, ocorrem freqüentemente em potros, mas podem ocorrer em cavalos mais velhos. A

pneumonia viral é observada mais freqüentemente em garanhões do que em éguas e em cavalos infectados pelo Heq₂, Neq₂ do que pelo vírus Heq₁, Neq₁. Miocardite intersticial é comumente encontrada em cavalos morrendo por outras causas e que tenham experimentado recentemente a infecção pelo vírus Heq₂, Neq₂ (Bryans, J. T., 1981).

c) Diagnóstico

Um diagnóstico clínico de Influenza eqüina individualmente em animais é possível se os sinais, particularmente a ocorrência de tosse seca freqüente, são claramente evidentes. O diagnóstico clínico é mais seguro se alguns casos da doença possam ser observados entre um grupo de cavalos. Amostras de nasofaringe para diagnóstico virológico são convenientemente obtidas através de suabes nasal e de faringe confeccionados com esponja de gaze estéril (Bryans, J. T., 1981; Pereira, *et al*, 1972)

d) Infecção Humana

Embora a infecção humana com o vírus da influenza eqüina não tenha sido mostrado ocorrendo sob condições naturais, a exposição pessoal por

aerossóis ao vírus Neq₂ em laboratórios durante procedimentos de centrifugação tem desenvolvido anticorpos para HI sem desenvolvimento de nenhum sintoma da Influenza. As hemaglutininas de ambas as viroses eqüinas são únicas, mas são relatadas antigênicamente como hemaglutininas relacionadas aos vírus Influenza os quais infectam ambos hospedeiros, pessoas e aves. Isto foi observado no vírus Duck/Ukraine/1/63(Hav₇, Neq₂) ou (H₃N₈), possuidor não somente de neuroaminidases antigênicas semelhantes com o vírus A/Equine/Miami/63, mas que a hemaglutinina (Hav₇) é antigênicamente relatada para o antígeno Neq₂. Webster (1970) observou que a fração de hemaglutinina de A/Fowl Plague/Dutch/27(Hav₁, Neq₁) é antigênicamente relacionada para o antígeno Heq₁. Ele sugeriu a possibilidade, que uma série de hospedeiros mutantes, tornam possível a adaptação, do vírus da influenza aviária, para eqüinos(Bryans, J.T.,1981).

e) Epidemiologia

A epidemiologia da influenza eqüina é influenciada pelo fato de que dois únicos vírus são antigênicamente concorrentes para causar a doença. Sob condições naturais, o modelo da doença produzido por estes vírus é determinado pelo desenvolvimento imunitário como um resultado da

infecção experimentada. Tal experiência é usualmente obtida por cavalos antes que eles alcancem a idade de três anos. A exposição à uma amostra do vírus pós epidêmica, portanto, produz doença somente em cavalos de 2 anos de idade ou jovens (Bryans, *et al*, 1967). Embora antigênicamente de menor movimento, podem ser detectadas em ambos os vírus Influenza eqüina, trocas antigênicas não maiores comparáveis com a do aparecimento do vírus Heq₂, Neq₂ observadas desde 1963 (Bryans, J. T., 1981).

2.7 - Aves Domésticas

Em, praticamente, todas as regiões do mundo tem sido descritos isolamentos de vírus Influenza A, a partir de espécimes oriundas de aves selvagens que, através de migração possibilitam a expansão da doença as áreas mais diversas do planeta (Johnson *et* Maxfield, 1976; Wells. 1963).

Cepas diversas desse vírus têm sido isoladas simultaneamente, também de aves ornamentais, domésticas ou de granjas nos vários continentes do mundo, mostrando uma larga diversidade antigênica, com isolamento relacionado ou não a quadros clínicos (Salcedo, 1980; Couceiro, 1986; Couceiro, *et al*, 1987).

Tem sido observadas com bastante frequência, infecções mistas

relacionadas etiologicamente à mais de um tipo de vírus Influenza A aviário (Campbell *et* Butterfield, 1981; Couceiro, *et al*, 1987).

Ao redor de 1957 por ocasião de uma pandemia de Influenza em humanos, foi descoberto que outros animais eram mais susceptíveis que os suínos ao vírus da Influenza tipo A . Os vírus da Influenza eqüina e Influenza dos patos, foram isolados e identificados como Influenza vírus tipo A. O vírus da Influenza aviária, demonstrou ser rigorosamente relatado como Influenza tipo A (Kaplan *et* Beveridge, 1972).

a) Clínica

As manifestações clínicas da infecção por vírus da Influenza de aves, variam de inaparente à infecção caracterizada por alta morbidade e mortalidade dependendo da cepa do vírus da espécie de ave afetada, idade de sexo dos hospedeiros, fatores ambientais e infecções concorrentes (Campbell *et* Butterfield, 1981; Whiteman *et* Bickford, 1989).

O vírus da Influenza aviária produz alta morbidade e mortalidade em um número de espécies aviárias incluindo galinhas, gansos e patos. A doença, a qual é caracterizada por ataque brusco, pode ser tão aguda quanto mortal nos pássaros, mas antes, os sintomas clínicos usuais de diminuição

das atividades, do consumo alimentar e da produção de ovos são observados (Campbell *et* Butterfield, 1981).

Sinais clínicos incluem tosse, lacrimejamento, arrepiamento das penas, sinusite, edema de cabeça, especialmente das barbelas, cianoses das áreas sem penas, vesículas nas barbelas e crista, desordens nervosas e diarreia (Whiteman *et* Bickford, 1989).

Pássaros infectados estão relutantes em se mover e frequentemente cambaleiam quando andam. Nos estados adiantados da doença estes pássaros estariam comatosos e usualmente morreriam entre 03 e 07 dias após a exposição (Campbell *et* Butterfield, 1981).

b) Patologia

Lesões macroscópicas da Influenza aviária variam dependendo da patogenicidade do vírus, tendo sido descritos vários tipos de congestão, hemorragia, secreção e necrose (Whiteman *et* Bickford, 1989).

Alterações congestivas, hemorrágicas e necróticas são primeiro observadas na pele e crista tal hemorragia, pode variar de petequial a equimótica no peritônio superfície serosa do intestino, pró ventrículo, superfície pleural e esternal, e sob a camada cuticular da moela. Alterações

congestivas, hemorrágicas e necróticas são primeiro observadas na pele e crista . Focos necróticos cinzas ou amarelos podem ser observados no fígado, rins, baço e pulmões. Exsudatos cinzas ou amarelos tem sido observados nos sacos aéreos, peritônio, e nos ouvidutos. Pericardite fibrinosa tem sido freqüentemente observada. Vírus da Influenza aviária e outros vírus de Influenza A aviários, virulentos, produzem edema, hiperemia, hemorragia e focos peri vasculares envolvendo somente o miocárdio, baço, pulmões e cérebro, e, em menor extensão fígado e rins. Degeneração e necrose parenquimal estão presentes no baço, fígado e rins. Pode existir focos de necrose no fígado, pulmões, intestino, pâncreas e cérebro. Sinais de encefalite podem ocorrer devido ao avanço das lesões do sistema nervoso central (Narayan *et al*, 1969; Jungherr *et al*, 1946; Jordan *et* Pattison, 1996).

c) Diagnóstico

O diagnóstico definitivo da infecção pelo vírus da Influenza A é baseado em técnicas laboratoriais de isolamento e caracterização sorológica. Suabes cloacais ou traqueais de aves mortas são a origem usual para o isolamento do vírus. Estes materiais são inoculados em ovos embrionados

de galinha, de 9 a 11 dias de idade, via saco corioalantóide para obter a multiplicação do vírus. Após a incubação dos ovos por 48 a 72 horas os fluidos amnióticos e alantóicos são colhidos, clarificados por centrifugação a 1500 rpm por 20 minutos e testados por hemaglutinação de 5% do lavado das células sangüíneas vermelhas de galinha em um teste de aglutinação em placa. Se a hemaglutinação ocorre, representada pelo teste de imunodifusão em agar gel com anti-soro para Influenza tipo A ribonucleoproteína, determinará que o agente hemaglutinante é um vírus Influenza tipo A . Para completar a identificação do vírus isolado, testes de inibição da hemaglutinação (HI) e inibição da neuroaminidase são feitos com anti-soro contra cada antígeno de superfície de hemaglutinina e neuroaminidase para aves, humanos, eqüinos e porcos. Para determinar a virulência do isolado galinhas, perus, patos e outras aves avaliadas são sangradas e então inoculadas, com material original isolado, intratraqueal e intranasalmente, com e sem antibióticos. Devido ao perigo da disseminação dos vírus tal trabalho é feito somente em laboratórios com sistema de segurança para este tipo de vírus. As aves são observadas, diariamente, para os sinais clínicos e desenvolvimento de anticorpos homólogos contrários e sabe-se que os vírus protótipos são determinados 21 dias pós inoculação por comparação com soro pré inoculado em testes de hemaglutinação, inibição da hemaglutinação e inibição da neuroaminidase (Campbell et Butterfield, 1981).

d) Aspectos de Saúde Pública

O Vírus Influenza de aves tem sido isolado de pacientes humanos. Evidências de transmissão homem-ave ou ave-homem têm sido circunstanciais e de importância desconhecida para a saúde de homens e animais (Campbell *et al*, 1970).

Apontados como de grande importância para a saúde, são os efeitos indiretos possíveis da recombinação entre amostras humanas e aviárias do vírus, resultando em uma nova amostra capaz de causar epidemias humanas (Webster *et* Campbell, 1972; Webster, *et al*, 1973).

2.8 - Aves Silvestres

Infecções por vírus Influenza de pássaros silvestres tem sido extensivamente estudados somente após 1961 (Easterday, B. C., 1981).

