



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**ROSANA LÉO DE SANTANA**

**ISOLAMENTO E AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE AMOSTRAS  
DO VÍRUS ECTIMA CONTAGIOSO EM CULTIVO DE CÉLULAS DE  
CÓRNEA FETAL CAPRINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de  
Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Soares de Castro  
Co-orientadora: Dra. Michele M. M. de Oliveira

RECIFE, PE

- 2008 -

Ficha catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

S232i Santana, Rosana Léo de  
**Isolamento e avaliação do comportamento de amostras do vírus ectima contagioso em cultivo de células de córnea fetal caprina /**  
Rosana Léo de Santana . -- 2008.  
57 f. : il.

Orientador : Roberto Soares de Castro  
Dissertação ( Mestrado em Ciência Veterinária) --  
Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departa –  
mento de Medicina Veterinária, 2008.  
Inclui bibliografia

CDD 636.390 896 92

1. ORF
  2. *Parapoxvirus*
  3. Cultivo celular
- I. Castro, Roberto Soares de
  - II. Título



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**ISOLAMENTO E AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE AMOSTRAS DO VÍRUS  
ECTIMA CONTAGIOSO EM CULTIVO DE CÉLULAS DE CórNEA FETAL  
CAPRINA**

Dissertação de Mestrado elaborada por

**ROSANA LÉO DE SANTANA**

Aprovada pela

**BANCA EXAMINADORA**

---

Professor Dr. Roberto Soares de Castro (Orientador)

---

Professora Dr<sup>a</sup> Andrea Alice da Fonseca Oliveira

UFRPE

---

Dr<sup>a</sup>. Michele Moreira Martins de Oliveira

UFRPE

---

Professor Dr. Lúcio Esmeraldo H. de Melo

UFRPE

Recife, 28 de fevereiro de 2008

*Dedicatória*

---

---

---

**A Deus**

**Aos meus tios Manoel Antonio da  
Silva Neto (*In memorian*), Lenira Beltrão  
Neto (*In Memoriam*) e Alzira Beltrão de  
Andrade (*In Memoriam*).**

*Agradecimientos*

---

---

---

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua infinita misericórdia, fidelidade, amor e por sua verdadeira presença em minha vida, que tem me tornado cada vez mais dependente do seu Amor.

Obrigada, aos meus familiares pelo incentivo e apoio, por sempre acreditar em mim dando força para concluir este trabalho, especialmente pelo carinho das minhas filhas Pamella Raysa Léo de Santana e Paula Raysa Léo de Santana.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Roberto Soares de Castro, pelo apoio, ensinamentos e dedicação, contribuindo para que esse momento especial de minha vida se realizasse e por sua verdadeira amizade.

A minha co-orientadora, Dr<sup>a</sup> Michele Moreira de Oliveira, pela sua paciência, dedicação e amizade, contribuindo para o êxito deste trabalho.

Aos meus queridos amigos do laboratório, Ana Cláudia Campos, Sérgio Nascimento, Inês, Camila Braga Ferreira e Salomé G. Simões que me ajudaram na execução deste projeto.



## SUMÁRIO

	Pág.
DEDICATÓRIA.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	vi
SUMÁRIO.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
<b>RESUMO</b> .....	xii
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	20
3.1 Etiopatogenia.....	21
3.2 Aspectos clínicos-epidemiológicos e imunológicos .....	25
3.3 Diagnóstico e prognóstico.....	28
3.4 Diagnóstico diferencial.....	29
3.5 Tratamento e controle.....	29
3.6 Imunoterapia.....	30
4. Referências bibliográficas.....	32
 <b>CAPÍTULO 1</b>	
 <b>ISOLAMENTO E AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE AMOSTRAS DO VÍRUS ECTIMA CONTAGIOSO EM CULTIVO DE CELULAS DE Córnea fetal caprina</b>	
1. Introdução.....	43
- Material e Métodos.....	46
- Origem das amostras.....	46
- Isolamento e passagens em monocamadas celular.....	47
- Resultados e Discussão.....	49
- Conclusões.....	52
- Referências Bibliográficas.....	53
 <b>3. CONCLUSÕES FINAIS</b> .....	 56

*Lista de Abreviaturas*

---

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

- CAEV- Vírus da artrite encefalite caprina
- CFC – Células epiteliais de córnea fetal caprina
- DNA – Ácido desoxirribonucléico
- EC – Ectima contagioso
- ECP - Efeito Citopático
- ECV – Vírus do ectima contagioso
- ELISA - Ensaio imunoenzimático
- EPB – Estomatite papular bovina
- IDGA- Imuno Difusão em Gel de Ágar
- Kpb – Quilo pares de base
- MDBK – Madin and Darby Bovine Kidney
- MEM - Meio Essencial Mínimo
- PBS - *Phosphate Buffet Saline*
- PCR - Reação em Cadeia de Polimerase
- PI - Pós-inoculação
- SFB – Soro fetal bovino
- SRD- Sem raça definida



## RESUMO

Ectima contagioso (EC) é uma virose aguda e proliferativa de ovinos e caprinos, causada pelo vírus do ectima contagioso (ECV), do gênero Parapoxvirus. O controle da infecção em regiões endêmicas é realizado através de vacinação, porém existem limitações nas técnicas de produção de vacinas, que é a dificuldade de replicação do vírus em cultivo celular. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de isolar e avaliar o comportamento das amostras de ECV em cultivo primário de células de córnea fetal caprina (CFC), sistema de cultivo ainda não testado para replicação de ECV. Amostras de crostas de nove ovinos e de dois caprinos que apresentavam sintomatologia clínica de EC, originários dos Estados da Bahia, Sergipe e Paraíba, foram inoculadas em monocamadas de células epiteliais de córnea de feto caprino, durante sete passagens consecutivas, a intervalos semanais. Observou-se em todas passagens, a partir de 24 horas pós infecção, efeito citopático (ECP) caracterizado pelo arredondamento celular, fusão com formação de pequenos sincícios, vacuolização e corpúsculos de inclusão citoplasmático, com intensidade de 25% a 100% de desprendimento da camada celular, que variou de acordo com a amostra. Conclui-se que as culturas de células primárias de córnea fetal caprina mostraram-se altamente permissíveis à replicação do ECV e que as amostras de ECV isoladas mostraram-se adaptadas ao cultivo utilizado, com pequena variação entre as amostras.

Termos para indexação: orf, parapoxvirus, cultivo celular



## Evaluation of the Behavior of Samples from the Ectima Contagious Virus in Cultures of Caprine Cornea Cells

Summary: Contagious ectima is a severe and proliferative virus among ovine and caprine caused by the contagious ectima virus (ECV) of the Parapoxvirus genus. The control of the infection in endemic regions is done with vaccines, however there are limitations in the vaccine production due to the difficulties in replicating the virus in cell cultures. The purpose of this paper is to evaluate the behavior of ECV samples in primary cultures of fetal caprine cornea cells, a system of cultures yet untested for the replication of ECV. Crust samples from nine sheep and two goats from the states of Bahia, Sergipe and Paraiba and presenting the clinical symptoms of EC were inoculated in monolayers of the cells, during seven consecutive passages at weekly intervals. During all the occasions we observed, after 24 hours of infection, the cytopathic effect (CE) characterized by cell rounding, fusion with the formation of small syncytia, cytoplasmic inclusion and vacuolation. The intensity of detachment from the cell layers ranged from 25% to 100% which varied according to the sample. We concluded that the primary cell cultures of the fetal caprine cornea appeared highly permissible to replication of ECV and the isolated samples of ECV appeared to adapt to the utilized culture with slight variation among samples.

Keywords: orf, Parapoxvirus, cell culture



## INTRODUÇÃO

A caprino-ovinocultura é uma atividade econômica explorada em todos os continentes. No entanto, somente em alguns países essa atividade apresenta expressão econômica, sendo, na maioria dos casos, desenvolvida de forma empírica e extensiva, com baixa produtividade e rentabilidade reduzida (NOGUIRA FILHO e ALVES, 2002).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2005) o rebanho caprino e ovino mundial é de aproximadamente 1,75 bilhões de cabeças, estando cerca de 96% em países em desenvolvimento e apenas 4% em países desenvolvidos. O Brasil detém apenas 1,7% do plantel de ovinos e 2,1% do rebanho caprino mundial, estando na região Nordeste concentrados em maior número os rebanhos caprino (92,40%) e ovino (58,55%) (IBGE, 2006). Nessa região a maioria dos rebanhos, caprino e ovino, vem sendo explorada em sistemas extensivos, relacionados à subsistência, com manejo alimentar e higiênico-sanitário inadequados, que propiciam o aparecimento de muitas enfermidades como, por exemplo, o ectima contagioso (BANDEIRA, 2005; ALENCAR, 2008).

O ectima contagioso (EC), também conhecido como dermatite pustular cutânea, dermatite labial infecciosa, boqueira, scabby mouth, soresmouth ou ORF, foi descrita pela primeira vez em ovinos por Steeb, em 1787, e em caprinos em 1879 (BARRAVIEIRA, 2005). É causado por um vírus da família *Poxviridae*, gênero *Parapoxivirus*, caracterizado pelo tropismo por células epiteliais e pela alta resistência às condições ambientais, geralmente adversas para a maioria dos vírus, como o ressecamento. (PASTORET e BROCHIER, 1990). A penetração do vírus se dá por meio de lesões cutâneas, e o primeiro sinal clínico observado em animais acometidos pelo vírus é o aumento da espessura da pele na área de invasão do vírus, com formação posterior de pápulas, vesículas, pústulas e crostas. Lesões características são observadas na face, principalmente nos lábios, porém em casos mais severos podem ser vistos no úbere, tetas, membros, orelhas, mucosas, cauda e coroa do casco. O período de incubação em ovinos e caprinos é de 2 a 3 dias. Cursando a enfermidade em 3 a 4 semanas, com desaparecimento das crostas e regeneração do tecido epitelial (ROBINSON e BALASSU, 1981; BUTTNER e RZIHA, 2002).

