

## INFLUENZA AVIÁRIA EM AVES SILVESTRES BRASILEIRAS

### I — INQUÉRITO SOROLÓGICO ATRAVÉS DE IMUNODIFUSÃO

Magda Mary Castelo ANRAKU<sup>(1)</sup>, Wilson Carmo de FÁRIA<sup>(2)</sup> e  
Dolores Conomi TAKEYAMA<sup>(3)</sup>

#### RESUMO

Durante o período de um ano testaram-se soros de aves silvestres brasileiras pela prova de imunodifusão, a fim de evidenciar possível existência de anticorpos correspondentes ao antígeno interno, tipo específico para o vírus da Influenza A.

Dos 1.332 soros testados, 33 foram positivos, sendo que a maior percentagem dos casos positivos ocorreu no mês de abril de 1970.

Discutiu-se no presente trabalho o possível relacionamento da incidência de surtos epizooticos de Influenza aviária com as várias estações do ano.

#### INTRODUÇÃO

Vários Autores demonstraram anteriormente a estreita relação antigênica entre o vírus da Influenza humana (subtipo A<sub>2</sub>) e o vírus da Influenza de origem aviária.

Por outro lado, o vírus da Influenza tipo A, tem sido isolado de várias aves domésticas, entre as quais estão patos, perus, faisões e codornas. Tais aves sempre foram mantidas em cativeiro.

Nenhuma tentativa havia sido feita para se tentar isolar o vírus da Influenza, tipo A, de aves silvestres.

EASTERDAY & col.<sup>2</sup> sugeriram a hipótese do encontro do referido vírus no sôro de gansos selvagens capturados no continente norteamericano.

Propusemo-nos, no presente trabalho, a tentar evidenciar a possível presença de anticorpos tipo-específicos para o vírus da Influenza no sôro de aves silvestres brasileiras.

Como exporemos a seguir procuramos verificar o possível relacionamento dos surtos epizooticos de Influenza com as várias estações do ano.

#### MATERIAL E MÉTODOS

##### 1) Antígeno

Para as provas de imunodifusão foram utilizadas suspensões de vírus obtidas a partir do líquido alantóide de ovos embrionados, inoculados com o vírus N, que é o vírus da Influenza A aviária.

Após a inoculação e colheita do material, foi o líquido alantóide submetido à técnica de hemadsorção-eluição, a fim de concentrar o vírus e o material resultante foi suspenso em solução fisiológica.

Obtivemos títulos ao redor de 1:5.024 unidades hemaglutinantes.

##### 2) Soros

O sôro-padrão utilizado foi o sôro de galinha imunizado com amostra de Influenza aviária. Até o momento usamos o "Duck England 62".

Os soros de aves silvestres examinados nos foram cedidos pelo Dr. Oscar Souza Lopes, do Instituto Adolpho Lutz, de São Paulo. Fo-

(1) Auxiliar de ensino do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

(2) Técnico da Seção de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

(3) Estagiária da Seção de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

ram obtidos de pássaros encontrados nas diferentes estações de caça mantidas pelo Instituto Adolpho Lutz.

### 3) *Imunodifusão*

A técnica utilizada inicialmente foi a de CROWLE<sup>1</sup>. Algumas dificuldades surgidas no decurso de trabalho levaram-nos a introduzir algumas modificações.

Para a execução dos testes, os reagentes foram dispostos como indica a Fig. 1, de modo que cada sôro em exame foi examinado contra 1 sôro padrão, a fim de que se pudesse evidenciar a identidade das linhas de precipitação.

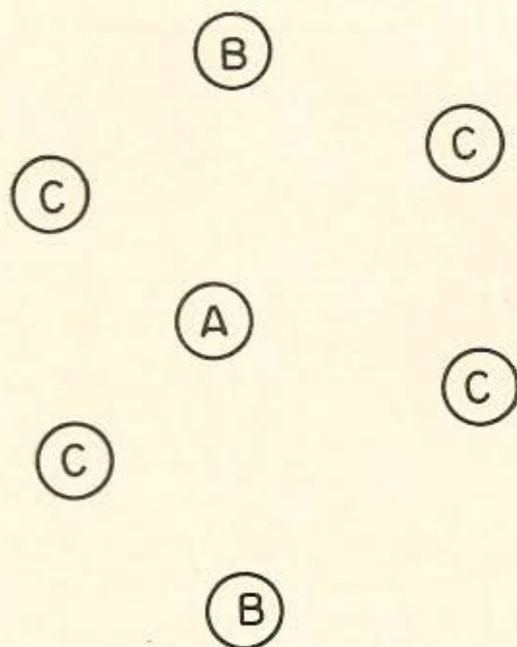


Fig. 1 — A) Antígeno + S.D.S. B) Sôro padrão. C) Soros examinados

Após havermos colocado o antígeno, adicionamos sôbre o mesmo 1 gôta de S.D.S. (Dodecyl Sulfato de Sódio), detergente que permite a desintegração e dispersão do antígeno interno (HANA & HOYLE<sup>3</sup>, SCHILD & PEREIRA<sup>5</sup>).