Muitas amostras distintas dos vírus Influenza tem sido resgatadas de muitas espécies de pássaros silvestres por todo o mundo (Couceiro, *et al*, 1987).

Há somente um relato de doença grave associada com esta infecção, e a infecção pelo vírus Influenza, em pássaros silvestres, surge neste momento por ser muito difundida, tanto entre as espécies, como em

extensão geográfica, mas exceto em situações únicas, não serão importantes como agente da doença (Easterday, B.C., 1981).

a) Clínica

Além da grande mortalidade descrita na epidemia em 1961 no sul da África, outras têm acontecido. Sintomas de infecção não têm sido descritos para nenhum tipo de infecção do vírus Influenza A de pássaros de vida livre (Easterday, B. C., 1981).

b) Patologia

As lesões que somente têm sido descritas associadas com infecção do vírus Influenza entre pássaros de vida livre, são aquelas as quais foram observadas durante uma epidemia de duração comum em 1961. Infecções experimentais em patos têm demonstrado que o vírus se estabelece nas células epiteliais de revestimento do tracto intestinal e nos tecidos linfóides tanto como as tonsilas cecais e a bursa. Em pássaros infectados os vírus de Influenza são conhecidos por serem predominantes especialmente em tecidos do tracto intestinal e serem excretados em grande quantidade nas fezes baseado em estudos em algumas espécies de aves aquáticas

migratórias. Os vírus da Influenza também têm sido isolados em alguns casos de secreções da traquéia (Easterday, B. C., 1981).

c) Diagnóstico

A infecção pelo vírus da Influenza têm o diagnóstico baseado no isolamento do vírus ou na detecção de anticorpos anti-Influenza, não sendo comum os relatos clínicos, a exceção da epidemia no sul da África em 1961. Os vírus Influenza têm sido, freqüentemente, isolados de material fecal colhido por suabe cloacal ou menos comumente de secreções traqueais colhidas por suabes traqueais (Rosenberger, *et al.*, 1974).

O isolamento do vírus é comumente feito em ovos embrionados de galinhas com reconhecimento por teste de hemaglutinação seguido por padronização sorológica (Jordan *et al.*, 1996).

Alguns testes sorológicos são aplicados em exames de amostras de soro, mas isto é importante para lembrar que existe uma variação considerável entre as espécies na direção na qual eles reagem imunologicamente para infecção do vírus Influenza. Entre as aves domésticas, patos de algumas espécies têm demonstrado produzir baixos títulos de anticorpos anti-ribonucleoproteína, em resposta a infecção, assim

como também níveis muito baixos de anti-hemaglutinina (Easterday, B. C., 1981).

d) Infecção Humana

Não há caso de infecções humanas por vírus Influenza de pássaros de vida livre. Está claro que os seres humanos têm muitas oportunidades para ter contato com estes vírus Influenza, como por exemplo, os caçadores que têm contatos consideráveis com aves aquáticas infectadas durante a estação de caça (Easterday, B. C., 1981).

e) Epidemiologia

Sabe-se que os vírus de Influenza aviária estão espalhados por todo o mundo, pois amostras dos mesmos têm sido detectadas em várias espécies de aves em diferentes partes do planeta (Couceiro, *et al*, 1987).

Evidências sorológicas com posterior isolamento do vírus da Influenza A de aves migratórias (Water Fowl), tem confirmado a existência destes em tais aves (Rosenberger, *et al*, 1974; Slemons, *et al*, 1974).

Na América do Norte, a infecção entre aves aquáticas migratórias tem sido demonstrado tanto nos Estados Unidos quanto no Canadá. Entre

as aves aquáticas a taxa de sorologia positiva tem sido observada, mais freqüentemente, a partir de 1981. Taxas de infecção de Influenza entre pássaros pelágicos variam com intervalos muito maiores entre as espécies e áreas geográficas examinadas (Easterday, B. C., 1981).

f) Reservatório

Baseado no vasto número de vírus Influenza que têm sido encontrados em pássaros de um número muito grande de espécies, está claro que existe um grande “pool” antigênico e genético deste vírus entre as espécies aviárias do mundo. O isolamento dos vírus Influenza com muitas combinações diferentes de hemaglutininas e neuraminidases têm sugerido um extensa variedade de infecções por tipos únicos e mistos destes vírus que serão carregados em pássaros por todo mundo (Slemons *et al*, 1974).

g) Controle

Existem métodos conhecidos de controle do vírus da Influenza entre pássaros de vida livre. Contudo desde que estes pássaros movem-se livremente de país para país e cruzam as maiores áreas geográficas do mundo, não existem no momento medidas regulatórias aplicáveis, as quais

tenham sido impostas para controlar o movimento das infecções do vírus Influenza em pássaros silvestres (Easterday, B. C., 1981).

h) Aspectos de Saúde Pública

Enquanto existe potencial para o desenvolvimento de novas amostras de vírus Influenza em pássaros silvestres, as quais tem sido infecciosas para seres humanos, e existem muitas oportunidades para seres humanos virem a ser expostas a tantos vírus Influenza, para os quais eles teriam pouca ou nenhuma imunidade, existem de fato casos não reconhecidos de infecções humanas com vírus Influenza transmitidos por pássaros de vida livre (Easterday, B. C., 1981).

2.9-Influenza humana

O impacto letal de uma epidemia de influenza é refletido no número excessivo de mortes devido a pneumonia, doenças cardiovasculares e renais. Gestantes e pessoas idosas com doenças crônicas apresentam um risco maior de desenvolver complicações e morrer (Murray *et al*, 1992).

a)Clínica

Com um período de 1 a 2 dias, a manifestação clínica é evidenciada por calafrios, febre, mal-estar, dores musculares, prostração e sintomas respiratórios, com febre persistindo, em média, durante 3 dias. As complicações não são comuns embora possam ocorrer (Jawetz, *et al*, 1982)

b)Diagnóstico

Pelos métodos laboratoriais, a enfermidade é diagnosticada facilmente. Com o objetivo de determinar a concentração de anticorpos, amostras de soro devem ser colhidas. A primeira no prazo inferior a 05 dias após o início do quadro, e a segunda de 10 a 14 dias. A técnica sorológica de preferência é a inibição da hemaglutinação (Lennette *et al*, 1995).

Para o isolamento, devem ser colhidos suabes de garganta, para inoculação em ovos embrionados de galinha. Alternativamente podem ser utilizados cultivos celulares (Lennette *et al*, 1995).

d) Patologia

Na influenza não complicada sinais de descamação no epitélio

cilindrico ciliado do trato respiratório pode ocorrer (Lennette *et al*, 1995).

Pneumonias, miocardites, pericardites e complicações do sistema nervoso central, destacando-se a encefalomielite, a polineurite, as síndromes de Guillain-Barré e a de Reye, podem ocorrer (Jawetz, *et al*, 1982).

Na pneumonia por influenza o vírus se fixa nas células epiteliais dos bronquíolos distais e alvéolos, os quais podem estar revestidos com uma membrana hialina (Lennette *et al*, 1995).

e) Epidemiologia

Durante muito tempo especulou-se sobre o possível envolvimento de animais na epidemiologia da influenza. Isto foi confirmado em 1918, durante a pandemia humana, onde no centro-oeste dos Estados Unidos da América foi observada, em suínos, uma epizootia de doença similar a influenza (Kaplan *et Payne*, 1959).

Estudos sorológicos retrospectivos em humanos, indicaram que o vírus do suíno era antigenicamente similar ao vírus influenza tipo A responsável pela pandemia humana de 1918-1919 (Hinshaw, *et al*, 1978).

A influenza A ocorre em ondas sucessivas de infecção, com picos de incidência durante o inverno, podendo variar de casos isolados até

surtos extensos que, em algumas semanas, acometem 10% ou mais da população, com índices de 50 a 75% nas crianças na idade escolar (Jawetz, *et al*, 1982).

A questão crucial na epidemiologia da influenza, a qual sempre permanece sem resposta, é a origem de "novos" subtipos pandêmicos com grandes mudanças antigênicas (Kaplan *et* Beveridge, 1972)

O período entre as ondas epidêmicas costuma ser de 2 a 3 anos sendo que todas as pandemias conhecidas foram ocasionadas por cepas de vírus influenza A (Jawetz, *et al*, 1982).

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

Os trabalhos práticos foram realizados no Laboratório de Viroses Veterinárias, do Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, do Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob a supervisão do Professor Cláudio de Moraes Andrade.

Os procedimentos adotados nesta pesquisa foram aqueles recomendados pela Organização Mundial da Saúde (WHO Collaborating Center for Surveillance, Epidemiology and Control of Influenza, 1996-1997).

3.1 – Materiais

3.1.1 – Vírus

Foram utilizadas amostras de vírus influenza A

H₁N₁ (A/Turkey/Weybridge/79); e

H₃N₂[H₃N_{Eq2} (Duck/Hong Kong 29/76)]

cedidas, respectivamente, pelos Professores José Nelson dos Santos Silva Couceiro e Maulori Curié Cabral, do Departamento de Virologia - Instituto

de Microbiologia Professor Paulo de Góes – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

3.1.2 – Soros de suínos

Foram utilizados 100 soros de suínos procedentes de criações industriais do município de Nova Friburgo – Rio de Janeiro, coletados pela Pesquisadora Leda Maria Silva Kimura, do Laboratório de Biologia Animal da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio de Janeiro.

