

INFLUENZA AVIÁRIA EM AVES SILVESTRES BRASILEIRAS

II — Distribuição mensal de surtos epizooticos, detectados por técnicas sorológicas de imunodifusão

Magda M. C. ANRAKU (1), Cid Vieira Franco de GODOY (2), Maria da Gloria R. OSCAR (3)
e Wilson Carmo de FARIA (3)

RESUMO

Prosseguindo inquérito sorológico em aves silvestres através de imunodifusão, os Autores descrevem os resultados obtidos em aves capturadas durante o período de 1970 — 1971, fazendo ainda referência a surtos epizooticos ocorridos durante o ano de 1969, cujos resultados foram divulgados em trabalho anterior. De 849 soros de aves silvestres brasileiras capturadas no Estado de São Paulo, submetidas à reação de precipitação contra o vírus da Influenza tipo A, 23 (2,7%) mostram-se positivos, e a maior porcentagem de positividade ocorreu nos soros coletados durante o mês de julho de 1971.

INTRODUÇÃO

O aparecimento de novos subtipos do vírus da Influenza tipo A, tem sido relacionado com o desenvolvimento de recombinantes em aves, resultantes de infecção mista por virus gripais aviários e humanos¹.

Como evidência sugestiva desta recombinação, recentemente anti-neuraminidase humana (A/Asia/57/(H₂N₂)) foi encontrado no soro de pássaros marítimos australianos².

Em trabalho anterior I demonstramos que os soros de aves silvestres brasileiras possuíam anticorpos tipo específicos para o vírus da Influenza tipo A.

Com finalidade de verificarmos o relacionamento entre surtos epizooticos e épocas do ano testamos novamente por imunodifusão, durante 1 ano o soro de aves silvestres brasileiras de localidades diversas do Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

1) Antígeno para imunodifusão

Foi usado como antígeno uma suspensão de vírus obtida pela inoculação do vírus N (A/Chicken/Germany/"N"/49 (Hav₂N₁)), na cavidade alantoide do ovo embrionado de galinha.

O líquido alantóico obtido foi submetido as técnicas de hemadsorção-eluição e o material resultante foi suspenso em solução fisiológica de tal modo que se obtivesse um título hemaglutinante até a diluição 1/40.000.

2) Soros

O soro padrão utilizado foi obtido através da imunização de galinhas com a amostra padrão A/Chicken/Germany/"N"/49 (Hav₂N₁).

Utilizamos 849 soros de aves silvestres, cedidos pelo Dr. Oscar Souza Lopes, do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo e que pertenciam a

Trabalho realizado no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Brasil.

(1) Assistente Doutor do Depto. de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da U.S.P.

(2) Professor-Adjunto do Depto. de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da U.S.P.

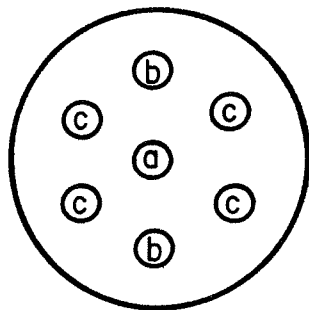
(3) Técnico do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

pássaros apreendidos em estações de caça do Instituto Adolfo Lutz (cidades de Varjão (praia de Guaratuba), Casa Grande e Itapetininga). Foram coletados nos anos de 1970 e 1971.

3) Imunodifusão

Foi utilizada a técnica de CROWLE³.

O esquema ilustra a disposição dos elementos da reação



- a) Antígeno + S.D.S.
- b) Soro hiperimune
- c) Soros testados

Após a colocação do antígeno na cavidade correspondente colocamos sobre o mesmo uma gota de S.D.S. (Dodecyl Sulfato de Sódio), detergente que possibilita o rompimento da partícula viral, liberando o antígeno interno 5. A leitura é feita 12 a 24 horas após a colocação de todos os elementos nos orifícios. As lâminas são a seguir lavadas em solução fisiológica. A coloração é feita com tiazina vermelha a 10%.