Ectima contagioso é considerado uma enfermidade benigna, entretanto, pode tornar-se grave, quando ocorre envolvimento de outros órgãos, além da pele, causando grandes perdas ao rebanho. A morbidade em animais jovens ou de rebanhos indenes pode ser alta, chegando a 100%, mas a mortalidade geralmente é baixa, porém em certos casos, pode ser elevada, geralmente em animais jovens, devido a infecções secundárias e manejo deficiente associados à infecção por cepas de alta virulência (ROBINSON e BALASSU, 1981; BUTTNER e RZIHA, 2002).

No Brasil o EC foi descrito pela primeira vez em São Paulo (GUIMARÃES, 1939) e posteriormente em Pernambuco (TORRES, 1943) onde foi considerado um dos principais problemas sanitários da exploração caprina, e no Rio Grande do Sul (GUERREIRO, 1954). Nos anos 80, amostras do ECV foram isoladas de ovinos no Ceará (ARITA et al., 1986), e, na última década, de caprinos em Minas Gerais, Rio de Janeiro (MAZUR e MACHADO, 1990) e Pernambuco (OLIVEIRA et al., 1998). Surto de doença epidérmica sugerindo a infecção por EC têm sido observados em muitos rebanhos de ovinos e caprinos em diferentes áreas geográficas do Brasil (MAZUR et al., 2000), merecendo atenção a Região Nordeste, onde a maioria dos rebanhos vem sendo explorada em sistemas extensivo ou semi-extensivo, relacionados à subsistência, com manejo alimentar e higiênico-sanitário inadequados, que propiciam o aparecimento de muitas enfermidades como o EC, considerado uma das doenças mais frequentes (BANDEIRA, 2005; ALENCAR, 2008).

Apesar do desenvolvimento da ovino-caprinocultura brasileira, do caráter endêmico da enfermidade e da sua importância, poucos trabalhos de pesquisa têm sido realizados com relação ao vírus EC, que possam subsidiar o controle da enfermidade, que se fundamenta, principalmente, na vacinação dos animais em áreas endêmicas (TORRES, 1943; ROBINSON e BALASSU, 1981; KILELU, 1992; PINTO JÚNIOR, 2007). Como não existem vacinas inativadas contra EC que sejam eficientes, a vacinação deve ser feita com vírus vivo. Por isto, só é recomendada em criações endêmicas, pois o uso da vacina implica na introdução do vírus no rebanho (PINTO JÚNIOR, 2007).

Dentre os entraves tecnológicos para a produção de vacinas, destaca-se a dificuldade de replicação do vírus em cultivo celular. Estudos *in vitro* utilizando amostras de ECV têm sido realizados utilizando-se células de cultivo primário de testículo caprino (MAZUR e MACHADO,

1990, HOSAMANI et al., 2007), de rim caprino (OLIVEIRA et al., 1998) e queratinócitos de tecido do prepúcio de cordeiros (SCAGLIARINI et al., 2005), bem como células de linhagem contínua MDBK (OLIVEIRA et al., 1998) e Vero (VIKOREN et al., 2008). Nesses estudos tem sido relatada a dificuldade de replicação do vírus, pois nenhum dos modelos aplicados mostrou-se permissível à replicação contínua de ECV. A ausência de cultivo celular permissível à replicação continuada de EC tem levado a comercialização no Brasil de vacina obtida a partir de suspensão de crostas de animais infectados<sup>1</sup>, que apresenta sério risco de disseminação de outras doenças, principalmente virais, já que não é inativada (PINTO JÚNIOR, 2007).

## **2 Objetivo**

Isolar e avaliar o comportamento de amostras de ECV em um novo sistema - cultivo celular primário de córnea fetal caprina.

<sup>1</sup>-Vacina Leivas Leite registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, sob o nº 0260/75).

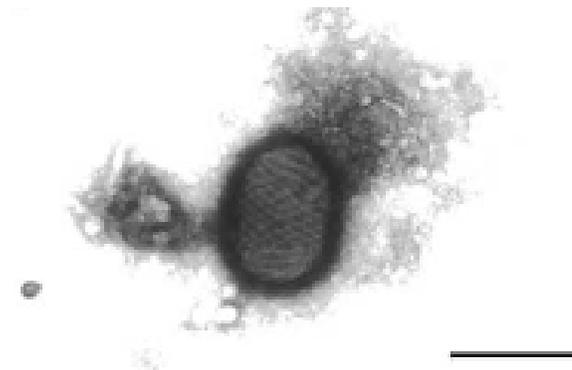


### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Etiopatogenia

Os vírus classificados na família *Poxviridae* são os maiores e mais complexos vírus conhecidos. Possuem genoma constituído por uma fita dupla de DNA, e replicam-se no citoplasma de células de hospedeiros vertebrados e invertebrados. Os membros desta família de vírus são classificados em duas subfamílias, *Chordopoxvirinae* e *Entomopoxvirinae*, em função da sua capacidade de replicação em células de hospedeiros vertebrados e invertebrados. Os poxvírus da subfamília *Chordopoxvirinae* se encontram classificados em oito gêneros: *Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus*, *Capripoxvirus*, *Suipoxvirus*, *Leporipoxvirus*, *Avipoxvirus*, *Yatapoxvirus* e *Molluscipoxvirus* (Tabela 1), genética e antigenicamente relacionados, apresentando morfologia similar e restrição de hospedeiros (MOSS, 2001). Cada gênero, exceto o *Molluscipoxvirus*, inclui espécies que causam doenças em animais domésticos e de laboratório. Existem poxvírus que até o momento não foram formalmente classificados. De fato, novos poxvírus estão sendo descobertos constantemente, incluindo vírus isolados de lagartos, rãs, cervos, cangurus, entre outros (MURPHY et al., 1999).

No gênero *Parapoxvirus* o vírus de ectima contagioso ou *ORF vírus*, é um dos principais representantes deste gênero. O ECV é envelopado apresentando-se com morfologia ovóide e diâmetro entre 140-170 x 200-300 nm (PASTORET e BROCHIER, 1990) (Figura 1).



**Figura 1** – Micrografia eletrônica de uma partícula de *ORF vírus* com tamanho de 100nm, mostrando sua morfologia ovóide característica (CHAN et al., 2007).

**Quadro 1** – Aspectos taxonômicos, hospedeiros e distribuição geográfica dos oito gêneros da família *Poxviridae*, subfamília *Chordopoxvirinae* (Adaptado de Fernandes, 2004)

<b>Gênero</b>	<b>Espécie, abreviação e nomes alternativos</b>	<b>Hospedeiros</b>	<b>Distribuição geográfica</b>	
<b><i>Orthopoxvirus</i></b>	<i>Camelopox virus</i> (CMPV)	Camelos Roedores, felinos, bovinos, animais de zoológico e humanos	África e Ásia  Europa e Ásia Occidental	
	<i>Cowpox virus</i> (CPXV)			
	<i>Ectromelia írus</i> (ECTV) <i>Mousepox vírus</i>	Camundongos	Europa	
	<i>Monkeypox virus</i> (MPXV)	Roedores, primatas, humanos	África Central e Occidental	
	<i>Raccoonpox virus</i> (RCNV) <i>Skunkpox virus</i> (SKPV) <i>Taterapox virus</i>	Guaxinins Gambás Gerbils	Leste dos EUA Oeste dos EUA África Occidental	
	<i>Uasin Gishu disease virus</i> (UGDV)	Equínos	África Central	
	<i>Buffalopox virus</i> (BPVX) <i>Rabbitpox virus</i> (RPXV)	Búfalos, bovinos, humanos Coelhos Humanos,	Índia EUA e Holanda	
	<i>Vaccinia virus</i> (VACV)	coelhos, bovinos, búfalos, suínos	Mundial	
	<i>Cantagalo virus</i> (CTGV)	Bovinos, humanos	Brasil	
	<i>Varíola vírus</i> (VARV)	Humanos	Mundial (erradicada)	
	<i>Volepox virus</i> (VPXV)	Ratos silvestres	Oeste dos EUA	
	<b><i>Parapoxvirus</i></b>	<i>Bovine papulas stomatitis</i> <i>vírus</i> (BPSV) <i>Orf virus</i> (ORF), <i>Contagious pustular</i> <i>dermatitis virus</i> , <i>Contagious</i> <i>ecthyma vírus</i>	Bovinos, humanos  Ovinos, caprinos, bovinos, cervos, humanos	Mundial  Mundial
		<i>Pseudocowpox virus</i> (PCPV), <i>Milker´s nodule virus</i> , <i>Paravaccinia vírus</i> <i>Sealpox virus</i>	Bovinos, humanos	Mundial
		<i>Auzduk disease virus</i> , <i>Camel</i> <i>contagious ecthyma virus</i>	Focas, humanos  Camelos	Mundial  África e Ásia

**Quadro 1 cont.**– Aspectos taxonômicos, hospedeiros e distribuição geográfica dos oito gêneros da família *Poxviridae*, subfamília *Chordopoxvirinae* (Adaptado de Fernandes, 2004)

<b>Gênero</b>	<b>Espécie, abreviação e nomes alternativos</b>	<b>Hospedeiros</b>	<b>Distribuição geográfica</b>
<i>Capripoxvirus</i>	<i>Sheeppox virus</i> (SPPV)	Ovinos	África e Ásia
	<i>Goatpox virus</i> (GTPV)	Caprinos	África e Ásia
	<i>Lumpy skin disease virus</i> (LSDV)	Bovinos	África
<i>Suipoxvirus</i>	<i>Swinepox virus</i> (SWPV)	Suínos	Mundial
<i>Avipoxvirus</i>	<i>Fowlpox virus</i> (FWPV)	Aves, humanos	Mundial
<i>Leporipoxvirus</i>	<i>Myxoma virus</i> (MYXV)	Leporinos	América do Sul
	<i>Hare fibroma virus</i> (FIBV)	Lebres	Europa
	<i> Shope fibroma virus</i> (SFV),	Coelhos	EUA e Holanda
	<i>Rabbit fibroma virus</i>		
<i>Yatapoxvirus</i>	<i>Tanapox virus</i> (TANV)	Roedores, humanos	África Central e Oriental
	<i>Yaba monkey tumor virus</i> (YMTV)	Primatas, humanos	África Ocidental
<i>Molluscipoxvirus</i>	<i>Molluscum contagious virus</i> (MOCV)	Humanos	Mundial

O ECV apresenta tropismo por células epiteliais sendo, normalmente, adquirido através de abrasões nas porções deslanadas na pele (ROBINSON e BALASSU, 1981; GREIG, 1984). Seu mapeamento genético revelou que os genes mais prováveis de induzir virulência e imunidade estão concentrados na região terminal (BARRAVIEIRA, 2005). É geneticamente relacionado ao parapoxvírus causador da Estomatite Papular Bovina e do Nódulo dos Ordenhadores em bovinos e humanos, respectivamente (DELHON et al., 2004), é imunologicamente distinto do vírus da vaccínia, e semelhante ao agente causador da pseudovariola, e antigenicamente semelhante ao vírus da varíola caprina (ROBINSON e MERCER, 1988). A cepa que apresenta um maior número de informações de sua biologia molecular é a NZ2, uma cepa isolada na Nova Zelândia. Estudos de biologia molecular concluíram que ocorre predominância de guanina e citosina no DNA viral, cerca de 63%, e que o seu genoma apresenta um tamanho que varia de 139 a 160 quilo pares de base (kpb), sendo estreitamente relacionado ao genoma de outros poxvírus.