3.1.3 – Solução salina tamponada, pH 7.2 (PBS)

Para a realização das provas de HA, HI e na diluição dos soros foi utilizado solução salina tamponada, pH 7.2

Cloreto de sódio (NaCl)	8,00	g
Cloreto de potássio (KCl)	0,20	g
Fosfato dissódico ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	1,13	g
Fosfato bipotássico (K_2HPO_4)	0,20	g
Água destilada q.s.p.	1.000,00	ml

Ajustar para pH 7.2.

Autoclavar a 115 °C durante 10 minutos.

3.1.4 - A.C.D. (Ácido-Citrato-Dextrose)

Glicose (Dextrose) ($C_6H_{12}O_6$)	11,00	g
Citrato de sódio ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$)	11,26	g
Ácido cítrico ($C_6H_8O_7$)	4,00	g
Água destilada deionizada q.s.p	500	ml

Autoclavar a 115 °C durante 10 minutos.

3.1.5 – R.D.E (Receptor Destroying Enzyme)

O RDE foi fornecido pela Dra. Marilda Siqueira, do Laboratório de Doenças Respiratórias (Pavilhão Cardoso Fontes) do Instituto Oswaldo Cruz.

3.1.6 – Hemácias de galinha

Foram colhidas, assepticamente, do plantel de aves doadoras, controladas para micoplasma e NewCastle, pertencente ao Setor Micoplasmologia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em ACD, utilizando-se a proporção de 1,5 mL do anti-coagulante para 8,5 mL de sangue.

3.1.7 – Microplacas.

Nas provas de HA e HI foram utilizadas microplacas de 96 poços com fundo em "U".

3.1.8 – Pipetadores/diluidores e ponteiras.

Foram utilizados pipetadores/diluidores automáticos, monocanal, de 25 microlitros, com ponteiras descartáveis.

3.2 – Métodos

3.2.1 – Preparo das hemácias

As hemácias foram colhidas por punção venosa na asa de galinhas usando a proporção de 1,5 mL de ACD para 8,5 mL de hemácias.

O procedimento de lavagem obedeceu ao seguinte protocolo:

- Centrifugar a suspensão de hemácias em centrífuga refrigerada (6 °C), a 600 x g, durante 10 minutos.

- Aspirar o sobrenadante, adicionar PBS pH 7,2, homogeneizar e repetir a centrifugação.
- Realizar a operação mais 2 vezes, perfazendo um total de 3 lavagens.
- Anotar o volume de hemácias e diluir para a concentração desejada (volume/volume).

3.2.2 – Titulação do vírus.

A capacidade hemaglutinante dos vírus foi testada frente a hemácias de galinha 0,5%, diluindo-se em duplicata, na placa, em PBS pH 7.2, em diluições seriadas a partir de 1/2, múltiplas de 2, anotando-se a última diluição em que houve hemaglutinação total como 1 Unidade Hemaglutinante (1 UHA).

Para a prova de HI utilizamos 4 UHA.

3.2.3 – Preparo dos soros.

3.2.3.1 - Tratamento dos soro para inativação dos inibidores inespecíficos.

O soro de muitas espécies animais contém inibidores inespecíficos para aglutinação, os quais, a menos que removidos, podem conduzir a resultados falso-positivos. Tais inibidores inespecíficos podem ser inativados por tratamento com enzimas destruidoras de receptores (RDE).

Utilizando-se o RDE seguimos os procedimentos recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS)

- Reconstituir o RDE com 25ml de salina fisiológica.
- Adicionar 3 volumes de RDE para 1 volume de soro (0,3ml RDE + 0,1ml soro).
- Incubar por uma noite, em banho maria, a 37 °C.
- Completar a diluição do soro para 1/10 adicionando 6 volumes de salina fisiológica.
- Incubar em banho maria a 56 °C, durante 30 minutos.

3.2.3.2 – Tratamento dos soros para remoção das aglutininas inespecíficas.

Realizado o controle do soro e sendo observada a presença de aglutininas inespecíficas em alguns soros foi realizado o tratamento, para adsorção e remoção das mesmas com hemácias de galinha a 50% em PBS, pH 7.2, utilizando-se o seguinte procedimento:

- Ao soro diluído a 1/10 e tratado com RDE, adicionar 0,1 mL de papa de hemácias a 50% em PBS, pH 7.2 (0,1 mL em ± 10 mL de soro tratado).
- Homogeneizar e incubar a 37 °C, durante 30 minutos.
- Centrifugar a 600 x g, durante 10 minutos, a 6 °C.
- Colher o sobrenadante e realizar o controle do soro.

3.2.4 – Prova da hemaglutinação (HA) para padronização dos antígenos

Os antígenos foram titulados, conforme protocolo a seguir.

- Adicionar 25 microlitros de PBS (pH 7,2) em todos os poços de 2 fileiras da placa.

- Colocar 25 microlitros do antígeno e diluir até o final da fileira, desprezando-se a última porção.

- Colocar 25 microlitros de de hemácias a 0,5% em todos os poços.

Agitar.

- Realizar o controle de hemácias.

- Incubar as placas a temperatura ambiente (22 a 25 °C), por 60 minutos.

- Anotar os resultados.

O título hemaglutinante (1 UHA) será a última diluição do vírus em que ocorrer hemaglutinação total.

Na prova de HI serão utilizadas 4 UHA.

3.2.5 – Prova de inibição da hemaglutinação (HI)

- Preparar diluições dos soros tratados com RDE nas placas adicionando 25 microlitros de PBS a partir do segundo poço.

- Adicionar 25 microlitros de cada soro aos primeiro e segundo poços e diluir a partir do segundo com o auxílio do pipetador automático de 25 microlitros. O soro tratado tem uma diluição inicial de 1:10.

- Fazer os controles de antígenos e de hemácias.

- Adicionar 25 microlitros da diluição viral contendo 4 unidades de HA em todos os poços contendo as diluições dos soros.

- Agitar as placas e incubar em temperatura ambiente (22 a 25 °C) por 30 minutos.

- Adicionar 25 microlitros de hemácia a 0,5% em todos os poços e homogeneizar.

- Incubar em temperatura ambiente (22 a 25 °C), durante 60 minutos.

- Ler e anotar os resultados.

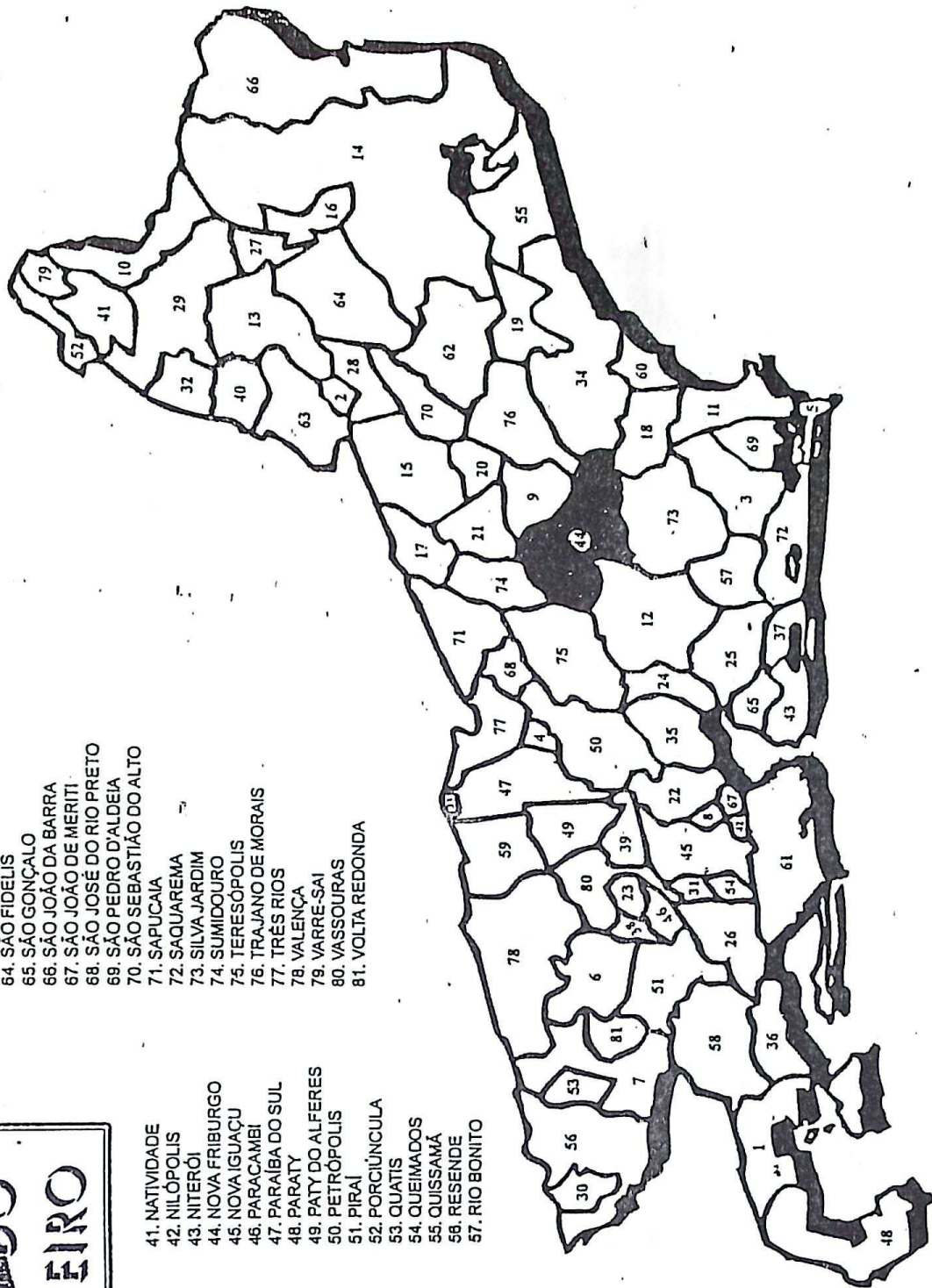
O título de HI é a última diluição do anticorpo em que houve inibição completa da hemaglutinação.

