

PREVALÊNCIA DO VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM UMA COMUNIDADE DE AVES ORNAMENTAIS¹

JOSÉ NELSON S.S. COUCEIRO², RAIMUNDO D. MACHADO², ELIANE S.S. COUCEIRO² e MAULORI C. CABRAL²

ABSTRACT.- Couceiro J.N.S.S., Machado R.D., Couceiro E.S.S. & Cabral M.C. 1990. [Prevalence of the Newcastle disease virus in an ornamental bird flock.] Prevalência do vírus da doença de Newcastle em uma comunidade de aves ornamentais. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 10(1/2):31-33. Depto Virologia, Inst. Microbiologia, UFRJ, Cx. Postal 68040, Rio de Janeiro, RJ 21944, Brazil.

A virological surveillance study on a bird flock over a period of three years resulted in the isolation of 27 strains of Newcastle disease virus (NDV), in 360 fecal samples. These isolations occurred from May to September and from November to January, with the highest percentage in the first two years of the investigation (1981/1982 and 1982/1983). Feces were collected from healthy birds and virus presence was investigated by inoculation into fertile eggs. The positive isolates were identified by the hemagglutination inhibition test (HI).

INDEX TERMS: Newcastle disease virus, isolation, ornamental birds.

SINOPSE.- O estudo de vigilância virológica de uma comunidade de pássaros num período de três anos, resultou no isolamento de 21 amostras de vírus da doença de Newcastle (NDV), entre 360 materiais fecais examinados. Estes isolamentos ocorreram de maio a setembro e de novembro a janeiro, com mais alta porcentagem nos primeiros dois anos de investigação (1981/82 e 1982/83). Os pássaros aparentemente saudáveis tiveram suas fezes coletadas e a presença viral foi investigada pela inoculação em ovos embrionados. Os vírus isolados foram identificados por inibição de hemaglutinação (HI).

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Vírus da doença de Newcastle, isolamento, aves ornamentais.

INTRODUÇÃO

Os vírus responsáveis pela doença de Newcastle têm sido associados com quadros clínicos, de patogenicidade variável, entre aves selvagens e domésticas. Infecções por estes vírus tem ocorrido, em muitas regiões do mundo, afetando e algumas vezes matando populações inteiras de pássaros selvagens ornamentais e de granja, no último caso, freqüentemente, levando a grandes perdas econômicas (Simmons 1967, Shortridge et al. 1978, Hirai et al. 1980, Onunkwo & Momoh 1980, Sulochana et al. 1981, Bell et al. 1984, Maiti et al. 1984).

As porcentagens significantes de isolamentos de uma grande diversidade antigênica de amostras de vírus da doença de Newcastle e a presença dos respectivos anticorpos específicos, em todo o mundo (Pearson & McCa-

am 1975, Sulochana et al. 1981), estimularam nosso interesse em investigar a circulação destes vírus entre pássaros ornamentais brasileiros.

A disseminação de infecções por NDV em todo mundo, afetando aves selvagens, domésticas e ornamentais, causando quadros graves e até fatais, incitaram nosso interesse na investigação da incidência dos vírus. Uma comunidade de aves ornamentais em gaiolas (sentinelas) foi escolhida para objeto de nosso estudo. As aves destas comunidades tinham contacto com tratadores humanos e eram sujeitas à incursão de aves selvagens.

MATERIAL E MÉTODOS

Trezentos e sessenta amostras de fezes frescas de aves ornamentais foram coletadas de gaiolas de pássaros, no distrito de Lins de Vasconcelos, um subúrbio da cidade do Rio de Janeiro. Estudamos um total de 110 pássaros, enquadrados em 10 diferentes espécies e 4 famílias diversas: *Faringidae*, *Fringilidae*, *Psittacidae* e *Picidae*.

Os pássaros foram mantidos confinados, em gaiolas metálicas cobertas, que os tornavam suscetíveis à visitação de pássaros de vida livre, tais como: pardais (*Passer domesticus*), rolinhas (*Columba spix*) e bico-de-lacre (*Estrilda cinerea*).

Antes da coleta dos materiais fecais, as gaiolas eram limpas, por remoção de material fecal eliminado e resíduos alimentares. As amostras fecais eram grupadas em 36 séries de 10, coletadas a cada mês, de julho de 1981 até junho de 1984 (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, V, W, X, Y, Z, A', B', C', D', E', F', G', H', I', J').

Hospedeiros, amostras virais, soros padrões, eritrócitos e soluções

O sistema hospedeiro empregado foi constituído por ovos em-

¹ Aceito para publicação em 15 de outubro de 1988.