RESULTADOS

Foram testados 849 soros cujos resultados encontram-se expressos nas Tabelas I, II, III, IV e V.

TABELA I

Resultados obtidos por imunodifusão com soros de aves silvestres brasileiras (1970-1971)

Soros	Nº de casos	%
+	23	2,7
-	419	49,35
Inespecíficos ou atípicos (+)	407	47,93

(+) Chamamos de inespecíficos ou atípicos aqueles resultados que não podiam pelas características apresentadas, ser considerados positivos.

TABELA II

Distribuição dos resultados obtidos por imunodifusão, em soros de aves silvestres brasileiras segundo os meses do ano (1970-1971)

Mês/Ano (1970-1971)	Nº casos positivos	Nº casos negativos	Nº casos atípicos ou inespecíficos	Total
setembro	—	26	—	26
outubro	—	31	—	31
novembro	—	—	—	—
dezembro	—	27	—	27
janeiro	—	28	70	98
fevereiro	6	14	86	106
março	—	37	104	141
abril	8	107	120	235
maio	—	—	—	—
junho	2	28	8	38
julho	7	57	19	83
agosto	—	64	—	64

TABELA III

Porcentagem de soros positivos para o vírus da Influenza tipo A, em aves silvestres brasileiras (1970-1971)

Mês/Ano (1971)	Nº total casos	Nº casos positivos	% de positividade
fevereiro	106	6	5,66
abril	235	8	3,40
junho	38	2	5,26
julho	83	7	8,43

TABELA IV

Distribuição dos casos positivos para o vírus da Influenza tipo A, segundo os municípios de captura (1970-1971)

Mês/Ano (1971)	Município	Nº casos positivos
fevereiro	Casa Grande	6
abril	Itapetininga	1
abril	Casa Grande	4
abril	Varjão (praia de Guaratuba)	3
junho	Casa Grande	2
julho	Itapetininga	5
julho	Varjão (praia de Guaratuba)	2

TABELA V

Pássaros do Estado de São Paulo, cujos soros foram positivos (1970-1971)

Nome científico	Nome comum	Quantidade
<i>Haplospiza unicolor</i>	Cigarrinha	6
<i>Platycichla flavipes</i>	Sabiá una ou Sabiá preto	1
<i>Schiffornis virescens</i>	—	1
<i>Oreopeleia montana</i>	Juriti vermelho	1
<i>Elaenia chiquensis</i>	Maria é dia	1
<i>Tachyphonus cristatus</i>	Çurundi	1
<i>Camptostoma obsoletum</i>	Sebino	1
<i>Turdus leucomelas</i>	Sabiá	1
<i>Turdus amaurochalinus</i>	Sabiá branco	1
<i>Chloroceryle americana</i>	Martim pescador	2
<i>Automulus leucophthalmus</i>	Arapaçu	1
<i>Phyllomyias fasciatus</i>	Sebino	1
<i>Saltator similis</i>	Trinca ferro	1
<i>Chiroxiphia caudata</i>	Tangara	1
<i>Pyriglena leucoptera</i>	Papa formiga	2
<i>Aramides cajanea</i>	Saracura Três potes	1