MUNICÍPIOS DO ESTADO RIO DE JANEIRO

1. ANGRA DOS REIS
2. APERIBÉ
3. ARARUAMA
4. AREAL
5. ARRAIAL DO CABO
6. BARRA DO PIRAI
7. BARRA MANSÁ
8. BELFORD ROXO
9. BOM JARDIM
10. BOM JESUS DO ITABAPOANA
11. CABO FRIO
12. CACHOEIRAS DE MACACU
13. CAMBUCI
14. CAMPOS
15. CANTAGALO
16. CARDOSO MOREIRA
17. CARMO
18. CASIMIRO DE ABREU
19. CONCEIÇÃO DE MACABU
20. CORDEIRO
21. DUAS BARRAS
22. DUQUE DE CAXIAS
23. ENGENHEIRO PAULO DE FRONTIN
24. GUAPIMIRIM
25. ITABORAÍ
26. ITAGUAÍ
27. ITALVA
28. ITAOCARA
29. ITAPERIUNA
30. ITATIAIA
31. JAPERI
32. LAJE DO MURIAÉ
33. LEVY GASPARIAN
34. MACAÉ
35. MAGÉ
36. MANGARATIBA
37. MARICÁ
38. MENDES
39. MIGUEL PEREIRA
40. MIRACEMA

41. NATIVIDADE
42. NILOPOLIS
43. NITERÓI
44. NOVA FRIBURGO
45. NOVA IGUAÇU
46. PARACAMBI
47. PARAIBA DO SUL
48. PARATY
49. PATY DO ALFERES
50. PETRÓPOLIS
51. PIRAI
52. PORCIÚNCULA
53. QUATIS
54. QUEIMADOS
55. QUISSAMÁ
56. RESENDE
57. RIO BONITO

58. RIO CLARO
59. RIO DAS FLORES
60. RIO DAS OSTRAS
61. RIO DE JANEIRO
62. SANTA MARIA MADALENA
63. SANTO ANTONIO DE PÁDUA
64. SÃO FIDELIS
65. SÃO GONÇALO
66. SÃO JOÃO DA BARRA
67. SÃO JOÃO DE MERITI
68. SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
69. SÃO PEDRO D'ALDEIA
70. SÃO SEBASTIÃO DO ALTO
71. SAPUCAIA
72. SAQUAREMA
73. SILVA JARDIM
74. SUMIDOURO
75. TERESÓPOLIS
76. TRAJANO DE MORAIS
77. TRÊS RIOS
78. VALENÇA
79. VARRE-SAI
80. VASSOURAS
81. VOLTA REDONDA



4- RESULTADOS

Do total de 100 soros testados, 21 foram positivos para a presença de anticorpos contra os vírus da *Influenza* H_1N_1 e H_3N_2 , representando 21% do material analisado (Tabela 1, Gráfico 1).

Das amostras positivas 4 soros reagiram para ambos os vírus, representando 19,05% do total de positivos, enquanto 14 demonstraram atividade apenas contra H_1N_1 e 11 somente contra H_3N_2 , o que equivale a 66,66% e 52,38% respectivamente (Tabela 2, Gráfico 2).

Na diluição 1:10, do total de 100 soros analisados verificou-se que 11 soros foram positivos (11%). Destes, 7 reagiram para H_1N_1 e 4 para H_3N_2 , representando respectivamente 33% e 19,04 do total de soros positivos.

Avaliando os resultados das diluições 1:20, constatou-se que estas também os casos positivos, que foram 7, tiveram sua maioria atribuída a reação com o vírus H_1N_1 , pois 5 soros reagiram para esse, contra 2 soros que reagiram para o vírus H_3N_2 , representando respectivamente 23,80% e 9,52% do total de soros positivos.

Nas diluições 1:40 verificou-se uma inversão com relação aos resultados das diluições anteriores, onde de 3 soros positivos, apenas 1 reagiu para H_1N_1 , enquanto 2 reagiram para H_3N_2 , representando

respectivamente 4,76% e 9,52% do total de positivos.

Por fim examinou-se os resultados obtidos nas diluições $\geq 1:80$, e constatou-se que, dos 4 casos positivos, apenas 1 reagiu para H_1N_1 , ou seja, 4,76% do total de casos positivos, enquanto 3 soros, que equivalem a 14,28%, reagiram para H_3N_2 .

Em uma relação Título x Vírus observou-se que na diluição $\geq 1:80$ apenas 1 caso foi atribuído ao vírus H_1N_1 , o que equivale a 25%(1 em 4), contra 3 casos atribuídos a H_3N_2 representando 75% dos casos positivos ocorridos nesta titulação (3 em 4) e que nos casos duplos 100% dos registros nesta diluição podem ser atribuídos a esse mesmo vírus, com 2 casos (Tabela 2).

Quando avaliou-se a diluição 1:40 observou-se que 66,66% dos casos (2 em 3) nesta faixa de título relacionam-se a H_3N_2 , contra 33,33% de H_1N_1 (1 em 3). No entanto entre os casos duplos, 100% foi atribuído ao H_1N_1 , pois somente ocorreu 1 caso nesta diluição.

Nas diluições 1:20, constatou-se que nos casos positivos desta faixa, 28,58%(2 em 7) estão relacionados ao vírus H_3N_2 enquanto 71,42%(5 em 7), relacionam-se ao vírus H_1N_1 . Nesta titulação os casos duplos são atribuídos 66,66%(2 em 3) a H_1N_1 e 33,33%(1 em 3) a H_3N_2 respectivamente.

Nas diluições 1:10 encontrou-se 36,36%(4 em 11) dos casos positivos relacionados a H_3N_2 , contra 63,63%(7 em 11) de H_1N_1 . Os casos duplos nesta faixa são de 50% para cada vírus, com 2 casos, um para H_3N_2 e outro para H_1N_1 .

TABELA 1 – Resultado da prova de inibição da hemaglutinação (HI) dos soros positivos frente aos vírus influenza H_1N_1 e H_3N_2 .

Nº do soro	TÍTULO HEMAGLUTINANTE 1/							
	H_1N_1				H_3N_2			
	10	20	40	≥80	10	20	40	≥80
2					+			
4					+			
7						+		
13					+			
36	+							
39	+							
69		+						
72							+	
74		+						+
83		+						
84	+							
92		+						
103								+
106							+	
113	+					+		
125		+			+			
126	+							
138	+							
146			+					+
153	+							
157				+				
TOTAL	7	5	1	1	4	2	2	3

TABELA 2– Resultado da prova de inibição da hemaglutinação (HI) dos soros em que houve presença de anticorpos frente aos dois vírus influenza (H₁N₁ e H₃N₂).

Soro nº	Vírus	
	H ₁ N ₁	H ₃ N ₂
74	20	≥80
113	10	20
125	20	10
146	40	≥80

GRÁFICO 1 - Resultado da prova de Inibição da Hemaglutinação (HI) dos soros de suínos do Município de Nova Friburgo frente aos vírus da Influenza H1N1 e H3N2

