

ACÇÃO DESINFETANTE DE ALGUNS PRODUTOS COMERCIAIS SOBRE O VÍRUS TIPO "C" WALDMANN DA FEBRE AFTOSA. §

Fumio Honma ITO*
Cezar E. ENRIOUEZ ROZAS*
Sílvia Arruda VASCONCELLOS*
J. GUERRERO**
José de A. CÔRTEZ***

RFMV-A/9

ITO, F.H.; ENRIQUEZ-ROZAS, C.E.; VASCONDELLOS, S.A.; GUERRERO, J.; CÔRTEZ, J.A.
Ação desinfetante de alguns produtos comerciais sobre o vírus tipo "C" Waldmann da febre aftosa. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo. 15 (1): 069-074, 1978

RESUMO: *Apreciando a ação desinfetante de cinco produtos comerciais sobre o vírus "C" Waldmann da febre aftosa, em presença de matéria orgânica, os autores verificaram que após cinco minutos de atuação a atividade viral remanescente expressa em termos de mortalidade de camundongos lactentes inoculados com a suspensão viral tratada pelos correspondentes produtos foi a seguinte: 1/119 (0,84%); 5/120 (4,16%); 104/119 (87,39%); 116/118 (98,30%); 118/120 (98,33%), respectivamente para o Hidróxido de sódio a 2,0%, Iodoform a 1:250, Paratolueno a 0,3%, Gluconato de clorhexidina 20% a 1:200 e Carbonato de sódio a 4,0%.*

UNITERMOS: *Febre aftosa**; *Vírus**; *Desinfecção**.

INTRODUÇÃO

O combate à febre aftosa, em áreas endêmicas, fundamenta-se, usualmente, na imunização dos suscetíveis domésticos, controle das fontes de infecção e desinfecção concorrente de ambientes e materiais contaminados^{8,11}.

As peculiaridades do agente causal desta doença, especialmente no que concerne à sua elevada resistência às condições ambientais e à multiplicidade de mecanismos

de transmissão de que se utiliza para persistir na natureza³, impõem sérias limitações à desinfecção de meios de transporte, equipamentos e dependências de criação, notadamente, tratando-se de superfícies impregnadas por matéria orgânica.

Com o objetivo de promover a descontaminação de ambientes e materiais contaminados pelos vírus da febre aftosa, diversos procedimentos tem sido desenvolvidos.

§ Trabalho realizado em colaboração entre o Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP e a Johnson e Johnson S.A.

* Auxiliar de Ensino.

** Professor Assistente Doutor.

*** Professor Livre-Docente.

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

O calor úmido ou seco, largamente empregado na esterilização de equipamentos de laboratório, encontra limitações para a utilização em instalações em ambientes de criação. Nestes locais, é muito mais viável o uso de produtos químicos, os quais tem sido amplamente experimentados^{1, 2, 5, 6, 7, 9, 12, 13, 14, 15}.

Embora exista um grande número de desinfetantes químicos, com indicação para os vírus da febre aftosa, persiste em nosso país a falta de estudos acerca de sua eficácia, particularmente quando em presença de matéria orgânica.

Deste modo o objetivo do presente estudo foi o de avaliar a ação desinfetante de cinco produtos comerciais sobre o vírus "C" Waldmann da febre aftosa em condições similares àquelas encontradas no meio criatório.

MATERIAL E MÉTODOS

O vírus empregado, consistiu no tipo "C" Waldmann da febre aftosa, subtipo "C3" Indaial, obtido por passagens em cultivo de células BHK₂₁ clone 13, apresentando um título infectante em camundongos lactentes igual a $10^{6,87} \text{DI}_{50}$ por mililitro e mantido à -20°C.

Tanto para a diluição do vírus, como no preparo das suspensões dos materiais de estudo, empregou-se como diluente a solução salina de Earle, adicionada de 2,000 unidades de penicilina e 2,0 miligramas de estreptomicina por mililitro.

O sistema biológico utilizado para titulação e pesquisa da presença de vírus consistiu em camundongos suíços albinos, lactentes de cinco a sete dias de idade, distribuídos em grupos de oito indivíduos acompanhados da respectiva mãe.