Trabalho realizado com auxílio do CNPq e CEPG/UFRJ.

² Departamento de Virologia, Instituto de Microbiologia, UFRJ, Centro de Ciências da Saúde, Bloco I, Ilha do Fundão, Cidade Universitária, Cx. Postal 68040, Rio de Janeiro, RJ 21944.

brionados de galinhas Leghorn, com idade de 9-12 dias de incubação (Paul 1975).

As seguintes amostras virais padrões e respectivos soros padrões, obtidos do National Institute for Medical Research (Mill Hill, London), St. Jude Children's Research Hospital (USA) e Fundação Oswaldo Cruz, foram usados: A/turkey/Weybridge/79 (H_1N_1), A/duck/Germany/1215/73 (H_2N_3), A/duck/Ukraine/63 (H_3N_8), A/duck/Czechoslovakia/56 (H_4N_6), A/tern/S. Africa/61 (H_5N_3), A/sherwater/E.Aust./72 (H_6N_5), A/FPV/Rostock/34 (H_7N_1), A/turkey/Ontario/6118/68 (H_8N_4), A/turkey/Wisconsin/66 (H_9N_2), A/chicken/Germany/"N"/49 ($H_{10}N_7$), A/duck/England/56 ($H_{11}N_6$) e A/duck/Alberta/60/76 ($H_{12}N_5$). As amostras selvagens (amostra velogênica SO-93 - Embrapa) e vacinais (Lasota e B₁) foram fornecidas pela Embrapa, Rio de Janeiro. Elas eram preparadas em ovos convencionais ou SPF (Specific pathogenic free), para obtenção das preparações virais de trabalho.

Soros imunes para NDV, usados em reações de inibição de hemaglutinação (HI), foram obtidos em galinhas inoculadas com a amostra Lasota (Wigg et al. 1979). Os soros foram tratados com enzima destruidora de receptores (RDE), suspensões de hemácias de ganso a 50% (v/v) e por inativação a 56°C por 30 minutos (Couceiro 1978). Os eritrócitos e soluções diversas foram preparados conforme Couceiro (1978).

Métodos, isolamento e identificação de amostras

As fezes eram coletadas do fundo das gaiolas, no horário da manhã, com ajuda de uma espátula, algum tempo após o processo diário de limpeza e alimentação, para que se tivesse a certeza da viabilidade das amostras virais possivelmente isoláveis. As amostras eram, então, imersas em 5,0 ml de solução de Gey ABC com antibióticos, e processadas como descrito previamente (Couceiro 1978).

Todas as amostras foram passadas três vezes em ovos embrionados, submetendo-as, nos intervalos entre as inoculações, a sucessivas reações de hemaglutinação (HA) (Sever 1962). Flúidos alantóicos eram considerados positivos quando com títulos iguais ou maiores a 16, o título final sendo considerado como aquele correspondente a maior diluição com 100% de hemaglutinação. Flúidos positivos eram inoculados por diversas vezes, em ovos embrionados, até que se obtivesse 256, como título mínimo de hemaglutinação.

As amostras virais isoladas e padrões foram concentradas por ultracentrifugação (McNulty et al. 1975) e submetidas a testes de HI, como metodologia de identificação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos usados para a preparação das 360 amostras fecais examinadas, por um período de 36 meses, resultaram no isolamento de 27 amostras de NDV. O Quadro 1 mostra os resultados de isolamento, e também indica o ano (2º) de maior incidência de amostras de NDV. Isto pode ser visto na Fig. 1, que mostra a incidência mensal de vírus da doença de Newcastle, no período de 3 anos de pesquisa.

Quadro 1. Percentagens de isolamento de amostras de NDV

Vírus	1º ano		2º ano		3º ano		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
NDV	7	29,2	12	50,0	5	20,5	27	100,0

O ciclo de replicação de vírus respiratórios (vírus Influenza) tem sido demonstrado ocorrente a nível de mucosa intestinal de patos, com isolamento viral em fezes (Webster et al. 1978) e trato respiratório. Em nossa experiência prévia, envolvendo o estudo de 1735 espécimes clínicos de cloaca e orofaringe de aves ornamentais, não logramos êxito no isolamento de vírus respiratórios. Contudo nossa prática de isolamento viral a partir de fezes, diretamente de solos visitados por aves selvagens ou de gaiolas, indica-a como boa metodologia (Couceiro et al. 1982a,b).

Quadro 1 e Fig. 1 mostram os níveis de isolamento de amostras virais nos três anos de investigação, com picos de maio a setembro e de novembro a janeiro, com maior intensidade no segundo ano de investigação.