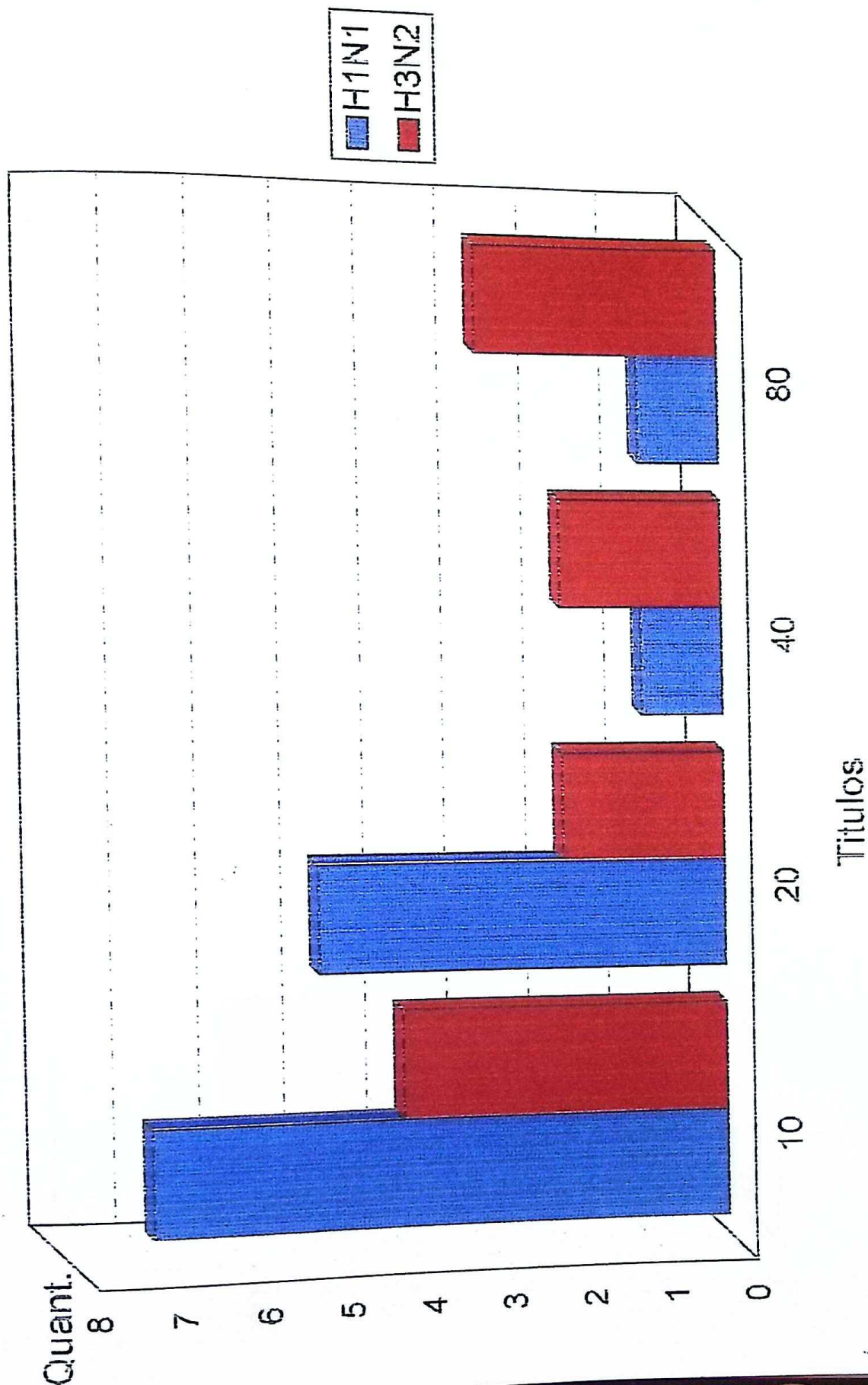


GRAFICO 2 - Resultado da prova de Inibicao da Hemaglutinacao (HI) dos soros de suinos do Municipio de Nova Friburgo em que houve presenca de anticorpos frente aos dois virus Influenza (H1N1 e H3N2)

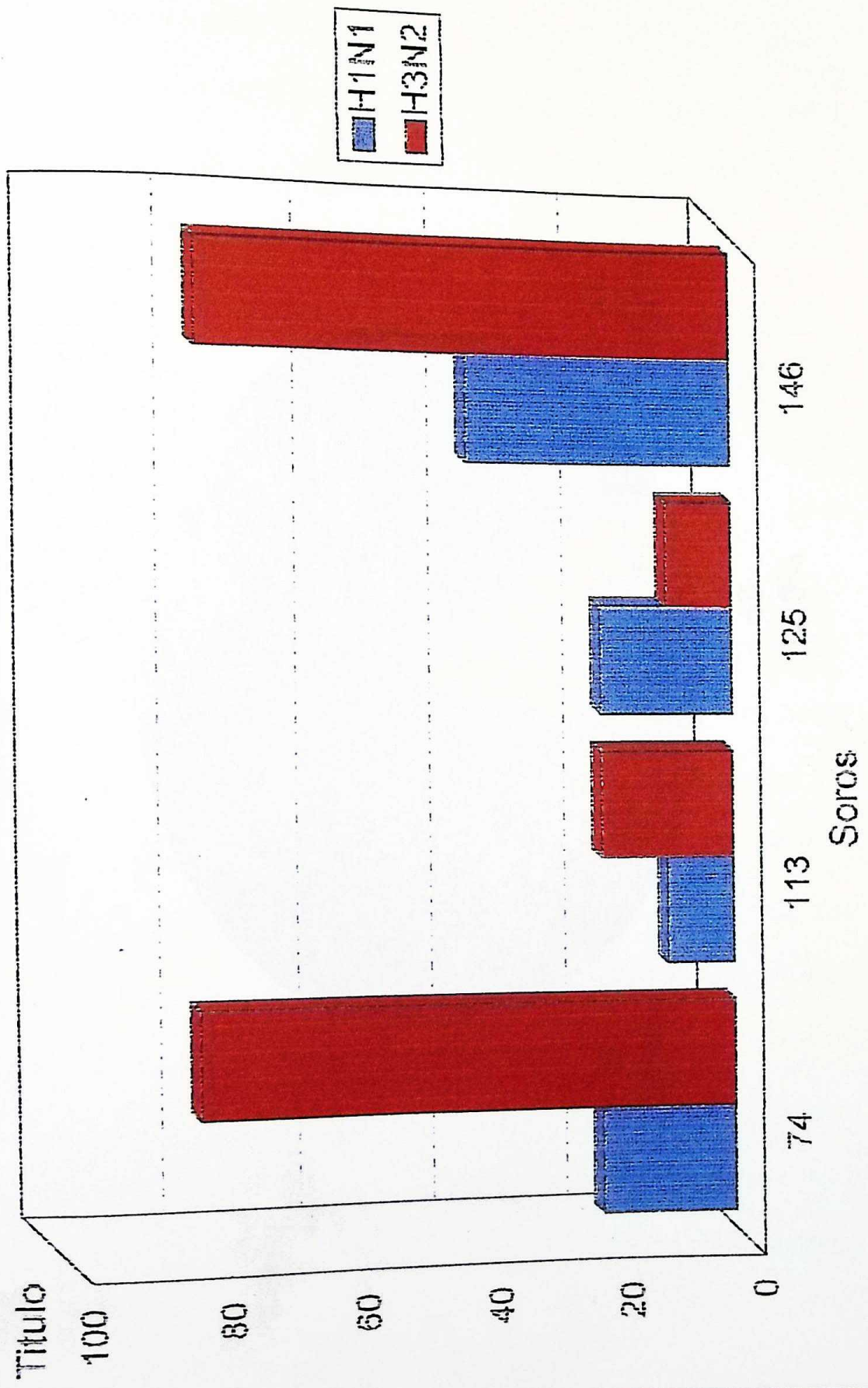
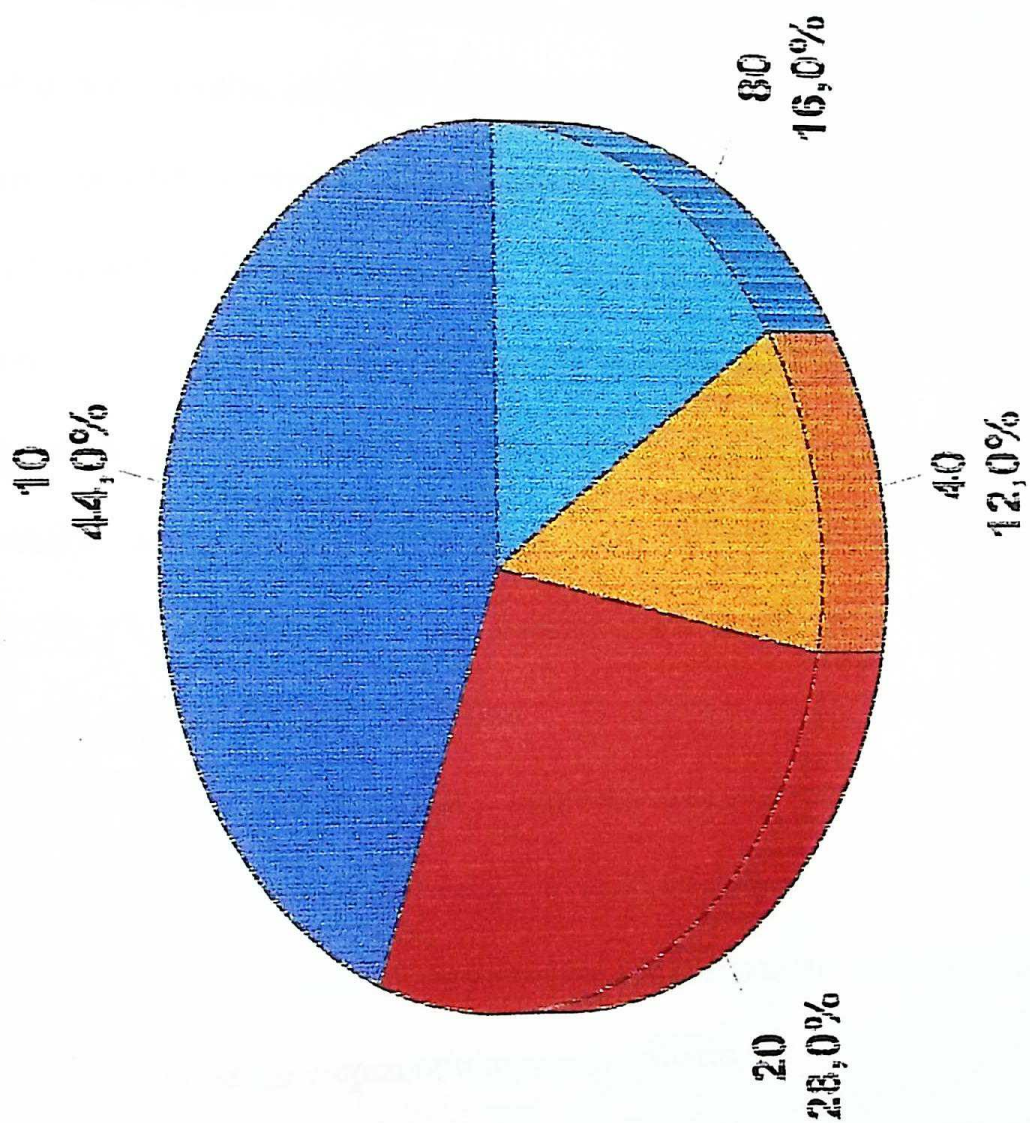


GRÁFICO 3 - Percentual de casos positivos nos vários títulos dos soros de suínos do Município de Nova Friburgo, na reação de Inibição da hemaglutinação



5 – DISCUSSÃO

No presente trabalho foi realizada uma revisão bibliográfica do vírus *Influenza* que acomete os suínos e também sua relação com espécies animais, aves, eqüídeos e com o homem.