## RESULTADOS

No período de agosto de 1969 a setembro de 1970, examinamos 1.332 soros e os resultados estão indicados na Tabela I.

TABELA I

Resultados obtidos no exame de 1.332 soros de aves silvestres brasileiras, durante o período de 1 ano

Soros	Resultados
+	33
-	937
Inespecífico	352

Consideramos negativos todos os soros que não deram nenhuma linha de precipitação (Fig. 2).

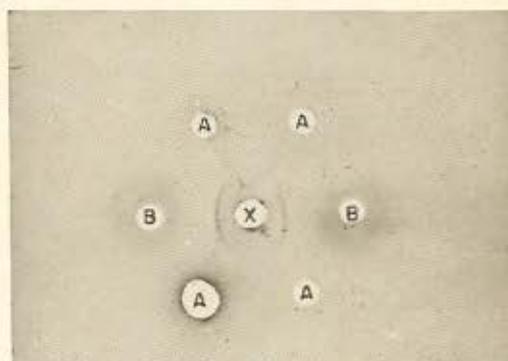


Fig. 2 — A) Soros testados (negativos). B) Sôro padrão. X) Antígeno + S.D.S.

Chamamos de precipitação inespecífica àquela que obtivemos provavelmente por difusão dos produtos resultantes da hemólise do material por nós utilizado.

Êstes soros mereceram de nossa parte uma atenção mais demorada, pois supunhamos que

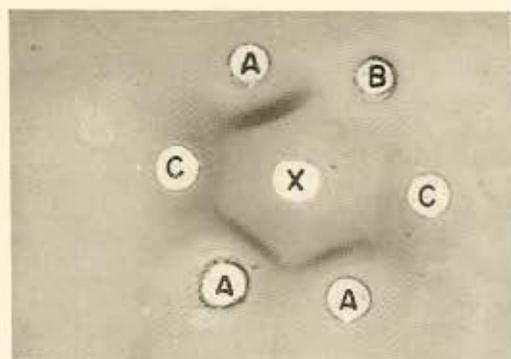


Fig. 3 — A, B) Soros testados. B) soro negativo; C) Soro padrão; X) Antígeno + S.D.S. A) Precipitação inespecífica.

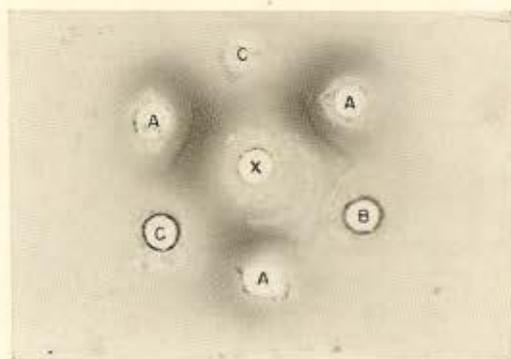


Fig. 4 — A) Soro padrão; B) Soro testado positivo; C) Soro testado (negativo); X) Antígeno + S.D.S.

TABELA I I

Pássaros do Estado de São Paulo cujos soros foram positivos

Nome científico	Nome comum	Quantidade
<i>Trichotranpis melanops</i>	Tic de topete	2
<i>Gallaria varia</i>	Tovacussu	1
<i>Dendrocolopates platinostus</i>	Família arapaçu	1
<i>Chlorophia caudata</i>	Tangará	9
<i>Coerola flavipes</i>	Cambacica	1
<i>Platycida flavipes</i>	Sabiá una	4
<i>Tachyphonus coronatus</i>	Guarundi	1
<i>Haplospiza unicolor</i>	Cigarrinha	1
<i>Xenicopsoides amaurotis</i>		1
<i>Columbigallina talpacoti</i>	Rofinha	1
<i>Zonotrichia capensis</i>	Tico-tico	1
<i>Elaenia obscura</i>		1
<i>Basilentus Hipoleucus</i>		1
<i>Elaenia Mesoleuca</i>	Guaracavas	1
<i>Pipromorpha rufiventris</i>	Família arapaçu	3
<i>Trudus leucomelas</i>	Sabiá branco	1
<i>Geothlyps aequinoctialis</i>	Piacobra	1
<i>Automolus leucophthalmus</i>		1
<i>Schiffornis virensis</i>		1

Foram também positivos os soros de dois morcegos, com a seguinte classificação: *Pycoderma bilabiatum* e *Candia perspicillata*



esta linha inespecífica poderia estar encobrindo uma linha de precipitação positiva (Fig. 3). Preferimos, por esta razão, considerá-las como um grupo à parte.