A organização genética dos *orf vírus* exibe um padrão geral dos poxvírus, incluindo uma região central, que contém essencialmente genes conservados em posição, espaço e orientação. A região terminal, é a região variável e codifica os genes dispensáveis para o crescimento *in vitro*, geralmente, os fatores que influenciam a virulência, a patogênese e a mudança de hospedeiro dos poxvírus são codificados nesta região (BUTTNER e RZIHA, 2002).

O ECV apresenta distribuição mundial sendo capaz de sobreviver por meses ou anos nos pastos e em apriscos (HAIG et al, 1997). O ECV é relativamente termo-estável, sendo completamente inativado a 60°C por trinta minutos (ROBINSON e BALASSU, 1981), a 37°C por 7 dias e pela radiação ultra-violeta (LOSOS, 1986). O congelamento não reduz o título viral, entretanto, temperaturas entre 0,5 e 36°C, por uma semana, reduzem sua infectividade (ROBINSON e BALASSU, 1981).

Muitos estudos do vírus EC *in vitro* são realizados em diversos tipos de cultivo celular, como, por exemplo, cultivo primário de testículo caprino (MAZUR et al., 1990, HOSAMANI et al., 2007), células de linhagem MDBK e cultivo celular primário de rim caprino (OLIVEIRA et al., 1998), cultivo celular primário do tecido de prepúcio de cordeiros (SCAGLIARINI et al., 2005), e células Vero (VIKOREN et al., 2008). O efeito citopático (ECP) é de grande valor diagnóstico e pode ser evidenciado a partir de 2h pós-inoculação (p.i.), consistindo na formação de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos, resultado da replicação viral. Existem dois tipos de corpúsculos de inclusão, os quais foram distinguidos como inclusões dos tipo-A e do tipo-B. As inclusões do tipo-A são geralmente esféricas e coradas fortemente pela eosina, sendo característica de células infectadas por ECV. As inclusões do tipo-B apresentam forma irregular, sendo coradas fracamente pela maioria dos corantes, são produzidas por todos os poxvírus e constituem o viroplasma (local de replicação viral) (ESPOSITO e FENNER, 2001).

A lesão da pele é essencial para o estabelecimento da infecção pelo ECV e para o desenvolvimento de lesões típicas (ROBINSON e BALASSU, 1981). Após o desafio viral da pele com abrasões moderadas, o vírus não se estabelece na epiderme lesada, replicando-se nas células da camada epidérmica basal derivada das paredes dos folículos pilosos.

As lesões envolvem todos os estágios de mácula, pápula, vesícula, pústula, formação de crosta e cura. As pústulas desenvolvem-se em poucos dias e rompem-se, resultando em úlceras, e, subsequentemente, a formação de crosta espessa, que é eliminada em três a quatro semanas, não deixando cicatriz (McKEEVER et al., 1988).

Ao se realizar exame imunohistoquímico, de lesões primárias induzidas experimentalmente em ovinos, utilizando anticorpos monoclonais específicos para o núcleo viral e proteínas do envelope, Haig et al. (1997) demonstraram a presença de antígenos virais entre o terceiro e o vigésimo quinto dia pós-infecção. O antígeno viral, que é o indicador da replicação viral, foi localizado em áreas de hiperproliferação de células epidérmicas, com maior intensidade em células degeneradas, indicando um efeito citopático *in vivo*. A infecção primária estabelecida foi associada com marcante proliferação epidermal e a análise do acúmulo de células imunes e inflamatórias revelou um fluxo precoce de neutrófilos nas primeiras 48 horas seguido por um acúmulo de células T CD4<sup>+</sup>, T CD8<sup>+</sup>, células B e células dendríticas, com picos entre 9 e 15 dias pós-infecção, e retorno aos níveis de pré-infecção ao redor dos 30 dias pós-infecção.

As primeiras lesões são frequentemente proliferativas e severas, com uma progressão clínica de máculas eritematosas, pápulas, vesículas, pústulas e crostas (BARRAVIEIRA, 2005). Os locais mais comuns de infecção são ao redor da boca e narinas (HAIG et al., 1997). Lesões características são frequentemente observadas na face, porém em casos mais severos, outras partes do corpo podem apresentar lesões como: úbere, tetas, membros, orelhas, mucosas, cauda e coroa do casco (BOUGHTON e HARDY, 1932; COATES e HOFF, 1990; HOUSAWI e ABU ELZEIN, 1991). As lesões de re-infecção progridem pelos mesmos estágios clínicos, mas geralmente não são proliferativas, são menores e se resolvem mais rapidamente, usualmente em duas a três semanas, o que é indicativo do envolvimento de uma resposta imune específica no controle da replicação viral.

### **3.2 Aspectos clínico-epidemiológicos e imunológicos**

Os sinais clínicos iniciais de ectima contagioso incluem pápulas, vesículas e pústulas cutâneas, sendo o período de incubação, de três a oito dias ou aproximadamente uma semana (BARRAVIEIRA, 2005). Formam-se rapidamente crostas amarronzadas a pretas, espessas, mais evidentes nas comissuras labiais. As lesões podem se espalhar para a cavidade oral, focinho, orelhas, pálpebras, tetos e patas. Pode ocorrer mastite em decorrência do comprometimento do sistema de defesa do úbere. Tipicamente as lesões se curam em 14 a 21 dias, porém podem persistir em animais imunodeprimidos. Cordeiros lactentes podem disseminar a infecção ao úbere de ovelhas suscetíveis. Em cordeiros, as lesões orais podem ser graves o suficiente para causar

anorexia, perda de peso, desidratação e desnutrição, levando a importantes perdas econômicas (ZAMRI-SAAD, KARIM, AJEELI, 1992). As lesões que atingem a banda coronária podem provocar claudicação, ao passo que as lesões do úbere podem resultar em mastite. Raramente há o comprometimento dos sistemas respiratório e gastrointestinal. Nesses casos podem ocorrer pneumonia e diarreia. É comum a instalação de infecção bacteriana secundária (PUGH, 2005), ou por fungos, como por exemplo, o *Fusobacterium necrophorum*, que pode ocorrer em alguns casos (RADOSTITS et al., 2002).

As lesões orais envolvem a língua, gengivas, coxim dentário ou uma combinação desses locais, em alguns casos extensas lesões dolorosas e proliferativas ocorrem nas margens gengivais dos dentes incisivos e no interior da boca (RADOSTITS et al., 2002).

Em ovinos pode ser observada uma forma maligna da doença, que se inicia com um episódio agudo, manifestado por vesículas bucais e extensão dessas lesões para o trato gastrointestinal, seguidas por lesões granulomatosas e desprendimento dos cascos. Nos carneiros as lesões do escroto podem ser acompanhadas por acúmulo de líquido no saco escrotal. Nos casos benignos, as crostas secam e caem, e a recuperação fica completa em cerca de três semanas (RADOSTITS et al., 2002).

A infecção experimental de um caprino, com um mês de idade e sem raça definida (SRD), sem histórico de EC, foi realizada por Oliveira et al. (1998) para a observação da evolução das lesões macroscópicas da enfermidade, e foi observado que 48 horas após a inoculação (p.i.), o animal desenvolveu lesões difusas na área da inoculação, como edema, múltiplos pontos arredondados, salientes e avermelhados, além do espessamento da pele. As lesões progrediram dando origem à vesículas no quarto dia pós-inoculação, que apresentavam, na superfície, pontos esbranquiçados. As pústulas foram observadas no quinto dia p.i., aumentaram de tamanho e romperam-se entre o nono e o 11º dia p.i., dando origem a exsudação serosa e emaciação da região. No 16º dia p.i., o início da formação das crostas foi observado simultaneamente com o surgimento de novas pústulas. No 23º dia p.i., lesões pustulares e crostas foram observadas na comissura labial. No 35º dia p.i., constatou-se a regressão das lesões na região de inoculação e regeneração do tecido epitelial.

O EC ocorre em caprinos e ovinos, estando mundialmente distribuído, em qualquer região onde se criem essas espécies animais, determinando queda na produção e perda econômica. Ocorre comumente em animais com três a seis meses de idade, embora animais com 10 a 12 dias

de idade e adultos possam ser gravemente acometidos (RADOSTITS et al., 2002). Pode incidentalmente infectar humanos, bovinos e ruminantes selvagens e, raramente os cães (ESPOSITO e FENNER, 2001). Sua incidência é observada com maior frequência nos meses de verão (MAZUR, 1989; NIFI, 1991).

Os surtos podem ocorrer em caprinos e ovinos, com taxas de morbidade que se aproximam de 100% e de mortalidade de 5 a 15% (HOUSAWI et al., 1991). As mortes quando ocorrem são devido à extensão das lesões no trato respiratório, podendo o índice chegar aos 15% se os animais acometidos não receberem as medidas de manejo higiênico-sanitárias adequadas, ou se ocorrerem infecções secundárias e miíases cutâneas. Nos raros casos, em que ocorre invasão sistêmica do vírus, a taxa de mortalidade varia de 25% a 75%. As lesões primárias em animais ou humanos causam maior morbidade do que as lesões adquiridas pela reinfecção (ESPOSITO e FENNER, 2001). Os animais recuperados permanecem com imunidade sólida por dois a três anos, porém os anticorpos passivos não protegem as crias, pois os animais recém-nascidos de mães imunes são susceptíveis ao ECV (ROBINSON e BALASSU, 1981).

