

ISOLAMENTO DO VÍRUS DA ENCEFALO-MIELITE AVIÁRIA (TREMOR EPIDÊMICO) NOS ESTADOS DA GUANABARA E ESPÍRITO SANTO¹

RENATO AUGUSTO DA SILVA², GERALDO GOUVÊA SOUTO³ e
ERB FALLER DA COSTA PEREIRA⁴

SINOPSE.— Os autores descrevem o isolamento e a identificação do vírus da encefalo-mielite aviária (tremor epidêmico) de pintos procedentes de granjas dos Estados da Guanabara e do Espírito Santo.

O diagnóstico da encefalo-mielite aviária baseou-se no exame clínico e nas provas de laboratório, que foram as seguintes: isolamento do vírus, exames histopatológicos e prova de soro-neutralização.

INTRODUÇÃO

Segundo Van Roekel (1965), a encefalo-mielite das aves ou tremor epidêmico é uma infecção que ataca principalmente os pintos e se caracteriza por ataxia e tremor, especialmente da cabeça e pescoço.

A encefalo-mielite das aves foi descrita pela primeira vez por Jones (1932) nos Estados Unidos e atualmente é assinalada em diversas partes do mundo.

No Brasil, coube a Bueno *et al.* (1964) realizarem os primeiros isolamentos do vírus causador desta doença, a partir de cérebros e medulas de pintos doentes, no Estado de São Paulo. Chagas *et al.* (1962) registraram os primeiros casos de encefalo-mielite aviária em granjas do Estado da Guanabara e Rio de Janeiro, fazendo o diagnóstico da doença por histopatologia.

Anteriormente, comunicamos o isolamento do vírus da encefalo-mielite das aves em granjas do Estado da Guanabara, sendo propósito da presente publicação descrever minuciosamente os trabalhos de isolamento e identificação da amostra de vírus da encefalo-mielite das aves isolada do sistema nervoso de pintos doentes provenientes de Jacarepaguá, Estado da Guanabara, e dar ciência do surto ocorrido recentemente no Estado do Espírito Santo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais que deram origem a este estudo foram coletados no mês de novembro de 1968, de pintos de 16 dias, de raça especializada para corte, procedentes de granja avícola localizada na região de Jacarepaguá. As informações do proprietário davam conta de um grau de mortalidade de 5% nesta ocasião entre as aves jovens.

Em data posterior, abril de 1969, recebemos quatro pintos de dez dias de idade, também de raça especializada para corte, do Estado do Espírito Santo, município de Vila Velha, que apresentavam quadro característico de encefalo-mielite aviária. Nesta região a doença já havia aparecido em cerca de 10.000 pintos de 1 a 2 semanas de idade.

Os pintos apresentavam os sintomas descritos para a encefalo-mielite aviária e que podem ser assim resumidos: ataxia progressiva e incoordenação das patas, com forte tendência a permanecerem sentados sobre os tarsos, edema dos olhos, tremores da cabeça e do pescoço.

De dez entre doze pintos doentes (8 do Estado da Guanabara e 4 do Espírito Santo), que apresentavam quadro clínico de encefalo-mielite, foram retirados fragmentos do cérebro e da medula, guardando-se tais materiais em temperatura de menos 20°C para estudos posteriores; esses materiais foram registrados na Seção de Vírus, do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS), sob os números 4.082, 4.084, 4.106, 4.107, 4.100, 4.109, 4.110, 4.111, 4.124 e 4.377. Ao mesmo tempo, foram fixados, em formol a 10%, fragmentos de tecido nervoso, proventrículo, pâncreas, coração, fígado e baço, para os estudos de histopatologia, utilizando-se para tal fim a coloração de hematoxilina-eosina.

