

DETECÇÃO DO VÍRUS INFLUENZA PANDÊMICO A/H1N1 EM SUÍNOS NO BRASIL

Schaefer, R.; Zanella, J.R.C.; Ritterbusch, G.A.; Brentano, L.; Silveira, S.; Schiochet, M.; Mores, N.; Caron, L.; Gava, D.

Embrapa Suínos e Aves, BR153, Km 110, Vila Tamanduá, Concórdia, SC.

E-mail: rejane@cnpsa.embrapa.br

PALAVRAS-CHAVE: suínos, vírus influenza, vírus pandêmico A/H1N1, Brasil

INTRODUÇÃO

O vírus Influenza é um dos agentes infecciosos envolvidos em surtos de doença respiratória aguda em suínos, agindo como agente primário de lesões no aparelho respiratório e também como responsável pelo agravamento de quadros respiratórios pela co-infecção com outros agentes virais e bacterianos. A infecção causada pelo vírus Influenza A é endêmica em suínos no mundo inteiro. Com o início da pandemia de influenza em humanos em março-abril de 2009 a possibilidade de infecção de suínos a partir do vírus presente em humanos causou preocupação aos produtores de suínos no mundo inteiro. Vários estudos experimentais demonstraram a susceptibilidade de suínos ao vírus influenza pandêmico A/H1N1/2009 (pH1N1), ocasionando uma rápida e eficiente disseminação do vírus entre os suínos (7). Conseqüentemente, cerca de dois anos após o surgimento do vírus influenza A/H1N1 em humanos, 19 países notificaram à OIE (Organização Mundial de Sanidade Animal) a presença do pH1N1 em rebanhos suínos. No Brasil, até recentemente, a infecção por influenza em suínos não era considerada um problema. No entanto, estudos sorológicos realizados previamente indicaram a presença de anticorpos contra o vírus influenza H1N1 clássico e H3N2 em rebanhos suínos em 10 estados brasileiros (1, 2). No início de 2010, um surto de doença respiratória aguda, altamente transmissível, em suínos em crescimento e em fêmeas adultas indicou uma possível circulação de um novo vírus influenza em suínos. O presente trabalho descreve um surto de doença respiratória aguda em suínos de uma granja experimental mantida pela Embrapa Suínos e Aves causado pelo vírus pandêmico H1N1.

MATERIAL E MÉTODOS

Em final de janeiro de 2010 foi detectado um surto de doença respiratória aguda em uma granja da Embrapa Suínos e Aves com uma população de 175 fêmeas reprodutoras e 754 leitões. Aproximadamente 29% dos suínos foram afetados (5 fêmeas e 213 leitões) apresentando sinais clínicos de febre, tosse e perda de apetite, os quais duraram cerca de 10 dias. Não foram observados sinais clínicos em leitões da maternidade e não houve mortalidade. Foram coletados suabes nasais de doze animais e tecido pulmonar de três leitões eutanasiados. O isolamento viral foi realizado em ovos embrionados de galinhas SPF (*Specific Pathogen Free*) e em células da linhagem de rim de cão (MDCK). Os tecidos pulmonares foram processados para exame histopatológico e para a análise por imuno-histoquímica (IHC). A detecção viral foi feita por IHC, teste de imunocitoquímica (ICC), RT-PCR e sequenciamento de DNA. A região codificante do gene da hemaglutinina (HA) do vírus influenza foi amplificada por RT-PCR utilizando primers específicos para o gene HA do vírus pH1N1 (OMS, CDC, Atlanta). Primers para o gene da matriz (M) do vírus influenza foram desenhados por Chan et al. (3). As reações de sequenciamento empregaram a química Big Dye Terminator e os produtos foram executados em um sequenciador de DNA da Applied Biosystems 3130xl. A seqüência consenso dos segmentos gênicos obtidos foi gerada utilizando o software v2.5 SeqScape (Applied Biosystems). A análise BLAST (NCBI) foi realizada para identificar seqüências de nucleotídeos similares disponíveis no Genbank.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras testadas foram positivas para o vírus influenza A por RT-PCR. Uma amostra de vírus influenza foi isolada em células, confirmado por ICC utilizando como anticorpo primário um anticorpo monoclonal (HB-65) produzido contra a nucleoproteína do vírus influenza (6) e pela amplificação do gene M por RT-PCR (5). As lesões microscópicas foram caracterizadas como bronquiólite necrozante obliterativa ou pneumonia broncointersticial. A IHC utilizando o anticorpo monoclonal HB-65 revelou coloração positiva no núcleo das células