A disseminação em um rebanho é muito rápida e ocorre pelo contato com outros animais acometidos ou por objetos inanimados, como aplicadores de brincos e emasculadores, resultando em lesões nas caudas (RADOSTITS et al., 2002), ou por exposição a cochos contaminados (MURPHY et al., 1999). Admite-se que a infecção natural e experimental, pelo ECV se dá pela invasão do vírus através da pele lesionada, escarificada por plantas e/ou espinhos, embora Nettleton et al. (1996) tenham relatado um surto em cordeiros recolhidos de diversas fazendas e transportados em um veículo por um período superior a 23 horas, sem que fossem observadas lesões na boca dos animais.

O vírus é eliminado pelos exsudatos das pústulas e vesículas e pelas crostas já secas. O vírus pode permanecer virulento nos pastos e estábulos durante anos, devido a sua capacidade de conservação nas crostas, especialmente durante o período seco (RADOSTITS et al., 2002).

Os ovinos são susceptíveis à reinfecção e a infecções crônicas. Estas características somadas à resistência viral, explicam como o ECV, uma vez introduzido em um rebanho, torna-se difícil de ser erradicado (MURPHY et al., 1999). A persistência do vírus nos rebanhos é própria e em grande parte, está relacionada a infecciosidade persistente de virions em crostas de feridas que caem sobre a pastagem e o solo (FENNER et al., 1988).

Os ovinos e caprinos desenvolvem uma resposta imune celular, graças às células T CD4<sup>+</sup> *helper* e humoral, com formação de anticorpos anti-ECV específicos, após a infecção (HAIG et al., 1996a, 1996b; LLOYD et al., 2000), porém esta imunidade é curta e a re-infecção pode ocorrer, com sinais clínicos discretos e que desapareceram rapidamente (HAIG e MERCER, 1998). Segundo Haig et al. (1997), o que deve ser esperado após a infecção é uma resposta inflamatória e imune anti-viral, que começa pela ativação celular mediante a liberação de citocinas, como por exemplo citocinas mRNA.

A resposta imune a re-infecção foi estudada em alguns animais por Haig et al. (1996b), visando estabelecer a dinâmica local *in vivo* das células envolvidas no processo, anticorpos e citocinas, a partir da drenagem linfática aferente e eferente de nódulos linfáticos, localizados próximos das lesões da pele, onde foi observado que a linfa aferente de ovinos adultos contém células T CD4<sup>+</sup>, T CD8<sup>+</sup>, células B e 5 a 15% de células apresentadoras de antígeno. Já a linfa eferente contém mais de 98% de linfócitos, a maioria dos quais são células T CD4<sup>+</sup> e células B, as células T CD8<sup>+</sup> participam com aproximadamente 10 a 20%, dos quais mais de 90% são derivados do sangue, os 10% restantes de linfócitos eferentes são derivados da linfa aferente (HAIG et al., 1997). Segundo Bujdoso et al. (1989) o primeiro pico da resposta imune, em casos de re-infecção, seria contra um antígeno de memória do ECV, e o segundo, em resposta a replicação viral na pele, que ocorre entre três e nove dias pós-infecção.

### 3.3 Diagnóstico e Prognóstico

O diagnóstico de EC é baseado na história do paciente e nos sinais clínicos que o mesmo apresenta, sendo confirmado pelos exames laboratoriais (RADOSTITS et al., 2002). A identificação de uma infecção ativa é realizado através da detecção de virions característicos no material da lesão, utilizando a microscopia eletrônica, onde as partículas virais características de parapoxvírus se apresentam em forma de amora (SHATZMAYR et al., 2006). Pode ser realizado ainda, o isolamento viral em cultivo celular, imunofluorescência direta e a reação em cadeia da polimerase (PCR). Os testes sorológicos empregados são: imunodifusão em gel de agar (IDGA), soroneutralização, fixação de complemento, inibição da hemaglutinação, imunofluorescência indireta e ensaios imunoenzimáticos (ELISA e *western blotting*) (FERNANDES, 2004).

O prognóstico geralmente é favorável, a doença é benigna e espontaneamente curável, entretanto, há casos graves em que o prognóstico é reservado (RADOSTITS, 2002).

Na maior parte dos surtos de EC, os casos são moderados e não denotam preocupação real, entretanto, casos graves podem também ser confundidos com a língua azul, a dermatose ulcerativa, dermatite micótica, eczema facial, dermatite proliferativa ou com a varíola ovina (BHANUPRAKASH et al., 2006), sendo necessária à realização do diagnóstico diferencial.

### **3.4 Diagnóstico diferencial**

Nos casos de língua azul ocorre elevada taxa de mortalidade, reação sistêmica grave, e as lesões ocorrem no focinho, na coroa dos cascos e de forma extensa na mucosa bucal, sendo mais frequente nos adultos do que nos cordeiros lactentes. Como é transmitida por vetores (insetos hematófagos), a taxa de morbidade é menor do que a observada nos casos de EC. A dermatite micótica geralmente ocorre na pele lanosa; o eczema facial é distinguido do EC pela presença de dermatite difusa bem como edema grave e lesão das orelhas. As lesões da dermatite proliferativa, também conhecida como podridão do pé em formato de morango, ocorrem apenas nas partes inferiores dos membros; já nos casos de varíola ovina, embora o quadro clínico se apresente bastante semelhante aos causados pelo ECV, as crostas formadas são típicas, duras, ocorrendo comprometimento sistêmico, acompanhado de alta taxa de mortalidade (RADOSTITS et al., 2002).

### **3.5 Tratamento e controle**

O tratamento é paliativo, pois não há drogas específicas (SCAGLIARINI, 2006), a excisão das crostas pode acelerar o processo de resolução (SHELLEY e SHELLEY, 1983). Nos casos de lesões muito graves deve ser realizada a administração oral de fluídos e nutrientes. A aplicação de substâncias adstringentes pode acelerar a recuperação, e nos casos em que houver complicação secundária, recomenda-se tratamento com antibiótico de amplo espectro (PUGH, 2005).

Diante de um surto deve-se implementar medidas de controle imediatas, com isolamento dos animais enfermos. Entretanto, essas medidas, isoladamente, podem não ser efetivas na

prevenção do EC por causa do curto período de incubação e a capacidade de sobrevivência do vírus no ambiente (PUGH, 2005). A vacinação é recomendada apenas em regiões endêmicas, nos animais susceptíveis (BERRIER, 2001).

Por ser uma zoonose altamente contagiosa, é fundamental, que pessoas que trabalhem com animais infectados adotem medidas higiênicas durante o manejo dos animais (PUGH, 2005).

### **3.6 Imunoterapia**

A vacinação contra EC utiliza microorganismos completamente virulentos (Tabela 2), sendo que esta vacina não previne a doença, diminuindo a gravidade e a duração da mesma, estando indicada na imunização ativa de ovinos e caprinos, para prevenir ou minimizar a gravidade de um surto (PINTO JÚNIOR, 2007).

Há disponibilidade de vacinas comerciais que requerem a aplicação na superfície do epitélio escarificado, da axila, virilha, região interna da coxa (exceto em ovelhas lactantes), porção ventral da cauda ou da orelha, e devem ser utilizadas de acordo com a recomendação do fabricante, pois a dose adequada é fundamental para otimizar a imunização. As vacinas são preparações de vírus vivo, provenientes diretamente de crostas virulentas ou, de vírus replicado em cultura celular (NETTLETON et al., 1996). Após a vacinação, ocorre uma reação local em cerca de 1 a 3 dias, sendo necessárias duas a três semanas para se obter uma resposta imunológica adequada (LUGINBUHL e ANDERSON, 1914). A imunidade se instala ao longo de três semanas e pode persistir por até dois anos. Essas vacinas não são recomendadas para rebanhos livres da doença porque o vírus vacinal permanece viável no ambiente por longo período (BERRIER, 2001).

Em rebanhos onde a doença se manifesta de forma endêmica, a vacinação de animais com dois ou três dias de idade pode minimizar a gravidade do surto, que em cordeiros podem está associados à realização da caudectomia (PUGH, 2005)

**Quadro 2** – Esquema de vacinação para o ectima contagioso em caprinos e ovinos

<b>Categoria animal</b>	<b>Condições</b>	<b>Esquema de vacinação</b>	<b>Período</b>
Cordeiros e Cabritos; Matrizes (terço final da gestação)	Rebanhos onde já surgiu a doença; ou naqueles em que ocorreu introdução de novos animais; ou quando do envio de animais a exposição	Autovacina, dose única repetindo-se nas matrizes na próxima parição	Semestralmente

**Fonte:** PINTO JÚNIOR (2007) adaptado de Silva et al. (2001).

A vacinação das matrizes deve ser realizada no terço final da gestação, embora não ocorra uma boa transferência de anticorpos pela placenta, e as mães vacinadas transmitam imunidade a suas crias via colostro. Por ser a imunidade passiva de curta duração, é necessário vacinar os cordeiros e cabritos nos primeiros dias de vida (LUGINBUHL e ANDERSON, 1914).

#### ***4 Referências Bibliográficas***

---

---

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, S.P. **Aspectos sócio-econômicos e sanitários dos rebanhos caprinos e ovinos no Sertão de Pernambuco**. 2008. 121f. Tese ( Doutorado em Ciência Veterinária) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

ARITA, G.M.M.; CAPELLARO, C.E.M.P.M.; DEAK, J. G. et al .Isolamento e identificação de poxvirus causando doença em ovinos no Estado do Ceará. **Biológico**, São Paulo, v.52, n.1/3, p.23-26, jan./nov. 1986.

BANDEIRA, D. A. **Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do Estado da Paraíba**. 2005. 117f Tese ( Doutorado em Ciência Veterinária ) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

BARRAVIEIRA, S. R. C. S. Diseases caused by poxvirus – ORF and milker’s nodules – a review. **Journal of Venomous Animal and Toxins Including Tropical Diseases**. V. 11, n. 2, p.102 – 108, 2005.

BERRIER , R. J. Contagious ecthyma. **Veterinarian’s Corner**. V. 1, n. 5, 2001.

BHANUPRAKASH, V., INDRANI, B. K., HOSAMANI, M. e SINGH, R. K. The currente status of sheep pox disease, **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v. 29, p. 27 – 60, 2006.