Os desinfetantes estudados e as respectivas diluições de uso são apresentadas a seguir:

*a) Paratolueno cloro sulfamida sódica 0,3% (P/V);

**b) Carbonato de sódio comercial 4% (P/V);

***c) Hidróxido de sódio comercial 2% (P/V);

****d) Gluconato de clorhexidina 20% a 1:200 (V/V);

*****e) "Iodofor" a 1:250 (V/V).

O substrato utilizado consistiu de um tecido de fibra de algodão com espessura de 1,0 milímetro, medindo 2,0 metros de comprimento e 0,5 metros de largura, subdividido em quatro segmentos de 0,5 x 0,5 metros, designados por I, II, III e IV.

Utilizando-se um pulverizador tipo costal, manual, marca JACTO, modelo PJH, com capacidade para 20 litros, pressão de trabalho de até 7,0 kg/cm² e equipado com bico de "spray" em forma de cone cônico, procedeu-se a operação de pulverização do desinfetante sobre o substrato, mantendo-se o bico orientado por um fio de algodão distendido paralelamente e à altura de 40 centímetros do piso e imprimindo-se um movimento de vai e vem contínuo com sobreposição adequada dos jatos, durante 15 segundos de modo a atingir uniformemente toda a área do segmento do substrato.

A titulação da suspensão de vírus foi realizada em diluições seriadas de razão dez, inoculadas pela via intraperitoneal em camundongos na dose de 0,05 mililitros por animal. Os animais foram mantidos em observação por sete dias e a determinação do título foi realizada segundo o método de REED e MUENCH¹⁰ (1938).

A identificação do vírus foi estabelecida através da reação de fixação de complemento, empregando a técnica preconizada por CAMARGO e cols.⁴ (1950).

O presente estudo foi conduzido em cinco etapas, cada uma das quais consistiu no ensaio de um desinfetante conforme

* "DUP" - Tortura Companhia Zootécnica Agrária.

** Carbonato de Sódio Comercial - Usina Colombina S.A.

*** "GIANT" - Laboratórios Anacol Ltda.

**** "SAVLON" - Imperial Chemical Industries Ltd.

***** "BIOCID" - Pfizer Química Ltda.

a seqüência de procedimentos descrita a seguir:

O substrato de algodão foi embebido, por imersão, na suspensão de vírus e após a retirada do excesso de líquido, foi estendido sobre o piso de cimento e submetido a estreito contato com fezes frescas de bovino, impregnando-se cerca de 250 gramas deste material por metro quadrado de tecido.

O sistema assim constituído foi mantido por cerca de 30 minutos e a seguir, com o auxílio de uma escova, foi removido o excesso de matéria orgânica de sua superfície.

O tratamento A consistiu na aplicação do desinfetante sobre os segmentos I e III, do substrato, conforme o descrito na operação de pulverização.

O volume de desinfetante pulverizado em cada segmento foi de 190 ± 10 mililitros.

O tratamento B, utilizado como controle do experimento, consistiu na aplicação, sobre os segmentos II e IV do substrato, de água destilada com pH 7,0, conforme o mesmo critério adotado no tratamento anterior.

O final destas operações foi cuidadosamente controlado deixando-se o novo sistema em contato durante cinco minutos.

Decorrido este período de contato, procedeu-se a colheita aleatória de amostras

circulares de tecido com diâmetro de seis centímetros, em número de dez para cada tratamento, contemplando-se, igualmente cada segmento do substrato.

Os dez fragmentos assim obtidos foram pesados e em seguida agregados ao diluente de modo a atingir uma diluição final de 1:5 (P/V), macerados em grau, sendo a correspondente suspensão clarificada por centrifugação à 2.500 r.p.m., durante 30 minutos.

A suspensão resultante do tratamento A foi inoculada, por via intraperitoneal, em 15 grupos de camundongos com uma dose de 0,05 mililitros por animal.

A suspensão B foi submetida ao mesmo procedimento dispensado à suspensão A, exceto pelo fato de ser inoculada em apenas cinco grupos de camundongos.

Os animais inoculados foram mantidos em observação por um período de sete dias, submetendo-se aos exames usuais para comprovação do vírus, os materiais procedentes daqueles que sucumbiram a partir de 24 horas do momento da inoculação.

RESULTADOS

Os resultados obtidos encontram-se na tabela apresentada a seguir.

TABELA Atividade viral, em camundongos, das suspensões resultantes dos tratamentos A e B, expressa em termos de mortalidade e identificação do vírus pela reação de fixação de complemento, para cada um dos desinfetantes estudados. São Paulo, 1978.