Isolamento do vírus

Para o isolamento do vírus, foram preparadas suspensões a 10% dos cérebros e das medulas das aves sacrificadas em soro fisiológico estéril. Adicionaram-se 1.000 U.I. de penicilina potássica e 1 miligrama de estreptomina sódica para cada mililitro de suspensão, que a seguir foi centrifugada a 2.500 rpm, durante 10 minutos. Parte destas suspensões foi filtrada em Seitz e, após esta operação, realizou-se o controle bacteriológico por semeadura em caldo simples e agar-sangue, o que foi feito, também, com as suspensões não filtradas.

Para as inoculações, utilizaram-se pintos de seis dias de idade, provenientes de granjas oficiais localizadas em áreas onde nunca foram observados sintomas de encefalo-mielite aviária. A técnica de inoculação utilizada foi a intracerebral, na dose de 0,1 ml.

Amostras representativas das diferentes suspensões foram inoculadas em embriões de galinha, via saco alantóide, na dose de 0,2 ml para cada embrião.

¹ Recebido 7 abr. 1970, aceito 9 set. 1971.

Apresentado no XII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Niterói, 1968.

² Chefe Agregado da Seção de Vírus do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS), Professor Adjunto de Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

³ Chefe do Serviço Veterinário da Comissão do Vale do São Francisco e Professor Adjunto de Microbiologia e Imunologia da UFRRJ, Km 47, Campo Grande, GB, ZC-26.

⁴ Veterinário Patologista da Seção de Histopatologia do IPEACS, Km 47, Campo Grande, GB, ZC-26.

Identificação do vírus

Para a identificação do vírus, utilizou-se a prova de soro-neutralização, que consistiu em se colocarem partes iguais da diluição de vírus a 1:10, correspondente a uma das amostras isoladas (material 4.124), com 2 passagens em cérebro de pintos, e soro de aves que sofreram a doença natural e, posteriormente, foram inoculadas com uma das amostras de vírus do tremor epidêmico, recém isoladas (material 4.124).

Como testemunha da prova, foi utilizada mistura em partes iguais da diluição de vírus a 1:10 com soro normal de galinha. As misturas foram incubadas em banho-maria a 37°C por meia hora, procedendo-se às inoculações intracerebrais em lote de 10 pintos de 6 dias de idade, na dose de 0,1 ml.

RESULTADOS

Isolamento do vírus

A partir de suspensões livres de bactérias, filtradas em Seitz ou tratadas por antibióticos, isolou-se, no período de incubação de 21 a 35 dias, o vírus da encefalo-mielite das aves.

Os sintomas apresentados pelas aves experimentalmente inoculadas podem ser assim caracterizados: tristeza, edema dos olhos, ataxia com acentuada tendência para sentar sobre os tarsos e tremores da cabeça em alguns casos.

Exames histopatológicos

A histopatologia realizada em diversos tecidos de pintos naturalmente infetados revelou: gliose, infiltração linfocitária perivascular e degeneração dos neurônios no sistema nervoso central. Notou-se, ainda, a presença de focos linfocitários na túnica muscular do proventrículo, no pâncreas e no coração, como também, hiperplasia dos folículos linfóides do fígado, baço e pâncreas.

O exame histopatológico dos diferentes tecidos de pintos infetados experimentalmente revelou: infiltração linfocitária perivascular, gliose no sistema nervoso central e degeneração da bainha de mielina.

Prova de soro-neutralização

A amostra de vírus isolada (4.124) foi neutralizada pelo soro contendo anticorpos contra o vírus da encefalo-mielite das aves.

Os pintos inoculados com a mistura soro específico e vírus (material 4.124) não demonstraram sinais de encefalo-mielite, quando observados por um período de 60 dias. Entretanto, 50% dos pintos inoculados com a mistura soro normal e vírus adoeceram de encefalo-mielite, no período de 20 a 35 dias após a inoculação.

A inoculação em embrião de galinha com 7 dias de incubação, pela via alantoidiana, apresentou resultado negativo. Embriões inoculados, como embriões não inoculados (testemunhas), ao 20.º dia da incubação apresentavam, ao exame macroscópico, tamanho normal.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Demonstramos no presente trabalho o isolamento e a identificação do vírus da encefalo-mielite aviária (tremor

epidêmico), a partir de tecido nervoso, constante de cérebro e medula de pintos naturalmente infetados, procedentes de granja avícola da região de Jacarepaguá, Estado da Guanabara e do Espírito Santo.