BOUGHTON, I. B.; HARDY, W. T. Immunization of sheeps and goats against soremouth (Contagious Ecthyma). **Texas Agricultural Experiment Station**, College Station, n. 457, p.5-16, 1932.

BUJDOSO, R.; HOPKINS, J.; DUTIA, B.M.; YOUNG, P.; McCONNEL, I. Characterization of sheep afferente lymph dendritic cells and their role in antigen carriage. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 170, p. 1285-1302, 1989.

BÜTTNER. M.; RZIHA. H, J. Parapoxviruses : From the lesion to the viral genome. **J. . Vet Med.** B 49, 7-16, 2002.

CHAN K. WEI, LIN J. WEI, LEE S. HWAE, LIAO C. JUNG, TSAI M. CHUN, HSU W. LI, WONG M. LIANG AND SHIN H. CHANG. Identification and phylogenetic analisis of orf virus from goats in Taiwan. **Journal Virus Genes.** V. 35, nº 3. December, 2007.

COATES, J. W.; HOFF, S. Contagious ecthyma: an unusual distribution of lesions in goats. **Canadian Veterinary Journal**, Canadá, v.1,p.209 – 210, Mar. 1990.

DELHON, G., TULMAN, E.R., AFONSO, C.L. LU, Z., DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A., LEHMKUHL, H.D., PICCONE, M. E., KUTISH, G.F., ROCK, D.L. Genomes of the parapoxviruses ORF virus and bovine papular stomatis virus. **Journal of Virology.** v.78, 168-177, 2004.

ESPOSITO, J.J. e FENNER. Poxviruses. *In*: Knipe, D.M., Howley, P.M., Griffin, D.E., Martin, M.A., Lamb, R.A., Roizman, B., Straus, S.E. (eds.) **Fields Virology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 2885-2921, 2001.

FAO - Disponível em :< <http://www.fao.org/>>. Acesso em 27 set 2005.

FENNER, F.; HENDERSON, D.A.; ARITA, I.; JEZEK, Z.; LANY, I.D. **Smallpox and its eradication**. Geneva: WHO, 1460p,1988.

FERNANDES, A.T.S. **Isolamento e identificação por microscopia óptica e eletrônica de transmissão, de *Orthopoxvirus* em gado bovino leiteiro e em humanos no norte do estado do Rio de Janeiro**. 2004. 105p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Rio de Janeiro.

GREIG, A., LINKLATER, K. A., CLARK, W. A., 1984. Persistent orf in ram. **Vet. Rec.** 115, 149.

GUERREIRO, M.G. Ectima contagioso dos ovinos no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto de Pesquisa Veterinária Desiderio Finamor**, Rio Grande do Sul, n.1, p. 51-53, 1954.

GUIMARÃES, L.M. Sobre um caso de ectima contagioso em cabras observado em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, n. 23, p. 232-234, 1939.

HAIG, D.M. e MERCER, A.A. Orf. **Veterinary Research**, v. 29, p. 311-326, 1998.

HAIG, D. M., McINNES, C., DEANE, D., REID, H.W. E MERCER, A. The immune and inflammatory response to orf virus. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v.20, n.3, p.197 – 204, 1997.

HAIG, D.M.; DEANE, D.L.; MYATT, N.; THOMSON, J.; ENTRICAN, G.; ROTHEL, J.; REID, H.W. The activation status of ovine CD45R<sup>+</sup> and CD45R<sup>-</sup> efferent lymph T cells after orf virus reinfection. **Journal of Comparative Pathology**, v. 115, p. 163-174, 1996a.

HAIG, D.M.; HUTCHINSON, G.; THOMSON, J.; YIRRELL, D.; REID, H.W. Cytolytic activity and associated serine protease expression by skin and afferent lymph CD8<sup>+</sup> T cells during orf virus reinfection. **Journal of General Virology**, v. 77, p. 953-961, 1996b.

HOSAMANI, M.; YADAV, S.; KALLESH, D.J.; MONDAL, B.; BHANUPRAKASH, V.; SINGH, R.K. Isolations and characterization of a Indian orf virus from goats. **Zoonoses and Public Health**, v. 54, p. 204-208, 2007.

HOUSAWI, F. M. T.; ABU ELZEIN, E. M. E. Orf infection following eat taggin in goats. **Reviu D'Elevage et de Medicine Veterinaire des pays Tropicaux**, France, v. 44, n. 3, p. 277 – 278, 1991.

HOUSAWI, F. M. T.; Elzein, E.M; Amin, M.M, al Afaleq, AI. Contagious pustular dermatitis (orf) infection in sheep and goats in Saudi Arabia. **Veterinary Record**, v. 128, p. 550-551, 1991.

IBGE - Disponível em :<<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 10 Ago 2006.

KILELU, E. S. Contagious pustular dermatitis in Kenya **Bulletin of Animal Health and Production Africa**, Nairobi, v. 40, p. 123 – 124, 1992.

LOSOS, J.G. Infectious Tropical Diseases of Domestic Animals. **International Development Research Centre**. Canadá, v.1, p. 559 – 579, 1986.

LLOYD, J.B.; GILL, H.S.; HAIG, D.M.; HUSBAND, A.J. *In vivo* T-cell depletion suggests that CD4<sup>+</sup> T-cells and a humoral immune response are important for the elimination of orf virus from the skin of sheep. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 2000.

LUGINBUHL, J.M. e ANDERSON, K.L. Controlling sire mouth in meat goats (1914). **Animal Science Facts**. Disponível em: <<http://www.cals.ncsu.edu>>, acessado em: 05 de fevereiro de 2008.

MAZUR, C. **Isolamento e identificação do vírus do ectima contagioso em caprinos no Brasil (Diagnóstico)**. 1989. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências área de Microbiologia). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MAZUR, C.; MACHADO, R. D. The isolation and identification of the contagious ecthyma virus of caprines in all cultures. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 127-130, 1990.

MAZUR, C., FERREIRA, I. I., RANGEL FILHO, F. B. e GALLER, R. Molecular characterization of Brazilian isolates of orf vírus. **Veterinary Microbiology**. V.73, n.4, p. 253 – 259, 2000.

McKEEVER, D.J.; McEVAN, J.D.; HUTCHISON, G.; REID, H.W. Studies of the pathogenesis of orf virus infection in sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v. 99, p. 317-328, 1988.

MURPHY, F.A.; GIBBS, E.J.P., HORZINEK, M.C.; STUDDERT, M.J. **Veterinary Virology**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 629p., 1999.

MOSS, B. Poxiviridae, the viruses and their replication. In: Fields, B.N.; Knipe, D. M.; HOWLEY.; CHANOCK, R.M.; MELNICK, J.L. MONATHY, T.P.; ROIZMAN. B.; STRAUS, S.E.. **Fields virology**, 4.ed. Lippincott, Williams and wilkins , Philadelphia, Pa. 2001.

NETTLETON, P.F.; BREBNER, J.; POW, I.; GILRAY, J.A.; BELL, G.D.; REID, H.W. Tissue culture-propagated orf virus vaccine protects lambs from orf virus challenge. **Veterinary Record**. V.138, p. 184-186, 1996.

NIFI, N.A. Soremouth in sheep and goats at the mankon animal research station, Cameron. **Reviu D'Elevage et de Medicine Veterinaire des Pays Tropicaux**, France, v. 44, n.2, p. 141-142, 1991.

NOGUEIRA-FILHO, A.; ALVES, M.O. Potencialidades da cadeia produtiva da ovinocaprinocultura na região Nordeste do Brasil.<<[http: www.bnb.gov.br](http://www.bnb.gov.br)>>. Documento publicado em 11/04/2002. Acesso em 15/09/2007.

OLIVEIRA, D.S.C.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; MELO, W.T. Isolamento e caracterização preliminar de amostras do vírus Ectima Contagioso em caprino e ovino no estado de Pernambuco. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 1, n. 1, p. 33-40, 1998.

PASTORET, P. P.; BROCHIER, B. Le virus de la vaccine et ses proches parents. **Annales de Medicine Veterinaire**, Belgium, v. 134, p. 207-220, 1990.

PINTO JÚNIOR, J. **Ectima contagioso dos ovinos e caprinos: A doença e sua vacina**. 2007. 47p. Monografia (Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Farmacologia). Universidade Federal de Lavras, MG.

PUGH, D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. Roca, São Paulo, 2005, 513p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Artrite Encefalite Caprina(AEC). **Clínica Veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,. cap. 2, p.1098-1101, 2002.

ROBINSON, A. J. e BALASSU, T. C. Contagious pustular dermatitis (orf). **Veterinary Bulletin**. V. 51, p.771 – 781, 1981.

ROBINSON, A. J. e MERCER, A.A. Orf virus and vaccinia virus do not cross-protect sheep. **Archives of Virology**, v. 101, n. 3-4, p. 255-259, 1988.

SCAGLIARINI, A.; DAL POZZO, F., GALLINA, L.: GUERCIO, A.; DE CLERCIO, A. VACCARI, F.; BATTILANI, M.; CIULLI, S e PROSPERI, S. In vitro activity of VEGF-E produced by orf vírus strains isolated from classical and severe persistent contagious ecthyma. **Veterinary Microbiology**. v.114, n.1 – 2, p.142-147,2006.

SCAGLIARINI, A.; DAL POZZO, F., GALLINA, L.: GUERCIO, A.; DE CLERCIO, E.; SNOECK, R.; ANDREI , G. Ovine skin organotypic culture applied to the ex vivo study or orf vírus infection. **Vet. Res. Commun.** Italy, v 29 ( 2),p 245-327, 2005.

SHATZMAYR, O. M. B., MAJEROWICZ, S., ROMIJN, P. C., SILVA, R. C. F., COSTA, C. H. C., RAPOSO, O. J., PIRES, A. R. e SHATZMAYR, H. G. Ocorrência de parapoxvírus em rebanho ovino no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro, V. 28, n.2, p. 60 – 62, 2006.

SHELLEY, WD., SHELLEY, ED. Surgical treatment of farmyard pox: orf, milker's nodule, bovine pustular stomatitis pox. **Cutis**, 1983, 31, 256 – 257.