A importância epidemiológica dos suínos, como organismo amplificador, resulta da forte interação entre as espécies. Surtos de *influenza* ocorrem como resultado desta interação entre vírus, hospedeiro e as condições ambientais, conforme Done *et* Brown (1998) quando afirmaram "suínos possuem baixa imunidade para infecção com vírus de influenza A aviário e humano, podendo funcionar como um recipiente misturador, dando origem a um novo vírus influenza A geneticamente reclassificado, oriundo de vírus coinfectante. Sendo este um grande mecanismo potencial para a origem de pandemias de influenza em humanos". Esta afirmação e com base no trabalho realizado sugere a necessidade de ser feito uma pesquisa constante na avaliação do estado sanitário do rebanho suíno em nosso estado. Mudanças em cada uma destas variantes podem afetar a epizootiologia da *influenza*.

É necessário um completo conhecimento do movimento dos vírus, onde poderemos observar desde o aparecimento de pequenos focos até o surgimento de pandemias (epidemias globais), conforme sugere Nakamura

et al. (1972) ao afirmar que "o conhecimento da história natural da influenza em seres humanos e outras espécies é importante para entendermos a transmissão e a sobrevivência do vírus entre as epidemias".

Um levantamento em soros de suínos permite que essas observações possam servir de base a um trabalho epidemiológico que poderá estabelecer normas e condutas preventivas para as populações animal e humana.

Com base nas observações, gráficos e tabelas anteriormente citadas podemos afirmar que 21% dos animais utilizados neste experimento, em dado momento de suas vidas, foram infectados por estes vírus, podendo mesmo até ter desenvolvido a doença. Os valores encontrados nas diluições 1: 10 podem significar tanto o início da formação de anticorpos como uma infecção passada com a extinção dos anticorpos protetores.

Já os valores relacionados as diluições $\geq 1:80$ podem significar uma evolução na formação de anticorpos, ou mesmo uma infecção mais recente, quando comparadas as atribuídas as diluições 1:10.

A existência de uma dupla presença de vírus nos soros testados pode sugerir que há interrelação entre as espécies, possivelmente entre o homem, o suíno e aves silvestres e/ou domésticas.

Tumová *et* Schild (1972) afirmam que "a primeira demonstração clara de existência de parentesco antigênico entre os antígenos de envelope de *influenzavirus* tipo A isolado de diferentes espécies, foi o vírus A humano (Singapura) e uma amostra de *influenzavirus* tipo A de perus (América do Norte).

Em que pesem os relatos da ocorrência do vírus em suínos, várias partes do mundo, ressurte-se o Brasil de estudos mais aprofundados sobre esta zoonose. A literatura nacional registra apenas um trabalho, realizado por Romijn (1989) em soros de suínos coletados em Concórdia, no Estado de Santa Catarina, quando demonstrou a presença de anticorpos para o vírus da influenza A H₃N₂, a exemplo de nossos achados, no município de Nova Friburgo, no Estado do Rio de Janeiro.

É necessário uma maior prospecção, com a verificação de anticorpos de humanos, que trabalham em áreas de criação de suínos e/ou aves, considerando as afirmações de Done *et al* (1998), de que ocorriam associações do vírus da influenza A com bactérias, a exemplo de *Salmonella suis* e *Hemophilus parasuis*, de Hinshaw *et al* (1978) ao observarem que os vírus H₁N₁, de alta prevalência e H₃N₂, de baixa incidência foram encontrados em humanos, revelando um relacionamento muito estreito o que originava infecções em humanos.

Estas observações caracterizam a necessidade de serem realizados trabalhos correlatos no Brasil visando estabelecer uma potencial relação no que concerne a infecção, disseminação e causas de doenças respiratórias em suínos e humanos.

6 – CONCLUSÕES

O alto índice de casos positivos na população estudada, deve-se, provavelmente a interrelação existente entre as espécies suscetíveis, no caso, acentuando-se, a tríade homem, suíno e aves. A ocorrência de soros reagentes para ambos os vírus reforça esta hipótese.

É necessário um trabalho de pesquisa visando evidenciar a situação sorológica de humanos, suínos e aves no estado do Rio de Janeiro, o que permitirá melhor avaliar as enfermidades respiratórias nestas espécies.

7 - REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N. et SZYFRIES, B. Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales. 2ª Edición - Organización Panamericana de la Salud, p. 488. 1986.
- ADA, G. L. et PERRY, B. T. The nucleic acid content of influenza virus. Austral. J. Exp. Biol. 32: 453, 1954 in SALCEDO, J. R. C. Ocorrência de influência em aves selvagens e passáros ornamentais no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. FIOCRUZ. Rio de Janeiro. 1980. 61 p.
- BARRY, R. D. et MAHY, B. W. J. The influenza virus genome and its replication. British Medical Bulletin. 35 (1): 39, 1979.
- BEVERIDGE, W. I. B. Influenza: the last great plague. An unfinished story of discovery. Heinemann, London. 1977. 27 p.
- BEVERIDGE, W. I. B.; MAHAFFEY, L. W. et ROSE, M. A. Influenza in horses. Vet. Rec., 77: 57, 1965.
- BIER, O. Bacteriologia e Imunologia. 16ª Edição. Melhoramento Editora da USP. São Paulo. pags. 678, 1975.
- BLASKOVIC, D.; JAMRICHOVÁ, O.; RÁTHOVÁ, V.; KOCISKOVÁ, D. et KAPLAN, M. M. Experimental infection of

weanling pigs with A/swine influenza. II. The shedding of virus by infected animals. Bull. W.H.O., 42: 767, 1970.

- BLOUGH, H. A.; WEINSTEIN, D. B.; LAWSON, D. E. M. *et* KODICEK, E. The effect of vitamin A on Myxoviruses. II – Alteration in the lipids of influenza virud. Virology, 33: 459, 1967 *in* SALCEDO, J. R. C. Ocorrência de influênza em aves selvagens e passáros ornamentais no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. FIOCRUZ. Rio de Janeiro. 1980. 61 p.
- BRYANS, J. T. Equine influenza *in* EASTERDAY, B. C. Swine Influenza - CRC Handbook Series in Zoonoses. Section B - Viral Zoonoses - Volume II, 1981, 225 - 231 p.
- BRYANS, J. T.; DOLL, E. R. *et* WILSON, J. C.; McCollum, W. H. Immunization for equine influenza, J. Am. Vet. Med. Assoc., 148: 413, 1966.
- BRYANS, J. T.; DOLL, E. R.; WILSON, J. C. *et* ZENT, W. W. Epizootiologic features of disease caused by Myxovirus influenza A Equine, Am. J. Vet. Res., 28: 1967.
- BUCHER, D. J. *et* KILBOURNE, E. D. A₂(N₂) neuraminidase of the X-7 influenza virus recombinant: Determination of molecular size and subunits composition of the active unit. J. of Virol., 10 (1): 60, 1972.

- CAMPBELL, C. H. *et* BUTTERFIELD, W. K. Influenza of domestic fowl *in* - EASTERDAY, B. C. Swine Influenza - CRC Handbook Series in Zoonoses. Section B - Viral Zoonoses - Volume II, 1981, 225 - 231 p.
- CAMPBELL, C. H.; WEBSTER, R. G. *et* BREESE, JR. S. S. Fowl Plague Virus from Man. The Journal of Infectious Diseases. 122: 6, 1970.
- COUCEIRO, J. N. S. S. Estudo da ocorrência de infecções por vírus influenza A e vírus da Doença de Newcastle numa comunidade de aves ornamentais em cativeiro. Tese de Doutorado. Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes. UFRJ. Rio de Janeiro. 1986. 126 p.
- COUCEIRO, J. N. S. S. ; COUCEIRO, E. S. E. *et* MACHADO, R. D.
 - Circulação simultanea de Myxovírus e Paramyxovírus numa comunidade aviária ornamental .- Rev. Microbiol. SP. 18(4): 375 - 379, 1987.
- CHOPPIN, P. W. *et* COMPANS, R. W. The structure of influenza virus. *In* SALCEDO, J. R. C. Ocorrência de influência em aves selvagens e passáros ornamentais no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. FIOCRUZ. Rio de Janeiro. 1980. 61 p.

- CAMPBELL, C. H. *et* BUTTERFIELD, W. K. Influenza of domestic fowl *in* - EASTERDAY, B. C. Swine Influenza - CRC Handbook Series in Zoonoses. Section B - Viral Zoonoses - Volume II, 1981, 225 - 231 p.
- CAMPBELL, C. H.; WEBSTER, R. G. *et* BREESE, JR. S. S. Fowl Plague Virus from Man. The Journal of Infectious Diseases. 122: 6, 1970.
- COUCEIRO, J. N. S. S. Estudo da ocorrência de infecções por vírus influenza A e vírus da Doença de Newcastle numa comunidade de aves ornamentais em cativeiro. Tese de Doutorado. Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes. UFRJ. Rio de Janeiro. 1986. 126 p.
- COUCEIRO, J. N. S. S. ; COUCEIRO, E. S. E. *et* MACHADO, R. D.
 - Circulação simultanea de Myxovírus e Paramyxovírus numa comunidade aviária ornamental .- Rev. Microbiol. SP. 18(4): 375 - 379, 1987.
- CHOPPIN, P. W. *et* COMPANS, R. W. The structure of influenza virus. *In* SALCEDO, J. R. C. Ocorrência de influência em aves selvagens e passáros ornamentais no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. FIOCRUZ. Rio de Janeiro. 1980. 61 p.