Foram considerados positivos, todos os soros que mostraram identidade com o soro e antígeno padrão (Tabela II).

A distribuição dos casos positivos segundo as estações do ano é demonstrada na Tabela III.

TABELA III

Percentagem dos soros positivos para o vírus da Influenza em aves silvestres brasileiras, segundo as estações do ano

Mês	N.º de casos	%
Março	2	6,5
Abril	29	87,0
Agosto	2	6,5

Pertenciam a pássaros capturados nos Municípios de Varjão, Casa Grande e Salesópolis, todos no Estado de São Paulo.

A localização destes municípios é dada no mapa acima.

A distribuição do número de casos pelos municípios é dada na Tabela IV.

TABELA IV

Número de soros positivos de aves silvestres de acordo com o município (Estado de São Paulo)

Mês	Município	N.º casos
Março	Itapetininga	2
Abril	Itapetininga	24
Abril	Varjão	5
Agosto	Casa Grande (Salesópolis)	2

#### DISCUSSÃO

Diante dos resultados obtidos pudemos concluir que, de fato, as aves silvestres, em particular as aves silvestres brasileiras são, realmente, um reservatório do vírus da Influenza tipo A.

Por outro lado, confirmando algumas hipóteses que tínhamos, conseguimos demonstrar que tal qual acontece com o homem, o vírus incide nas aves através de surtos epizooticos, relacionados com as estações do ano.

Assim, a Tabela III nos mostra que o maior número de casos ocorreu em abril, enquanto que nos meses de março e agosto tivemos apenas alguns casos esporádicos.

A Tabela IV nos evidencia ainda mais este fato, mostrando, que no mesmo mês de abril

ocorreu maior número de casos positivos, em municípios bastante afastados, quais sejam Itapetininga e Varjão.

Diante destes resultados, demos por terminada esta primeira parte de nosso trabalho que teve por objetivo tentar demonstrar a presença de anticorpos tipo-específicos para o vírus da Influenza no sôro de aves silvestres brasileiras.

Já iniciamos a segunda parte de nosso trabalho, qual seja, a tentativa de isolamento e identificação do referido vírus.

#### SUMMARY

##### *Avian Influenza in Brazilian birds*

Serum of Brazilian birds, obtained in different seasons of the year, were tested by immunodiffusion to reveal antibodies against the type-specific internal antigen of Influenza A vírus.

A correlation of the results to the different seasons of the year is discussed.

#### AGRADECIMENTOS

Os Autores agradecem a colaboração do Dr. Oscar Souza Lopes, da Srt.<sup>a</sup> Mitiko Fujita, do Sr. Emilio Dente, do Instituto Adolpho Lutz de São Paulo e do Dr. H. G. Pereira do National Institute for Medical Research, London, England.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CROWLE, A. J. — A simplified microdouble diffusion agar precipitin technique. *J. Lab. Clin. Med.* 52:784-787, 1958.
2. EASTERDAY, B. C.; CRAINER, D. O.; TUMOVÁ, B. & PEREIRA, H. G. — Evidence of infection with Influenza viruses in migratory waterfowl. *Nature* (London) 4:219-524, 1968.
3. HANA, L. & HOYLE, L. — The disintegration of the nucleoprotein of Influenza virus A with the production of serologically distinct components. *Acta Virol.* (Prague) 10:506-512, 1966.
4. PEREIRA, H. G.; RINALDI, A. & NARDELLI, L. — Antigenic variation among avian Influenza A viruses. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 37:553-558, 1967.
5. SCHILD, G. C. & PEREIRA, H. G. — Characterization of ribonucleoprotein and neuraminidase of Influenza A viruses by immunodiffusion. *J. Gen. Virology* 4:335-363, 1969.
6. TUMOVÁ, B. & PEREIRA, H. G. — Antigenic relationship between Influenza viruses, of human and animal origin. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 38:415-420, 1968.
7. WEBSTER, R. G. & PEREIRA, H. G. — A common surface antigen in Influenza viruses from human and avian sources. *J. Gen. Virology* 3:201-208, 1968.

Recebido para publicação em 14/12/1970.