TORRES, S. Sugestões para a organização de um plano de profilaxia das moléstias dos caprinos e ovinos no Nordeste. **Anais do II Congresso Brasileiro de Veterinária**, Belo Horizonte, p. 447 – 452, 1943.

VIKOREN, T.; LILLEHAUG, A.; AKERSTEDT, J.; BRETTEEN, T.; HAUGUM, M.; TRYLAND, M. A severe outbreak of contagious ecthyma (orf) in a free-ranging musk ox (*Ovibos moschatus*) population in Norway. **Veterinary Microbiology**, v. 127, p. 10-20, 2008.

ZAMRI-SAAD, M.; KARIM, S. A. AJEELI, A. L. et al., A severe outbreak of orf involving the buccal cavity of goats. **Tropical Animal Production**, México, v.24, p. 177-178, 1992.



## **ISOLAMENTO E AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE AMOSTRAS DO VÍRUS ECTIMA CONTAGIOSO EM CULTIVO DE CÉLULAS DE CÓRNEA FETAL CAPRINA**

Rosana Léo de SANTANA<sup>1</sup>, Roberto Soares CASTRO<sup>2</sup>, Michele Moreira Martins de  
OLIVEIRA<sup>3</sup>, Sérgio Alves do NASCIMENTO<sup>4</sup>, Ana Claudia CAMPOS<sup>5</sup>

**RESUMO:** Ectima contagioso (EC) é uma virose aguda e proliferativa de ovinos e caprinos, causada pelo vírus do ectima contagioso (ECV), do gênero Parapoxvirus. O controle da infecção em regiões endêmicas é realizado através de vacinação, porém existem limitações nas técnicas de produção de vacinas, que é a dificuldade de replicação do vírus em cultivo celular. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o comportamento das amostras de ECV em cultivo primário de células de córnea fetal caprina, sistema de cultivo ainda não testado para replicação de ECV. Amostras de crostas de nove ovinos e de dois caprinos que apresentavam sintomatologia clínica de EC, originários dos Estados da Bahia, Sergipe e Paraíba, foram inoculadas em monocamadas de células epiteliais de córnea de feto caprino (CFC), durante sete passagens consecutivas, a intervalos semanais. Observou-se em todas passagens, a partir de 24 horas pós infecção, efeito citopático (ECP) caracterizado pelo arredondamento celular, fusão com formação de pequenos sincícios, vacuolização e corpúsculos de inclusão citoplasmático, com intensidade de 25% a 100% de desprendimento da camada celular, que variou de acordo com a amostra. Conclui-se que as culturas de células primárias de córnea fetal caprina mostraram-se altamente permissíveis à replicação do ECV e que as amostras de ECV isoladas mostraram-se adaptadas ao cultivo utilizado, com pequena variação entre as amostras.

Termos para Indexação: orf, parapoxvírus, cultivo celular.

---

<sup>1</sup>Médica Veterinária, Mestranda em Ciências Veterinárias - Depto de Medicina Veterinária (UFRPE).

<sup>2</sup>Médico Veterinário, Professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – Depto. de Medicina Veterinária. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n., Dois Irmãos. CEP – 52171-900, Recife-PE. e-mail: [rscastro@ufrpe.br](mailto:rscastro@ufrpe.br)

<sup>3</sup>Médica Veterinária, Doutora em Ciências Veterinárias –Pesquisadora FACEPE, nível IIC.

<sup>4</sup>Biólogo - Laboratório de Viroses - Depto de Medicina Veterinária (UFRPE).

<sup>5</sup> Médica Veterinária - Laboratório de Viroses - Depto de Medicina Veterinária (UFRPE).

**ABSTRACT** Evaluation of the Behavior of Samples from the Ectima Contagious Virus in Cultures of Caprine Cornea Cells

Summary: Contagious ectima is a severe and proliferative virus among ovine and caprine caused by the contagious ectima virus (ECV) of the Parapoxvirus genus. The control of the infection in endemic regions is done with vaccines, however there are limitations in the vaccine production due to the difficulties in replicating the virus in cell cultures. The purpose of this paper is to evaluate the behavior of ECV samples in primary cultures of fetal caprine cornea cells, a system of cultures yet untested for the replication of ECV. Crust samples from nine sheep and two goats from the states of Bahia and Paraiba and presenting the clinical symptoms of EC were inoculated in monolayers of the cells, during seven consecutive passages at weekly intervals. During all the occasions we observed, after 24 hours of infection, the cytopathic effect (CE) characterized by cell rounding, fusion with the formation of small syncytia, cytoplasmic inclusion and vacuolation. The intensity of detachment from the cell layers ranged from 25% to 100% which varied according to the sample. We concluded that the primary cell cultures of the fetal caprine cornea appeared highly permissible to replication of ECV and the isolated samples of ECV appeared to adapt to the utilized culture with slight variation among samples.

**Keywords:** orf, parapoxvirus, cell culture

## INTRODUÇÃO

O ectima contagioso (EC), também conhecido como dermatite pustular cutânea, dermatite labial infecciosa, boqueira, scabby mouth, soresmouth ou ORF, foi descrita pela primeira vez em ovinos por Steeb, em 1787, e em caprinos em 1879 (BARRAVIEIRA, 2005). É causado por um vírus da família Poxviridae, gênero Parapoxivirus, caracterizado pelo tropismo por células epiteliais e pela alta resistência às condições ambientais, geralmente adversas para a maioria dos vírus, como o ressecamento. (PASTORET e BROCHIER, 1990).

A penetração do vírus se dá através de lesões cutâneas, e o primeiro sintoma observado em animais acometidos pelo vírus é o aumento da espessura da pele na área de invasão do vírus, com formação posterior de pápulas, vesículas, pústulas e crostas (Figura 1). Lesões características são observadas na face, principalmente nos lábios, porém em casos mais severos podem ser vistos no úbere, tetas, membros, orelhas, mucosas, cauda e coroa do casco. O período de incubação em ovinos e caprinos é de 2 a 3 dias. Cursando a enfermidade em 3 a 4 semanas, com desaparecimento das crostas e regeneração do tecido epitelial (ROBINSON e BALASSU, 1981; BÜTTNER e RZIHA, 2002).

Ectima contagioso é considerado uma enfermidade benigna, entretanto, pode tornar-se grave, quando ocorre envolvimento de outros órgãos, além da pele, determinando grandes perdas ao rebanho. A morbidade em animais jovens ou de rebanhos indenes pode ser alta, chegando a 100%, mas a mortalidade geralmente é baixa, porém em certos casos, pode ser alta, geralmente em animais jovens, devido a infecções secundárias e manejo deficiente associados à infecção por cepas de alta virulência (ROBINSON e BALASSU, 1981; BÜTTNER e RZIHA, 2002).

No Brasil o EC foi descrito pela primeira vez em São Paulo (GUIMARÃES, 1939) e posteriormente em Pernambuco (TORRES, 1943), onde foi considerado um dos principais problemas sanitários da exploração caprina, e Rio Grande do Sul (GUERREIRO, 1954). Nos anos 80 amostras do ECV foram isoladas de ovinos no Ceará (ARITA et al., 1986), e, na última década, de caprinos em Minas Gerais, Rio de Janeiro (MAZUR e MACHADO, 1990) e Pernambuco (OLIVEIRA et al., 1998).



Figura 1 – Ovino com sintomatologia de ectima contagioso na propriedade do estado da Paraíba, a e b) crostas no focinho, narinas, lábios e região maxilar; c e d) crostas na face interna das orelhas.

Surtos de doença epidérmica sugerindo infecção por EC têm sido observados em muitos rebanhos de ovinos e caprinos em diferentes áreas geográficas do Brasil (MAZUR et al., 2000), merecendo atenção a Região Nordeste, onde a maioria dos rebanhos vem sendo explorada em sistemas extensivo ou semi-extensivo, relacionados à subsistência, com manejo alimentar e higiênico-sanitário inadequados, que propiciam o aparecimento de muitas enfermidades como o EC, considerado uma das doenças mais freqüentes (BANDEIRA, 2005; ALENCAR, 2008).

Apesar do desenvolvimento da ovinocaprinocultura brasileira, do caráter endêmico da enfermidade e da sua importância, poucos trabalhos de pesquisa têm sido realizados com relação ao vírus EC, que possam subsidiar o controle da enfermidade, que se fundamenta, principalmente, na vacinação dos animais em áreas endêmicas (TORRES, 1943; ROBINSON e BALASSU, 1981; KILELU, 1992; PINTO JÚNIOR, 2007). Como não existem vacinas inativadas contra EC que sejam eficientes, a vacinação é realizada com vírus vivo. Por isto, só é recomendada em criações endêmicas, pois o uso da vacina implica na introdução do vírus no rebanho (PINTO JÚNIOR, 2007).

Dentre os entraves tecnológicos para a produção de vacinas, destaca-se a dificuldade de replicação do vírus em cultivo celular. Estudos *in vitro* utilizando amostras de ECV têm sido realizados utilizando-se células de cultivo primário de testículo caprino (MAZUR e MACHADO, 1990, HOSAMANI et al., 2007), de rim caprino (OLIVEIRA et al., 1998), queratinócitos de prepúcio de cordeiros (SCAGLIARINI et al., 2005), bem como células de linhagem contínua MDBK (OLIVEIRA et al., 1998) e Vero (VIKOREN et al., 2008). Nesses estudos tem sido relatada a dificuldade de replicação do vírus, pois nenhum dos modelos aplicados mostrou-se permissível à replicação contínua de ECV. A ausência de cultivo celular permissível à replicação continuada de EC tem levado a comercialização no Brasil de vacina obtida a partir de suspensão de crostas de animais infectados (vacina Leivas Leite registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, sob o nº 0260/75), que apresenta sério risco de disseminação de outras doenças, principalmente virais, já que não é inativada (PINTO JÚNIOR, 2007).

Baseado no exposto, este trabalho foi conduzido com o objetivo de isolar e avaliar o comportamento de amostras de ECV em um novo sistema de cultivo celular primário de córnea fetal caprina (CFC).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Origem das amostras

Foram utilizadas crostas coletadas de nove ovinos e de dois caprinos que apresentavam sintomatologia clínica de EC, originários dos Estados da Bahia, Sergipe e Paraíba. As crostas foram acondicionadas em frascos estéreis e enviados ao laboratório de virologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco em temperatura ambiente, onde foram conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o início do processo para isolamento viral.