- DAVENPORT, F. M.; MINUSE, E.; HENNESSY, A. V. *et* FRANCIS, T. Interpretation of antibody patterns of man. W. H. O. Bull, 41: 453, 1969.
- DESSELBERGER, U. *et* PALESE, P. Molecular weights of RNA segments of influenza A and B viruses. Virology, 88: 394, 1978.
- DONE, S. H. *et* BROWN, I. H. Swine influenza virus infections in up date. The Pig Journal 41, 189-194, 1998.
- DONE, S. H.; HIGGINS, R. J. *et* EVANS, R. Tracheitis with mucosal gland necrosis associated with *S. suis* type 14 and swine influenza H₁N₁ (195852) virus infections. The Pig Journal 41, 121-126, 1998.
- DORSET, M.; McBRYDE, C. N. *et* NILES., W. B. Remarks on "hog flu". J. Am. Vet. Assoc., 62: 162, 1922.
- DOWDLE, W.; NOBLE, G. *et* KENDAL, A. Orthomyxovirus influenza: Comparative diagnosis unifying concept. *In* Comparative diagnosis of viral disease. Vol. 1 – Human and related viruses. Part A. Eds. E. Kurstak *et* C. Kurstak. Academic Press, New York. P. 447-501., 1977.
- EASTERDAY, B. C. Swine Influenza - CRC Handbook Series in Zoonoses. Section B - Viral Zoonoses - Volume II, 1981, 225 - 231p.

- DAVENPORT, F. M.; MINUSE, E.; HENNESSY, A. V. *et* FRANCIS, T. Interpretation of antibody patterns of man. W. H. O. Bull, 41: 453, 1969.
- DESSELBERGER, U. *et* PALESE, P. Molecular weights of RNA segments of influenza A and B viruses. Virology, 88: 394, 1978.
- DONE, S. H. *et* BROWN, I. H. Swine influenza virus infections in up date. The Pig Journal 41, 189-194, 1998.
- DONE, S. H.; HIGGINS, R. J. *et* EVANS, R. Tracheitis with mucosal gland necrosis associated with *S. suis* type 14 and swine influenza H₁N₁ (195852) virus infections. The Pig Journal 41, 121-126, 1998.
- DORSET, M.; McBRYDE, C. N. *et* NILES., W. B. Remarks on "hog flu". J. Am. Vet. Assoc., 62: 162, 1922.
- DOWDLE, W.; NOBLE, G. *et* KENDAL, A. Orthomyxovirus influenza: Comparative diagnosis unifying concept. *In* Comparative diagnosis of viral disease. Vol. 1 – Human and related viruses. Part A. Eds. E. Kurstak *et* C. Kurstak. Academic Press, New York. P. 447-501., 1977.
- EASTERDAY, B. C. Swine Influenza - CRC Handbook Series in Zoonoses. Section B - Viral Zoonoses - Volume II, 1981, 225 - 231p.

- DAVENPORT, F. M.; MINUSE, E.; HENNESSY, A. V. *et* FRANCIS, T. Interpretation of antibody patterns of man. W. H. O. Bull, 41: 453, 1969.
- DESSELBERGER, U. *et* PALESE, P. Molecular weights of RNA segments of influenza A and B viruses. Virology, 88: 394, 1978.
- DONE, S. H. *et* BROWN, I. H. Swine influenza virus infections in up date. The Pig Journal 41, 189-194, 1998.
- DONE, S. H.; HIGGINS, R. J. *et* EVANS, R. Tracheitis with mucosal gland necrosis associated with *S. suis* type 14 and swine influenza H₁N₁ (195852) virus infections. The Pig Journal 41, 121-126, 1998.
- DORSET, M.; McBRYDE, C. N. *et* NILES., W. B. Remarks on "hog flu". J. Am. Vet. Assoc., 62: 162, 1922.
- DOWDLE, W.; NOBLE, G. *et* KENDAL, A. Orthomyxovirus influenza: Comparative diagnosis unifying concept. *In* Comparative diagnosis of viral disease. Vol. 1 – Human and related viruses. Part A. Eds. E. Kurstak *et* C. Kurstak. Academic Press, New York. P. 447-501., 1977.
- EASTERDAY, B. C. Swine Influenza - CRC Handbook Series in Zoonoses. Section B - Viral Zoonoses - Volume II, 1981, 225 - 231p.

- **EASTERDAY, B. C.; LAVER, W. G.; PEREIRA, H. G. et SCHILD, G. C.** Antigenic composition of recombinant virus strain produced from human and avian influenza A viruses. *J. Gen. Virol.*, **5**: 83, 1969.
- **EASTERDAY, B. C.; MURPHY, B. R. et MCGREGOR, S.** Infections and vaccination of pigs with influenza A/New Jersey /8/76 (HSW1N1) virus, *J. Infect. Dis., Suppl.* **136**: S699, 1977.
- **HAY, A. J. et SKEHEL, J. J.** Influenza virus transcription. *British Medical Bulletin*, **35** (1): 47, 1979.
- **HELLER, LEO; ESPMARK, AKE et VIRIDEN, PER:** Immunological Relationship Between the Infectious Cough in Horses and Human Influenza A. *Arch. Ges. Virus Forsch.*, **7**, (1957): 120-124 in **BRYANS, J. T.; DOLL, E. R.; WILSON, J. C. et ZENT, W. W.** Epizootiologic features of disease caused by Myxovirus influenza A Equine, *Am. J. Vet. Res.*, **28**: 1967.
- **HINSHAW, V.S.; BEAN, W.J., Jr.; WEBSTER, R. G., et EASTERDAY, B.C.** The prevalence of influenza viruses in swine and the antigenic and genetic relatedness of influenza viruses from man and swine, *Virology*, **84**: 51, 1978.

- HOMME, P. J. *et* EASTERDAY, B. C. Avian influenza infections I – Characteristics of influenza A/Turkey/Winsconsin/1966 virus. Avian Disease, **14**: 66, 1970.
- HOYLE, L. The multiplication of influenza viruses in the fertile egg. J. Hyg. **48**: 227, 1950.
- HOYLE, L. The influenza viruses. Virology Monographs, 4. Springer-Verlag, New York, pgs. 243-254, 1968
- HOYLE, L.; JOLLES, B. *et* MITCHELL, R. G. The incorporation of radioactive phosphorus in the influenza virus, and its distribution in serologically active virus fractions. J. Hyg. **52**: 119, 1954.
- INGLIS, S. C.; CARROLL, A. R.; LAMB, R. A. *et* MAHY, B. W. J. Polypeptides specified by the influenza virus genome. I – Evidence for eight distinct gene products specified by fowl plague virus. Virology, **74**: 489, 1976.
- JAWETZ, E.; MELNICK, J.L. *et* ADELBERG, E. A. Microbiologia Médica. 15ª Edição. Editora Guanabara- Koogan, 1982
- JOHNSON, D. C. *et* MAXFIELD, B. G. An occurrence of avian influenza virus infection in laying chickens, Avian Dis., **20**: 422, 1976.

- JORDAN, F. T. W. *et* PATTISON, M. Poultry Diseases, 4 th edition, W. B. Saunders Company Ltda. p. 156-165, 1996.
- JUNGHERR, E. L.; TYZZER, E. E.; BRANDLY C. A. *et* MOSES, H. E. The comparative pathology of fowl plague and Newcastle disease, Am. J. Vet. Res. 7: 250, 1946.
- KAPLAN, M. The role of the World Health Organization in the Study of Influenza *in* LOPEZ , J. W. Epidemiology of swine influenza virus in cattle. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy. University of Illinois at Urbana-Champaign, USA. 1985. 123 p.
- KAPLAN, M. *et* BEVERIDGE, W. I. B. Introduction: W.H.O. coordinated research on the role of animals in influenza epidemiology, Bull. W.H.O. 47: 439, 1972.
- KAPLAN, M. M. *et* PAYNE, A. M. Serological Survey in animals for type A influenza in relation to the 1957 pandemic, Bull. WHO. 20: 465, 1959.
- KILBOURNE, E. D.; LIEF, F. S.; SCHULMAN, I. L.; JAHIEL, R. I. *et* LAVER, W. G. Antigenic hybrids of influenza virus and their implications. Perspectives Virol., 5: 87, 1967. *in* SALCEDO, J. R. C. Ocorrência de influênza em aves selvagens e passáros ornamentais no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. FIOCRUZ.

Rio de Janeiro. 1980. 61 p.

- LANG, G.; NARAYAN, O. *et* ROUSE, B. T. Prevention of malignant avian influenza by 1 - adamantanamine hydrochloride, Arch. Gesamte Virusforsch.. 32: 171, 1970.
- LANG. G.; NARAYAN, O.; ROUSE, B. T.; FERGUSON, A. E.; *et* CONNELL, M. C., A new influenza A virus infection in turkeys. II. A highly pathogenic variant, A/turkey/Ontario/7732/66, Can. Vet. J. 9: 151, 1968.
- LANG. G.; ROUSE, B. T.; NARAYAN, O.; FERGUSON, A. E. *et* CONNELL, M. C. A new influenza virus infection in turkeys. I. Isolation and Characterization of virus 6213, Can. Vet. J., 9: 22, 1968.
- LAZDINS, I.; HASLAM, E. A. *et* WHITE, D. O. The polypeptide of influenza virus. VI - Composition of neuraminidase. Virology, 49:758, 1972.
- LENNETTE, E. H.; SCHMIDT, N. J. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections. Influenza viruses, p. 585 - 609, 1979.
- LENNETTE, E. H.; LENNETTE, D, A.; *et* LENNETTE, E. T. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial

Infections, Ed, American Public Health Association, Washington, 1995, VII Ed..