A percentagem total de isolamento, em fezes, manteve-se constante nos meses de inverno e verão (11,10%). Esta observação contrasta com os dados obtidos por Shorrid-

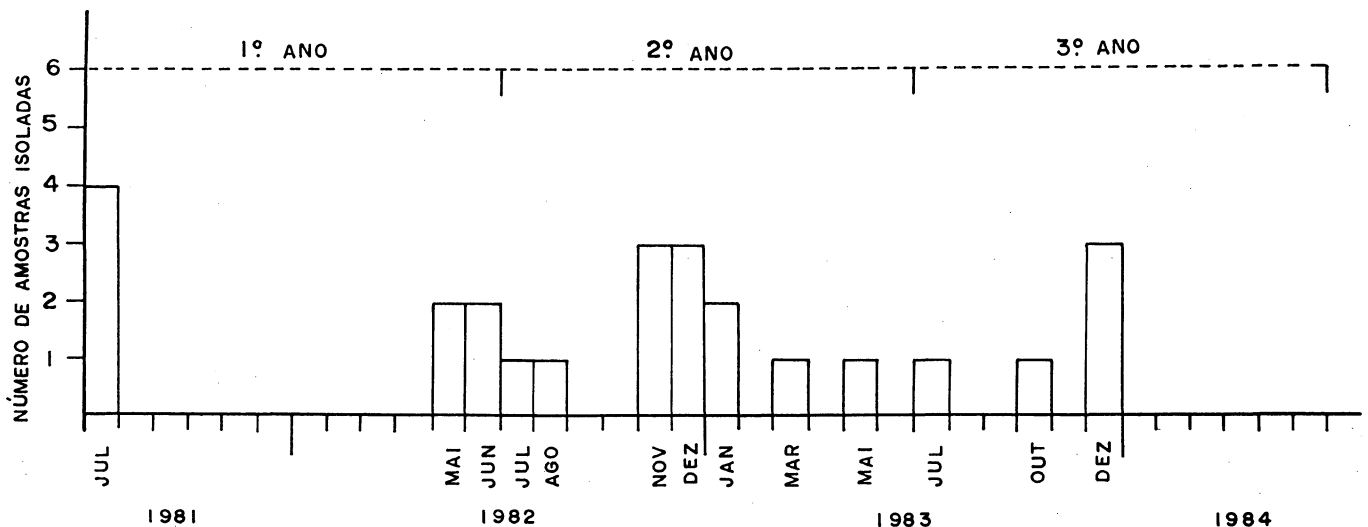


Fig. 1. Número de amostras de vírus da doença de Newcastle (NDV) isoladas, durante 3 anos de investigação.

ge (1980), em patos assintomáticos, entre os quais ele observou uma maior percentagem de isolamento nos meses de inverno. Esta diferença poderia ser explicada, provavelmente, pela menor variação de temperatura entre as diferentes estações, em nosso clima tropical. Baixas percentagens de isolamento viral através de todo um ano de pesquisa, como aquelas observadas na faixas 1981/82 e 1983/84, já tinham sido observadas, previamente, em aves sentinelas (Halvorson et al. 1985).

Nossos resultados, obtidos entre aves saudáveis, reiteraram a importância do isolamento prévio de diferentes amostras de vírus da doença de Newcastle, a partir do trato respiratório, fezes ou órgãos necropsiados de aves selvagens e ornamentais, saudáveis ou doentes (Spalatin & Hanson 1975, Vickers & Hanson 1975, Eaves & Grimes 1978, Hirai et al. 1980, Hanson 1982, Eisa & Omer 1984).

Como nossa investigação foi feita em pássaros cativos, que tinham contatos apenas eventuais com aves selvagens, a influência de fatores tais como o agrupamento em gaiolas ou a propagação de vírus via alimento ou água pode ser importante (Alexander et al. 1984).