TRATAMENTO DESINFETANTE	A		B	
	MORTALIDADE*	IDENTIFICAÇÃO	MORTALIDADE*	IDENTIFICAÇÃO
Paratolueno	104/119	+	39/40	+
Carbonato	118/120	+	39/40	+
Hidróxido	1/119	+ **	39/40	+
Gluconato	116/118	+	38/40	+
Iodoform	5/120	+	40/40	+

* mortos/inoculados

** 1ª passagem

Na tabela I, estão registrados os resultados da atividade viral das suspensões oriundas dos tratamentos A e B, expressos em termos da mortalidade de camundongos e a identificação do vírus pela reação de fixação de complemento, para cada desinfetante estudado.

Observando-se esta tabela, constata-se uma menor mortalidade entre os camundongos inoculados com a suspensão tratada pelo hidróxido de sódio a 2%.

De fato, a suspensão virulenta tratada com este produto foi capaz de matar apenas um camundongo lactente em 119 inoculados (0,84%) e mesmo assim a identificação do vírus só foi possível em material obtido após nova passagem em camundongos.

Mortalidade igualmente baixa foi constatada entre os camundongos inoculados com a suspensão tratada pelo Iodoform onde sucumbiram cinco dos 120 animais inoculados (4,16%).

As suspensões tratadas pelos demais produtos revelaram os seguintes valores de mortalidade: Paratolueno 104/119 (87,39%); Gluconato 116/118 (98,30%) e Carbonato de Sódio 118/120 (98,33%).

Note-se que em todos os casos o grupo inoculado com a suspensão B (controle), apresentou valores esperados de mortalidade.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo ressaltam alguns aspectos que convém discutir.

A atividade viral da suspensão virulenta tratada pelo Hidróxido de sódio, expressa em termos de mortalidade de camundongos, denota a eficiente ação desinfetante deste produto sobre o vírus "C" Waldmann da febre aftosa.

De fato, dos 199 camundongos inoculados com a referida suspensão apenas um dos animais sucumbiu em decorrência da ação viral, mesmo assim a identificação do vírus pela reação de fixação de complemento, somente foi possível quanto o material foi submetido a nova passagem em camundongos o que sugere tratar-se

de uma quantidade de vírus muito pequena.

A ação desinfetante do Hidróxido de sódio para os vírus da febre aftosa tem sido amplamente demonstrada: FELKAI⁶ (1972), LUCAM e cols.⁷ (1964) e WISNLEWSKI¹⁵ (1971), sendo relatado que, sobre os vírus da febre aftosa a atividade desinfetante deste produto, "in vitro", é bastante rápida, todavia, a presença de matéria orgânica exige um maior tempo de contacto, quando se deseja a mesma eficiência. Estes autores ressaltam ainda que a aplicação do Hidróxido de sódio na prática, encontra sérias limitações devido à sua ação corrosiva para metais, seres vivos e artefatos de borracha. Estes inconvenientes também foram observados durante a execução deste estudo.

Apreciado pelo mesmo critério, o Iodoform revelou uma considerável atividade desinfetante sobre o vírus "C" Waldmann da febre aftosa, pois apenas cinco dos 120 camundongos inoculados com a suspensão virulenta, tratada pelo produto em apreço, morreram em decorrência da ação viral.

Para os outros três produtos ensaiados, o número de camundongos mortos sobre inoculados foi muito elevado, sendo praticamente idêntico ao dos grupos controle, o que leva a conclusão de que, nas condições do presente estudo, tais produtos apresentaram pouca ou nenhuma ação letal sobre o vírus "C" Waldmann da febre aftosa.

AGRADECIMENTOS

Para a realização deste trabalho contamos com a colaboração da Diretoria Estadual do Ministério da Agricultura em São Paulo, a cuja direção apresentamos nossos melhores agradecimentos.

De modo particular, queremos agradecer ao Chefe do Laboratório de Febre Aftosa do Ministério da Agricultura, em Barretos, Dr. Iracídio Marques de Souza e sua equipe pela dedicação e facilidades que nos propiciaram.