- **LOPEZ , J. W.** Epidemiology of swine influenza virus in cattle. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy. University of Illinois at Urbana-Champaign, USA. 1985. 123 p.
- **MOSES, H. E.; BRANDLY, C. A. et JONES, E. E.** The pH stability of viruses of Newcastle disease and fowl plague, Science. 105; 477, 1947.
- **MURRAY, P. R.; DREW, W. L.; KOBAYASHI, G. S. et THOMPSON, J. H.** Microbiologia Médica. 1ª Edição. Editora Guanabara Koogan. 1992.
- **NAKAMURA, R. M.; EASTERDAY, B. C.; PAWLICH, R. et WALKER, G. L.** Swine influenza: epizootiological and serological studies, Bull WHO. 47: 481-487, 1972.
- **NAKAMURA, R. M.; EASTERDAY, B. C.** Serological studies of influenza in animals. Bull. Wld. Hlth. Org. 37: 559, 1967.
- **NARAYAN, O.; LANG. G. et ROUSE, B.T.** A new influenza A vírus infection in turkeys. IV. Pathology of the Experimental Disease by strain turkey/Ontario/7732/1966. Arch. Gesamte Vírusforsch., 36: 166, 1969.

Infections, Ed, American Public Health Association, Washington, 1995, VII Ed..

- LOPEZ , J. W. Epidemiology of swine influenza virus in cattle. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy. University of Illinois at Urbana-Champaign, USA. 1985. 123 p.
- MOSES, H. E.; BRANDLY, C. A. *et* JONES, E. E. The pH stability of viruses of Newcastle disease and fowl plague, Science. 105; 477, 1947.
- MURRAY, P. R.; DREW, W. L.; KOBAYASHI, G. S. *et* THOMPSON, J. H. Microbiologia Médica. 1ª Edição. Editora Guanabara Koogan. 1992.
- NAKAMURA, R. M.; EASTERDAY, B. C.; PAWLICH, R. *et* WALKER, G. L. Swine influenza: epizootiological and serological studies, Bull WHO. 47: 481-487, 1972.
- NAKAMURA, R. M.; EASTERDAY, B. C. Serological studies of influenza in animals. Bull. Wld. Hlth. Org. 37: 559, 1967.
- NARAYAN, O.; LANG. G. *et* ROUSE, B.T. A new influenza A vírus infection in turkeys. IV. Pathology of the Experimental Disease by strain turkey/Ontario/7732/1966. Arch. Gesamte Vírusforsch., 36: 166, 1969.

Infections, Ed, American Public Health Association, Washington, 1995, VII Ed..

- **LOPEZ , J. W.** Epidemiology of swine influenza virus in cattle. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy. University of Illinois at Urbana-Champaign, USA. 1985. 123 p.
- **MOSES, H. E.; BRANDLY, C. A. et JONES, E. E.** The pH stability of viruses of Newcastle disease and fowl plague, Science. 105; 477, 1947.
- **MURRAY, P. R.; DREW, W. L.; KOBAYASHI, G. S. et THOMPSON, J. H.** Microbiologia Médica. 1ª Edição. Editora Guanabara Koogan. 1992.
- **NAKAMURA, R. M.; EASTERDAY, B. C.; PAWLICH, R. et WALKER, G. L.** Swine influenza: epizootiological and serological studies, Bull WHO. 47: 481-487, 1972.
- **NAKAMURA, R. M.; EASTERDAY, B. C.** Serological studies of influenza in animals. Bull. Wld. Hlth. Org. 37: 559, 1967.
- **NARAYAN, O.; LANG. G. et ROUSE, B.T.** A new influenza A vírus infection in turkeys. IV. Pathology of the Experimental Disease by strain turkey/Ontario/7732/1966. Arch. Gesamte Vírusforsch., 36: 166, 1969.

- PELCZAR, M.; REID, R. *et* CHAN, E. C. S. Microbiologia Volume 01 e 02, Ed. Makron Books do Brasil Ltda,
- PEREIRA, H. G. Influenza antigenic spectrum. Progr. Med. Virol., 11: 46, 1969. Karger & Basel Ed.
- PEREIRA, H. G.; TAKIMOTO, S.; PIEGAS, N. S. *et* RIBEIRO-DO VALLE, L. A. Antigenic variation of equine (Heq2 Neq2) influenza vírus, Bull. WHO. 47: 465, 1972.
- PONS, M. W. The inhibition of influenza virus RNA synthesis by Actinomycin D and cyclohexamide. Virology, 51: 120, 1972.
- ROMIJN, P. C. Studies on porcine influenza viruses. Thesis Doctor of Philosophy in Veterinary Microbiology. University of Surrey, UK, 1989. 352 pg.
- ROSENBERGER, J. K.; KRAUSS, W. C. *et* SLEMONS, R. D. Isolation of Neweastle disease and type-A influenza víruses from migratory waterfowl in the atlantic flyway. Avian Dis. 18: 610, 1974.
- ROTT, R. *et* SCHOLTISSEK, C. Specific inhibition of influenza replication by Amantin. Nature, 228: 56, 1970.
- SALCEDO, J. R. C. Ocorrência de influência em aves selvagens e passáros ornamentais no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. FIOCRUZ. Rio de Janeiro. 1980. 61 p.

- **SCHILD, G. C.** Evidence for a new type-specific structural antigens of the influenza virus particle. *J. Gen. Virol.*, **15**: 99, 1972.
- **SCHULMAN, J. L. et KILBOURNE, E. D.** Independence variation in nature of hemagglutinin and neuraminidase antigens of influenza virus. Distintiviness of hemagglutinin antigens of Hong Kong/68 virus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **63**: 326, 1969.
- **SCHULZE, I. T.** The biologically active proteins of influenza virus: The hemagglutinin. *In KILBOURNE, E. D.* The influenza viruses and influenza. Academic Press, Inc. New York. 1975, pgs. 53-82.
- **SALCEDO, J. R. C.** Ocorrência de influêenza em aves selvagens e passáros ornamentais no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. FIOCRUZ. Rio de Janeiro. 1980. 61 p.
- **SCHOLTISSEK, C. et ROTT, R.** Synthesis "*in vivo*" of influenzavirus and minus strand RNA and its preferential inhibition by antibiotics. *Virology*, **40**: 989, 1970.
- **SHOPE, R.** Swine influenza. I. Experimental transmission and pathology. *J. Exp. Med.* **54**: 349, 1931a.
- **SHOPE, R.** Swine influenza. III. Filtration, Experiments and Etiology. *J. Exp. Med.* **54**: 373, 1931b.

- SHOPE, R. E. Swine influenza, in Diseases of Swine, 2nd ed., Iowa State Press, Ames, 1964.
- SKEHEL, J. J. *et* SCHILD, G. C. The polypeptide composition of influenza A viruses. *Virology*, 44: 396, 1971
- SLEMONS, R. D.; JOHNSON, D. C.; OSBORN, J. S. *et* HAYES, F. Type-A influenza viruses isolated from wild free-flying ducks in California, *Avian Dis.* 18: 119, 1974.
- SMITH, W.; MANCH, M. D.; ANDREWES, C. *et* LAIDLAW, P. P.; LOND, M. D. A virus obtained from influenza patients. *Lancet*, p. 66-68, 1933.
- SUGIURA, A. *et* KILBOURNE, E. Genetic studies of influenza viruses. III – Production of plague-type recombinants with A₀ and A₁ strains. *Virology*, 29: 84, 1966.
- TAYLOR, A. R.; SHARP, D. G.; BEARD, D.; BEARD, J. W.; DINGLE, J. H.; FELLER, A. E. Isolation and characterization of influenza A virus (Pr₈ strain). *J. Immunology*, 47 (3): 261, 1943.
- TUMOVA, B. *et* PEREIRA, H. G. Genetic interaction between influenza A viruses of human and animal origin. *Virology*, 27: 253, 1965.

- TUMOVA, B. *et* SCHILD, G. C. Antigenic relationships between type A influenza viruses of human, porcine, equine, and avian origin, Bull. W.H.O. 47: 453, 1972.
- WADDEL, G.; TEIGLAND, M. *et* SIGEL, M. A new influenza virus associated with equine respiratory disease, J. Am. Vet. Med. Assoc. 143: 587, 1963.
- WATANABE, Y.; KUDO, H *et* GRAHAN, A. I. Selective inhibition of reovirus ribonucleic acid synthesis by cyclohexamide. J. Virology, 1(1): 36, 1967 in SALCEDO, J. R. C. Ocorrência de influência em aves selvagens e passáros ornamentais no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. FIOCRUZ. Rio de Janeiro. 1980. 61 p.
- WATERFIELD, M. D.; ESPELIER, K. *et* ELDER, K. Structure of the hemagglutinin of influenza virus. British Bulletin, 35 (1): 57, 1979.
- WEBSTER, R. G. Estimation of the molecular weights of the polypeptide chains from the isolated hemagglutinin and neuraminidase subunits of influenza viruses. Virology, 40: 643, 1970
- WEBSTER, R. G. *et* CAMPBELL, C. H. The In vivo production of "new" influenza A viruses. II. In vivo isolation of "new" viruses, Virology. 48: 528, 1972.

TESE

**Influenza Virus em Suínos uma
Abordagem Epidemiológica**

Waldyr Pessanha Junior

1998

N.Cham 636 40896 P475i T

Autor: Pessanha Junior, Wa

Título: Influenza vírus em suínos: uma a



000024817

Ac. 11864

UFRRJ - BG

Nº Pat. 614/01