REFERÊNCIAS

- Alexander D.J., Pearson G. & Marshall E. 1984. Infection of fowls with Newcastle disease virus by food contaminated with pigeon faeces. *Vet. Rec.* 115:601-602.
- Bahl A.K., Pomerey B.S. & Easterday B.C. 1975. Isolation of two turkey Influenza A viruses in Minnesota. *Avian Dis.* 19:375-384.
- Couceiro J.N.S.S. 1978. Inquérito virológico e sorológico de vírus Parainfluenza em crianças no Rio de Janeiro. *An. Microbiol., Rio de J.*, 22: 111-134.
- Couceiro J.N.S.S., Chaves J.R.S., Brandão C.T.P. & Machado R.D. 1982a. Isolamento e caracterização de vírus Influenza A, em aves ornamentais no Rio de Janeiro. *An. Microbiol., Rio de J.*, 27:159-167.
- Couceiro J.N.S.S., Machado R.D. & Chaves J.R.S. 1982b. Influenza A, isolamento e caracterização de vírus isolados de aves de vida livre. *An. Microbiol., Rio de J.*, 27:193-204.
- Couceiro J.N.S.S. 1986. Estudo da ocorrência de infecções por vírus Influenza A e vírus da doença de Newcastle numa comunidade de aves ornamentais em cativeiro. Tese de Doutorado, Inst. Microbiologia, Univ. Fed. Rio de Janeiro.
- Eaves F.W. & Grimes T.M. 1978. The isolation and characterization of a Newcastle disease virus from an exotic parrot. *Aust. Vet. J.* 54:534-537.
- Eisa M. & Omer E.A. 1984. A natural outbreak of Newcastle disease in pigeon in the Sudan. *Vet. Rec.* 114:297.
- Halvorson D.A., Kelleher C.J. & Senne D.A. 1985. Epizootiology of avian Influenza: effect of season on incidence in sentinel ducks and domestic turkeys in Minnesota. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:914-919.
- Hirai K., Yamashita T., Sawa H. & Shimakura S. 1981. An occurrence of Newcastle disease in other psittacine birds exposed to imported cackatoos (*Kataköe sulphurea*). *Jap. J. Vet. Sci.* 43:557-559.
- Hirai K., Yamashita T., Sawa H., Takahashi M. & Shimakura S. 1980. Isolation of Newcastle disease virus from imported parrots (*Karaköe sulphurea*). *Jap. J. Vet. Sci.* 42:381-385.
- Laver W.G. & Webster R.G. 1979. Ecology of Influenza viruses in lower mammals and birds. *Brit. Med. Bull.* 35:29-33.
- McNulty M.S., Gowans E.J., Houston M.J. & Fraser G. 1975. Neuraminidase content of strains of Newcastle disease virus which differ in virulence. *J. Gen. Virol.* 27:399-402.
- Maiti N.K., Sharma S.N. & Sambyal D.S. 1984. Isolation of a mesogenic strain of Newcastle disease virus from a hen. *Vet. Rec.* 115:251.
- Majiyagbe H.A. & Natwathe D.R. 1981. Isolation of virulent Newcastle disease virus from apparently normal ducks in Nigeria. *Vet. Rec.* 108: 190.
- Onunkwo O. & Momoh M.A. 1980. Isolation of Newcastle disease virus from a parrot (*Psittacus erithracus*) in Nigeria. *Vet. Rec.* 107: 179.
- Paul J. 1975. Cell and tissue culture. 5th ed. Churchill Livingstone, London.
- Pearson G.L. & McCaam M.K. 1975. The role of indigenous wild semidomestic, and exotic birds on disease in Southern California, 1972-1973. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 167:610-614.
- Sever J.L. 1962. Application of a microtechnique to viral and serological investigations. *J. Immunol.* 88:320-329.
- Shortridge K.F., Alexander D.J., Hu L.Y. & Kam S.L. 1978. Isolation of Newcastle disease virus from phasianidae in Hong Kong. *J. Comp. Pathol.* 88:633-636.
- Shortridge K.F. 1980. Isolation of Ortho-and-Paramyxoviruses from domestic poultry in Hong Kong between November 1977 and October 1978 and comparison with isolations made in the preceding two years. *Res. Vet. Sci.* 28:296-301.
- Simmons G.C. 1967. The isolation of Newcastle disease virus in Queensland. *Aust. Vet. J.* 43:29-30.
- Spalatin J. & Hanson R.P. 1975. Epizootiology of Newcastle disease in waterfowl. *Avian Dis.* 19:573-582.
- Sulochana S., Pillai R.M., Nair G.K., Sudharma D. & Abdulla P.K. 1981. Epizootiology of Newcastle disease virus in India house crows. *Vet. Rec.* 109:249-251.
- Vickers M.L. & Hanson R.P. 1982. Characterization of isolates of Newcastle disease virus from migratory birds and turkeys. *Avian Dis.* 26: 127-133.
- Webster R.G., Yakhno M., Hinshaw V.S., Bean W.J. & Murti, K.G. 1978. Intestinal Influenza replication and characterization of Influenza viruses in ducks. *Virology* 84:268-278.
- Wigg M.D., Machado R.D. & Couceiro J.N.S.S. 1979. Nova técnica para obtenção de soro imune anti-vírus Influenza. *An. Microbiol., Rio de J.*, 24:135-144.