Tabela 1 – Amostras de crostas colhidas para isolamento do vírus ectima contagiosos (ECV) de acordo com a origem e espécie

Origem: Estado/Município)	Amostra	Espécie	Localização da crostas
Paraíba/Soledade	BrPB1639 <sup>a</sup>	Ovina	Orelha
	BrPB 1639 F <sup>a</sup>	Ovina	Face
	BrPB 1642 <sup>b</sup>	Ovina	Face
	BrPB 1642 O <sup>b</sup>	Ovina	Orelha
	BrPB 1622 F	Ovina	Face
	BrPB 1661	Ovina	Face
Sergipe/Iporanga	BrSE III	Ovina	Boca
	BrSE IIIa	Ovina	Boca
Sergipe/Poço Verde	BrSE I	Ovina	Boca
	BrSE Ia	Ovina	Boca
	BrSE Ic	Ovina	Boca
Bahia/Heliópolis	BrBA II	Caprina	Boca
	BrBA IIa	Caprina	Boca

<sup>a</sup> Amostras do mesmo animal (1639)

<sup>b</sup> Amostras do mesmo animal (1642).

As monocamadas de células epiteliais de córnea de feto foram obtidas por explantação e cultivadas, seguindo a técnica descrita por Oliveira et al. (2007). Resumidamente, os explantes de córnea umedecidos em meio essencial mínimo de Eagle (MEM), suplementado com antibióticos

(penicilina e estreptomicina) e antifúngicos (fugizon ou anfotericina B), foram transferidos para garrafas plásticas de cultivo celular de 25 cm<sup>2</sup>, incubados a 37°C por 30 minutos, e adicionados 5 ml de MEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), seguindo-se o cultivo em estufa a 37°C, em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, até total confluência da monocamada celular, onde foram mantidas e avaliadas periodicamente através de microscópio invertido (Figura 2).

### **Isolamento e passagens em monocamada celular**

As crostas foram maceradas com areia estéril, utilizando-se gral e pistilo, ressuspensas em solução tampão salina (PBS) pH 7,6, estéril, formando uma suspensão, que foi clarificada por centrifugação 3.000g, por 20 minutos, em temperatura de 25° a 27°. O sobrenadante coletado foi tratado com 200/UI/ml de penicilina G potássica, 2 mg/ml de sulfato de estreptomicina e 2 mg/ml de anfotericina B3 e mantido em tubos *Corning* de 15 ml a 4°C por 24 horas, quando foram inoculados em monocamada celular. De cada inóculo obtido, 1ml foi inoculando nas monocamadas celulares na 7ª passagem, cultivadas em garrafas de cultivo celular de 25cm<sup>2</sup> de área de cultivo, incubadas durante 1 hora. Após o período de incubação, o inóculo foi removido e a camada celular lavada duas vezes com MEM, em seguida procedeu-se com a colocação de 5 ml de MEN suplementado com 2% de SFB e incubação a 37°C, em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. Paralelamente foi inoculado apenas MEM suplementado com 2% SFB, seguindo o mesmo procedimento, sendo estas consideradas garrafas controle.

A cada 24 horas, as garrafas foram avaliadas, por observação detalhada da monocamada celular, em microscópio de luz invertida, para observação da formação de efeito citopático (ECP). Quando foram observadas alterações nas monocamadas celulares em relação às monocamadas controles, estas foram registradas de acordo com a seguinte classificação: + (até 25% de ECP); ++ (entre 25% e 50% de ECP); +++ (entre 50% e 75% de ECP); ++++ (75% a 100% de ECP). Todas as garrafas, que apresentaram ou não ECP, foram congeladas a -20°C, no 8º dia p.i. (pós-inoculação) e descongeladas por três vezes consecutivas para preparação do inóculo para a nova passagem. Foram realizadas sete passagens de cada amostra em células epiteliais de córnea fetal caprina (CFC), adotando-se sempre a mesma metodologia (OLIVEIRA et al., 1998).

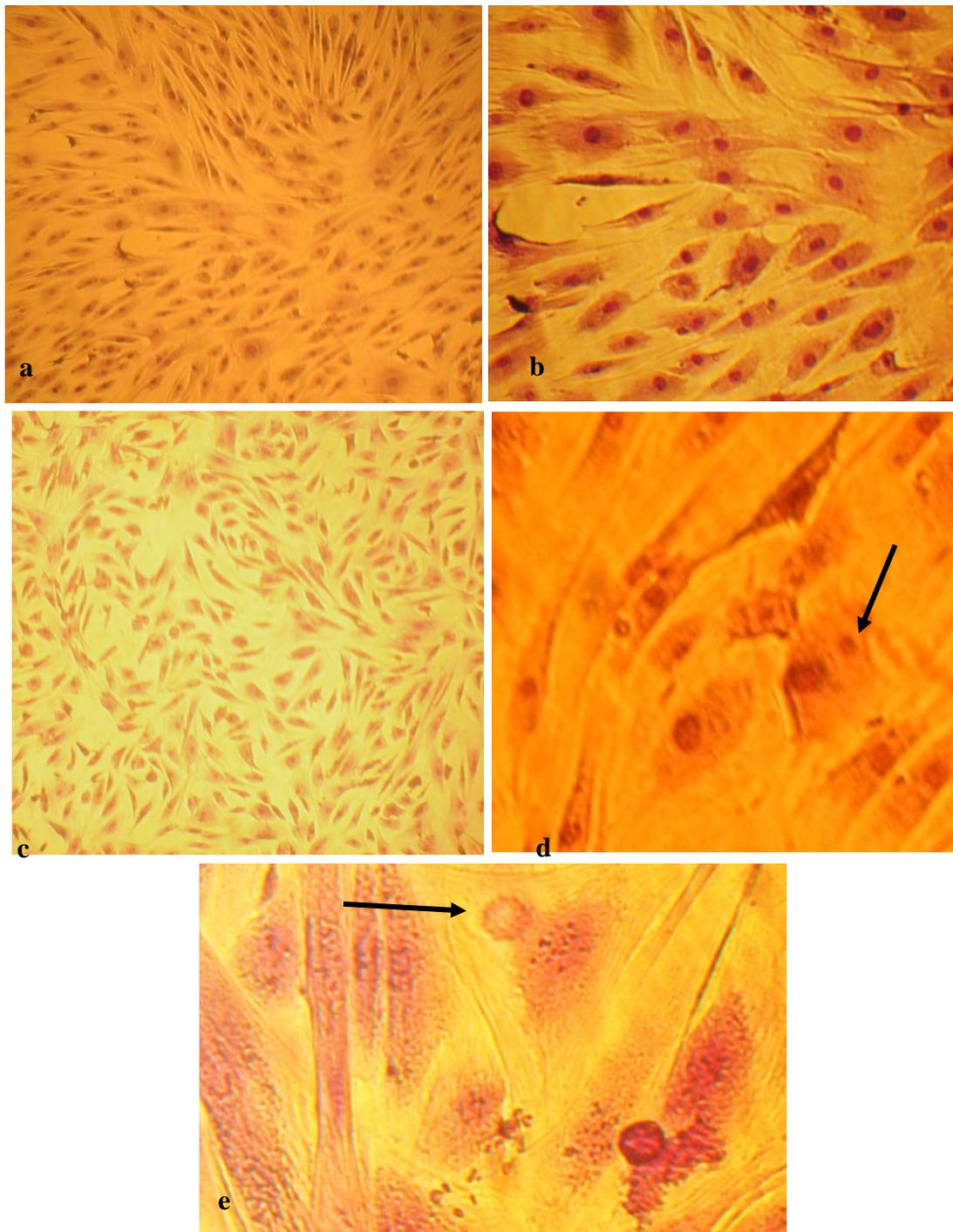


Figura 2 – Cultivo primário de células epiteliais de córnea fetal caprina (CFC) observadas em microscópio óptico de luz invertida: a e b) monocamada não infectada corada pelo método de Giemsa no aumento de 40 e 100X, respectivamente; c) monocamada infectada corada pelo método de Giemsa no aumento 40X; d, e) inclusão intracitoplasmática causada pela replicação do ECV no citoplasma celular, aumento de 100 e 600X, respectivamente.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais apresentavam quadro de EC, com lesões distribuídas principalmente nas áreas desprovidas de pêlos, como face, lábios, cavidade bucal, narinas e orelhas, com intensidade variada, chegando a quadros graves como mostrado na Figura 1. Os achados são compatíveis com as descrições clássicas de EC (ROBINSON e BALASSU, 1981).

As amostras de crostas colhidas das áreas lesadas foram inoculadas em células epiteliais de córnea fetal caprina, por sete passagens consecutivas, promovendo, 24 horas p.i., ECP caracterizado pelo arredondamento celular, fusão com formação de pequenos sincícios, vacuolização e corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos (Figuras 2d e 2e). Essas alterações celulares são compatíveis com as descrições de ECP causado pelos vírus da família *Parapoxivirus* (ROBINSON e BALASSU, 1981).

O efeito citopático foi observado nas monocamadas inoculadas em todas as sete passagens, com intensidade de 25% a 100% de desprendimento da camada celular (Tabela 2), que variou de acordo com a amostra. As amostras BrPB1639, BrBAII e BrBAIIa apresentaram ECP mais intenso que as demais em todas as passagens realizadas (Tabela 2). A amostra BrPB1639 foi obtida de um ovino do estado da Paraíba, que apresentava sinais clínicos severos de EC (Figura 1), e as amostras BrBAII e BrBAIIa de caprinos do estado da Bahia. As demais, todas de ovinos de distintos rebanhos, apresentaram ECP com intensidades variáveis entre as passagens (Tabela 2). Esses achados sugerem variação entre as amostras, porém deve-se destacar que as passagens foram feitas com volumes fixos dos inóculos. Assim, diferenças do comportamento entre as amostras podem ser devido a diferentes títulos iniciais dos inóculos. Por outro lado, não é possível estabelecer relação entre intensidade de ECP e virulência, o que só poderá ser elucidada após inoculação de animais susceptíveis. De acordo com Oliveira et al. (1998), as alterações celulares de menor intensidade são observadas em amostras de ovinos, o que não foi confirmado neste estudo, pois a maioria das amostras foi de ovinos, exceto BrSEI e BrSEIa, e apresentaram ECP máximo às 192 horas p.i. da primeira passagem, semelhantes às amostras caprinas.