ITO, F.H.: ENRIQUEZ-ROZAS, C.E.; VASCONCELLOS, S.A.; GUERRERO, J.; CORTES, J.A. *Disinfectant efficacy of several commercial products against type "C" Waldmann virus of foot and mouth disease*. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo. 15 (1): 069-074, 1978

SUMMARY: Five commercially available disinfectant products were studied on their activity over Type "C" Waldmann virus of foot and mouth disease. These disinfectants were tested in presence of organic matter. It was determined that after five minutes of contact between the virus and disinfectant, the viral suspension intraperitoneally inoculated into suckling mice caused the following mortality depending on the type of disinfectant utilized: 1/119 (0.84%) mortality after use 2% sodium hydroxide; 5/120 (4.16%) mortality after use of Iodophor at 1:250; 104/119 (87.39%) mortality after use of 0.3% Paratoluene; 116/118 (98.3%) mortality after use of 20% Gluconate of chlorhexidine at 1:200; and 118/120 (98.33%) mortality after use of 4% sodium carbonate.

UNITERMS: Foot and mouth disease*; Virus*; Disinfection*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BACHRACH, H.L.; BREESE, S.S.Jr.; CALLIS, J.J.; HESS, W.R. & PATTY, R.E. Inactivation of foot-and-mouth disease virus by pH and temperature changes and by formaldehyde. *Proc.Soc.Exp. Biol.Med.*, 95: 147-52, 1957.
- 2 - BAUER, K. & EISSNER, G.A. Study of the persistence and disinfection of foot-and-mouth disease virus in fluid excrement from flush-cleaning of animal accommodation. *Berl.Münc. Tierarztl.Wschr.*, 85 (19): 367-8, 1972.
- 3 - CALUS, J.J.; MCKERCHER, P.D. & GRAVES, J.H. Foot-and-Mouth disease. A review. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*; 153 (12): 1798-802, 1968.
- 4 - CAMARGO, N.F.; EICHHORN, E.A.; LEVINE, J.M.; TELLEZ GIRON, A.A. complement-fixation technique for foot-and-mouth disease and vesicular stomatitis. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION, 87, México, 1950. *Proceeding*. p.207-11.
- 5 - FELLOWES, O.N. Some surface-active agents and their virucidal effect on foot-and-mouth disease virus. *Appl.Microbiol.*, 13: 694-7, 1965.
- 6 - FELKAI, V. Efficacy of certain disinfectants against the virus of foot-and-mouth disease. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 27 (11): 621-6, 1972.
- 7 - LUCAM, F.; DANNACHER, G. & FEDIDA, M. Action in vitro de quelques désinfectants sur un virus aphteux de culture. *Bull Off. Int. Epiz.*, 61 (11/2): 1589-603, 1964.
- 8 - THIRD PROGRESS REPORT OF THE FOOT-AND-MOUTH DISEASE. Research Committee, 1928, H.M.S.O., London.
- 9 - PULTIGLIONE NETTO, L.; da SILVA, G.D. BENEDITO, V.A. Efeito do Iodoform sobre o vírus da febre aftosa. *O Biológico*, 42 (5/6): 113-7, 1976.
- 10 - REED, L.J. & MUENCH, H. A simple method for estimating fifty percent end points. *Amer. J. Hyg.*, 27: 493, 1938.
- 11 - RICHARDS, R.A. Foot-and-mouth disease and swine vesicular disease. Procedures adopted in Great Britain for the disinfection of premises and infected materials. *Bull Off. int. Epiz.*, 83 (1/2): 137-41, 1975.
- 12 - SCHJERNING-THIESEN, K. The inactivating effect of a mixture of sodium chloride and sodium carbonate on foot-and-mouth disease virus on ox hides. *Bull. Off. int. Epiz.*, 77 (7/8): 1125-9, 1972.
- 13 - SELLERS, R.F. The inactivation of foot-and-mouth disease virus by chemicals and disinfectants. *Vet. Rec.*, 83: 504-6, 1968.
- 14 - USTENKO, U.S.; STEFANOV, A.V. & MINDLINA, D.S. Disinfection of hides contaminated with foot-and-mouth disease virus. *Trudy Vses Inst. Vet. Sanit.*, 22: 66-75, 1963.
- 15 - WISNIEWSKI, J. Comparison of viricidal effect of disinfection preparations on foot-and-mouth disease virus. *Bull. Vet. Inst. in Pulawy*, 15 (1/2): 57-61, 1971.

Aprovado para publicação em 04.09.1978.