Utilizamos para as inoculações intracerebrais, pintos de 6 dias de idade, procedentes de zonas indenes ao tremor epidêmico. O período de incubação por nós observado variou de 19 a 35 dias. Os sintomas mais frequentes foram a ataxia e forte tendência a se apoiarem as aves sobre os tarsos. Posteriormente apareciam os tremores da cabeça e do pescoço.

As lesões histopatológicas encontradas nos diferentes tecidos, como sistema nervoso central, pâncreas, proventrículo e coração das aves naturalmente doentes e experimentalmente infetadas, correspondem às descritas por vários pesquisadores que estudaram a encefalo-mielite das aves.

Realizou-se a prova de soro-neutralização com soro de aves que sofreram a doença espontânea e, posteriormente, receberam doses de vírus da encefalo-mielite aviária, correspondente à amostra 4.124.

Por motivos alheios à nossa vontade, não contamos com soro-padrões de outras origens a fim de compararmos as amostras de vírus isoladas. Entretanto, reconhecemos o valor da prova realizada com soro regional.

Ainda, como complemento da prova imunológica, poderíamos ter realizado a prova de imunofluorescência, caso tivéssemos o conjugado para esta doença em tempo hábil. Trabalhos desta natureza estão sendo realizados rotineiramente nos U.S.A. (Heide 1970).

Embriões de galinha, em sétimo dia de incubação, quando inoculados com as diferentes suspensões tratadas por antibióticos ou filtradas em Seitz, não demonstraram sinais aparentes de alteração. Passagens cegas no embrião não foram realizadas.

Concluímos pelo isolamento do vírus da encefalo-mielite aviária, diante dos resultados das provas de inoculação em pintos de 6 dias, achados histopatológicos do sistema nervoso central e demais tecidos e pela prova de soro-neutralização.

AGRADECIMENTOS

Consignamos nossos agradecimentos ao Dr. Paulo Fraga, pela remessa das aves doentes do município de Vila Velha, no Estado do Espírito Santo.

REFERÊNCIAS

- Bueno, R.C., Baquer, S.R. & Nakano, M. 1964. Ocorrência da encefalo-mielite aviária em São Paulo. Isolamento e identificação do vírus responsável. *Revta bras. Biol.* 24(1):31-44.
- Chagas, A.W., Dacorso Filho, P. & Vaitsmann, J. 1962. Encefalo-mielite aviária. Primeira identificação nos Estados da Guanabara e Rio de Janeiro. *Revta vet.* 15(3-4):8-10.
- Heide, L. v.d. 1970. The fluorescent antibody technique in the diagnosis of avian encephalomyelitis. *Tech. Bull.* 44, Univ. Maine, Orono.
- Jones, E.E. 1932. An encephalomyelitis in the chicken. *Science* 76:331-332.
- Van Roekel, H. 1965. Encefalomyelitis de las aves (temblor epizootico), p. 571-580. In Biester, H.E. & Schwarte, L.H. (ed.), *Enfermedades de las aves*. 1.ª ed. espanhol. UTEHA, México.

ABSTRACT.- Silva, R.A. da, Souto, G.G. & Pereira, E.F. da C. 1972. *Isolation of encephalomyelitis virus (Epidemic Tremor) in the States of Guanabara and Espírito Santo*. *Pesq. agropec. bras., Sér. Vet.*, 7:11-13. (Inst. Pesq. Agropec. Centro-Sul, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, Brazil)

The avian encephalomyelitis virus was isolated from brain and spinal cord of the young chickens. The diagnosis of avian encephalomyelitis (epidemic tremor) was supported in clinical symptoms, experimental reproduction of the diseases in sensible chickens, histopathological findings and test of serum neutralization.