epiteliais bronquiolares. A sequência consenso completa do gene HA (1769 pb) e a sequência parcial do gene M (897 pb) foi construída utilizando o software Sequence Scape. As sequências de nucleotídeos obtidas foram analisadas utilizando a ferramenta de alinhamento de sequências Blast (*Basic Local Alignment Search Tool*). A análise dos genes HA e M da amostra brasileira estudada indicou 99% de similaridade de nucleotídeos com o vírus de influenza A/H1N1/2009 encontrado em humanos (Tabela 1).

Este estudo descreve o primeiro isolamento do vírus influenza pandêmico A/H1N1/2009 em suínos no Brasil. Muito embora estudos sorológicos prévios tenham indicado a circulação do vírus influenza em suínos do Brasil, pouco é conhecido sobre a composição genética de isolados do vírus influenza. No Brasil, os rebanhos de suínos não são vacinados contra o vírus influenza, nem há monitoramento de suínos para este agente. Relatos prévios indicam que o vírus pH1N1 não havia sido isolado de suínos antes do seu aparecimento em humanos. Recentemente, Forgie et al. (4) a partir da investigação detalhada de um surto de influenza pH1N1 em humanos e em suínos em Alberta, Canada, comprovaram a transmissão humano-suíno do vírus influenza pH1N1. O presente trabalho, a partir do isolamento do vírus influenza de um surto de doença respiratória aguda, aliado a caracterização do vírus encontrado por sequenciamento do DNA demonstrou a infecção de suínos com o vírus pandêmico A (H1N1), o qual têm circulado em humanos.

CONCLUSÕES

A importância dos vírus influenza como agentes primários ou secundários nas infecções respiratórias em suínos no Brasil ainda está para ser definido. Os resultados deste estudo reforçam a necessidade de implementação de uma fiscalização mais profunda, ativa e passiva, de vírus influenza na população nacional de suínos no Brasil, a fim de implementar métodos adequados para o controle das infecções respiratórias em suínos causadas pelos vírus influenza e, também, levando em conta as implicações que as infecções pelo vírus influenza possuem para a saúde humana.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi desenvolvido com recursos do CNPq (578102/2008-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) Brentano et al. **Comunicado Técnico** 306. Embrapa Suínos e Aves. 2002. (2) Caron et al. **Virus Rev. Res.** v.15, p.63-73, 2010. (3) Chan et al. **J. Virol. Methods.** v.136, p.38-43, 2006. (4) Forgie et al. **Clin. Infect. Diseases.** v.52, p.10-18, 2011. (5) Fouchier et al. **J. Clin. Microbiol.** v.38, p.4096-4101, 2000. (6) Kitikoon et al. **Vet. Immunol. Immunopathol.** v.112, p.117-128, 2006. (7) Lange et al. **J. Gen. Virol.** v.90, p.2119-2123, 2009.

Tabela 1. Análise do isolado brasileiro do vírus influenza A/ H1N1 utilizando o Blast-NCBI.

Gene	Ident. (%)	E- value	Designação do vírus	Acesso GenBankNo.
HA	99	0.0	(A/Guandg/55/2009/H1N1)	HQ011423
M	99	0.0	(A/Kenya/0026/2009 H1N1)	HQ214452