Tabela 2 – Intensidade do efeito citopático<sup>a</sup> causado pelas amostras do vírus ectima contagioso (ECV), de acordo com a passagem em cultivo primário de células epiteliais de córnea fetal caprina (CFC), no oitavo dia pós-inoculação (p.i.)

Amostra	Passagem (semana)						
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
BrPB1639 <sup>b</sup>	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
BrPB 1639 F <sup>b</sup>	++++	++	++++	+++	+	++++	++++
BrPB 1642 <sup>c</sup>	++++	++++	++	++	+++	++++	+++
BrPB 1642 O <sup>c</sup>	++++	++++	++++	++++	+	++++	+++
BrPB 1622 F	++++	++++	+++	++	+++	++++	++++
BrPB 1661	+++	++++	+++	++++	++++	+++	+++
BrSE III	++++	++++	+++	++++	++++	++++	+++
BrSE IIIa	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++
BrSE I	++	++++	+++	++	++++	++++	+++
BrSE Ia	+	++++	++++	++++	+	+++	++++
BrSE Ic	++++	+++	+++	++++	++++	++++	+++
BrBA II	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
BrBA IIa	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

<sup>a</sup>ECP até 25% (+); entre 25% e 50% (++); entre 50% e 75% (+++); e entre 75% e 100% (++++)(Fonte:OLIVEIRA et al., 1998).

<sup>b</sup>Amostras do mesmo animal (1639)

<sup>c</sup>Amostras do mesmo animal (1642).

O comportamento das amostras de ECV foi diferente dos achados de Oliveira et al. (1998), que utilizando amostras de caprinos de Pernambuco e células de linhagem MDBK e de cultivo primário de rim fetal caprino (RC), conseguiram a replicação viral apenas na primeira e segunda passagens. A intensa replicação em todas passagens pode ser indicativo de adaptação das amostras virais às células epiteliais de córnea, sistema de cultivo ainda não testado para replicação de ECV. A escolha deste sistema ocorreu por serem as células de córnea de fácil cultivo, pelos bons resultados na replicação de outros vírus, como o da artrite-encefalite caprina (CAEV) (OLIVEIRA et al., 2007), e por ser o ECV epiteliotrópico (ROBINSON e BALASSU, 1981). Adicionalmente, é conhecido que o epitélio da córnea não é irrigado diretamente pela corrente sanguínea (BURKITT et al., 1994), o que o torna menos acessível aos agentes virais.

Com isto, mesmo sendo de natureza epitelial, como outras células susceptíveis à infecção pelo ECV, essas células poderiam conter receptores menos favoráveis à infecção viral por não terem sido submetidas a forte pressão de seleção na interação vírus/hospedeiro. Do ponto de vista evolutivo, o contrário também é verdadeiro. Neste caso, as células de córnea seriam mais permissíveis à infecção por ECV, o que poderia explicar, em parte, a melhor replicatividade em culturas de células de córnea, quando em comparação com os resultados obtidos em outros estudos, que relatam o insucesso ou sucesso parcial na replicação *in vitro* de ECV em outras células (MAZUR e MACHADO, 1990; OLIVEIRA et al., 1998; SCAGLIARINI et al., 2005; HOSAMANI et al., 2007; VIKOREN et al., 2008).

Em algumas amostras foi observado que na terceira, quarta e quinta passagens, ocorreu a formação de ECP de menor intensidade. Segundo Webster (1958) e Pyer (1990), isto pode ocorrer após adaptação do ECV às culturas celulares, chegando às vezes a não ser mais observado formação de ECP, temporariamente, e que volta a ser observado com passagens sucessivas, provavelmente para seleção de amostras virais de maior poder infeccioso para a população celular exposta. Por outro lado, as variações observadas entre as amostras de ECV em cultivo celular, dependem também do nível de adaptação do vírus ao soro utilizado na suplementação do meio de cultura. É possível que as diferenças entre amostras tendam a desaparecer com passagens sucessivas (HUSSAIN e BURGER, 1988; MAZUR e MACHADO, 1990).

## CONCLUSÕES

1. As culturas de células primárias de córnea fetal caprina mostraram-se altamente permissíveis à replicação do ECV. Acredita-se que poderão ser utilizadas para replicação em escala desse vírus.
2. As amostras de ECV isoladas mostraram-se adaptadas ao cultivo de células primárias de córnea fetal caprina (CFC), com pequena variação entre as amostras.
3. Resultados obtidos podem gerar estudos, que possivelmente, poderá possibilitar a obtenção de vacina.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado de R.L. de Santana. À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela Bolsa de DTI de R.S Castro.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, S.P. **Aspectos sócio-econômicos e sanitários dos rebanhos caprinos e ovinos no Sertão de Pernambuco**. 2008. 121f. Tese ( Doutorado em Ciência Veterinária) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

ARITA, G.M.M.; CAPELLARO, C.E.M.P.M.; DEAK, J. G. et al .Isolamento e identificação de poxvirus causando doença em ovinos no Estado do Ceará. **Biológico**, São Paulo, v.52, n.1/3, p.23-26, jan./nov. 1986.

BANDEIRA, D. A. **Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do Estado da Paraíba**. 2005. 117f Tese ( Doutorado em Ciência Veterinária ) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

BARRAVIEIRA, S. R. C. S. Diseases caused by poxvirus – ORF and milker’s nodules – a review. **Journal of Venomous Animal and Toxins Including Tropical Diseases**. V. 11, n. 2, p.102 – 108, 2005.

BURKITT. H. G.; YOUNG, B.; HEATH. J. W. **Wheater Histologia Funcional**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 409p,1994.

BÜTTNER. M.; RZIHA. H, J. Parapoxviruses : From the lesion to the viral genome. **J. . Vet Med**. B 49, 7-16, 2002.

GUERREIRO, M.G. Ectima contagioso dos ovinos no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto de Pesquisa Veterinária Desiderio Finamor**, n.1, p. 51-53, 1954.

GUIMARÃES, L.M. Sobre um caso de ectima contagioso em cabras observado em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, n. 23, p. 232-234, 1939.

HOSAMANI, M.; YADAV, S.; KALLESH, D.J.; MONDAL, B.; BHANUPRAKASH, V.; SINGH, R.K. Isolations and characterization of a Indian orf virus from goats. **Zoonoses and Public Health**, v. 54, p. 204-208, 2007.

HUSSAIN, K.A. e BURGUER, D. In vivo and in vitro characteristics of contagious ecthyma vírus isolats: host response mechanism. **Veterinary Microbiology**, v. 19, p. 37-51, 1988.

KILELU, E.S. Contagious pustular dermatitis in Kenya. **Bulletin of Animal Health and Production Africa**, v. 40, p. 123-124, 1992.

MAZUR, C.; MACHADO, R. D. The isolation and identification of the contagious ecthyma virus of caprines in all cultures. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 127-130, 1990.

MAZUR, C., FERREIRA, I. I., RANGEL FILHO, F. B. e GALLER, R. Molecular characterization of Brazilian isolates of orf vírus. **Veterinary Microbiology**. V.73, n.4, p. 253 – 259, 2000.

OLIVEIRA, D.S.C.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; MELO, W.T. Isolamento e caracterização preliminar de amostras do vírus Ectima Contagioso em caprino e ovino no estado de Pernambuco. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife v. 1, n. 1, p. 33-40, 1998.

OLIVEIRA, M.M.O.; CASTRO, R.S.; MELO, M.A.; ANDRADE, P.P.; GOMES, S.M.; CAMPOS, A.C; NASCIMENTO, S.A. *Western blot* para diagnóstico de lentivírus de pequenos ruminantes (LVPR), usando protocolo simples para obtenção de antígeno. Submetido à publicação nos **Aquivos do Instituto Biológico**, 2007.

PASTORET, P. P.; BROCHIER, B. Le virus de la vaccine et ses proches parents. **Annales de Medicine Veterinaire**, Belgium, v. 134, p. 207-220, 1990.

PINTO JÚNIOR, J. H. **Ectima Contagioso dos ovinos e caprinos : A doença e sua vacina.** 2007. 50f. Monografia ( Especialização em Farmacologia ) – Universidade Federal de Lavras , MG.

PYE, D. Vaccination of sheep with cell culture grown orf vírus. **Australian Veterinary Journal**, v. 67, n. 5, p. 182-186, 1990.

ROBINSON, A. J. e BALASSU, T. C. Contagious pustular dermatitis (orf). **Veterinary Bulletin**. v. 51, p.771 – 781, 1981.

SCAGLIARINI, A.; DAL POZZO, F., GALLINA, L.: GUERCIO, A.; DE CLERCQ, E.; SNOECK, R.; ANDREI , G. Ovine skin organotypic culture applied to the ex vivo study or orf vírus infection. **Vet. Res. Commun.** v 29 ( 2),p 245-327, 2005.

TORRES, S. Sugestões para a organização de um plano de profilaxia das moléstias dos caprinos e ovinos no Nordeste. **Anais do II Congresso Brasileiro de Veterinária**, Belo Horizonte, p. 447 – 452, 1943.

VIKOREN, T.; LILLEHAUG, A.; AKERSTEDT, J.; BRETTEEN, T.; HAUGUM, M.; TRYLAND, M. A severe outbreak of contagious ecthyma (orf) in a free-ranging musk ox (*Ovibos moschatus*) population in Norway. **Veterinary Microbiology**, v. 127, p. 10-20, 2008.

WEBSTER, R.G. The immunological relations of the contagious pustular dermatitis virus to the mammalian pox group. **Australian Journal of Experiments Biology**, v. 36, p. 267-274, 1958.

***5 Conclusões Finais***

---

---

1. As culturas de células primárias de córnea fetal caprina mostraram-se altamente permissíveis à replicação do ECV. Acredita-se que poderão ser utilizadas para replicação em escala desse vírus.
2. As amostras de ECV isoladas mostraram-se adaptadas ao cultivo de células primárias de córnea fetal caprina, com pequena variação entre as amostras.
3. Resultados obtidos podem gerar estudos, que possivelmente, poderá possibilitar a obtenção de vacina.