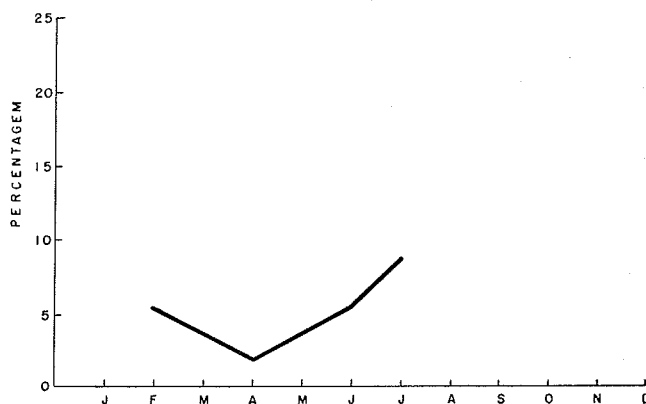
DISCUSSÃO

Anticorpos tipo específicos para o vírus da Influenza tipo A, foram encontrados somente nos meses de fevereiro, abril, junho e julho, sendo que as porcentagens de positividade foram bastante próximas entre si (Gráfico I). Comparando-se os atuais resultados, com aqueles obtidos em ano anterior 1, podemos verificar que a incidência de casos positivos, ocorreu sempre, entre janeiro e agosto. Tal fato parece indicar que existe realmente um relacionamento entre épocas do ano e circulação do vírus entre as aves.

Por outro lado, a porcentagem de casos positivos foi aproximadamente a mesma nos 2 anos, quais sejam 2,4% (1969-1970) e 2,7% (1970-1971) e os gêneros aos quais pertencem os pássaros com soros positivos foram muito variados.

Gráfico I

PERCENTAGEM DE POSITIVIDADE, SEGUNDO OS MESES DO ANO, PARA OS VÍRUS DA INFLUENZA TIPO A, NO SORO DE AVES SILVESTRES DO ESTADO DE SÃO PAULO, NO PERÍODO DE 1970 A 1971



Os resultados apresentados permitem portanto concluir que a circulação do vírus da Influenza tipo A, nas aves do Estado de São Paulo, ocorreu em determinadas épocas do ano perfeitamente identificadas.

Paralelamente à pesquisa de anticorpos tipo específicos no soro de aves, foi iniciada a tentativa de isolamento do (s) vírus responsável (s) pelas epizootias, sem resultados positivos até o presente momento. Tal isolamento, em prosseguimento, demonstraria, associados com resultados sorológicos apresentados, serem as aves silvestres brasileiras reservatórios naturais de vírus Influenza A.

S U M M A R Y

Influenza in wild Brazilian fowl

II — Monthly distribution of influenza outbreaks, detected serologically by immunodiffusion techniques

Proceeding serological assays in wild fowl by immunodiffusion techniques, results with birds captured during the period of 1970-1971 are described with reference to influenza outbreaks.

Of a total of 849 sera of Brazilian wild fowl captured in the State of São Paulo and tested by immunodiffusion with Influenza type A virus, 23 (2.7%) presented positive results. A larger percentage of positive results was obtained with sera collected during the month of July, 1971.

AGRADECIMENTOS

Os Autores agradecem a gentil colaboração do Dr. Oscar de Souza Lopes, Sr. Emílio Dente a da Sra. Mitiko Fujita, do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, que nos cederam os soros de aves silvestres coletados em estações de campo no Estado de São Paulo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANRAKU, M. M. C.; FARIA, W. C. & TAKAYAMA, D. C. — Influenza aviária em aves silvestres brasileiras. I — Inquérito sorológico através de imunodifusão. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13:292-296, 1971.
2. ANRAKU, M. M. C. — Contribuição ao estudo imunológico da Influenza. [Tese de Doutorado], 1973.
3. CROWLE, A. J. — A simplified micro double-diffusion agar precipitin technique. *J. Lab. Clin. Med.* 52:784-787, 1956.
4. DOWNIE, J. C.; WEBSTER, R. G.; SCHILD, G. C.; DOWDLE, W. R. & LAVER, W. G. — Characterization and ecology of a type A influenza virus isolated from a shear water. *Bull. Wild. Hlth. Org.* 49:559-566, 1973.
5. HANA, L. & HOYLE, L. — The desintegration of the internal nucleoprotein of Influenza virus A with the production of serologically distinct components. *Acta Virol.* 10:506-512, 1966.
6. WEBSTER, R. G.; ISACHENKI, V. S. & CARTHER, M. — A new avian Influenza virus from feral birds in the USSR: Recombination in nature? *Bull. Wild. Hlth. Org.* 51:325-332, 1974.

Recebido para publicação em 31/12/1975.