



## OCORRÊNCIA DE ENCEFALOMIELITE EQUINA EM ITAPORANGA, ESTADO DE SÃO PAULO (BRASIL)

### II. Estudos sorológicos

Octavio Augusto PEREIRA <sup>(1)</sup>, Moacyr Rossi NILSSON <sup>(2)</sup>, Washington SUGAY <sup>(2)</sup>  
e Ewald Ernesto TRAPP <sup>(3)</sup>

#### RESUMO

Os autores pesquisaram anticorpos por reações de inibição da hemaglutinação em sôros humanos, de aves e de eqüinos e por reação de neutralização em sôros de eqüinos. Tal pesquisa resultou positiva em todos os eqüinos e numa terça parte das aves e negativa nos sôros humanos estudados para a encefalomielite eqüina do tipo leste. A pesquisa de anticorpos contra as encefalites eqüinas oeste e venezuelana foi negativa nos 125 sôros.

#### INTRODUÇÃO

A localização de focos de encefalomielite eqüina, já havia sido feita no Brasil, através de inquéritos sorológicos realizados em eqüinos (LENNETE & FOX <sup>17</sup>, CUNHA <sup>8</sup>, CARNEIRO <sup>5</sup>, SILVA & SANTOS <sup>23</sup>, PEREIRA, MOREIRA & ROJAS <sup>21</sup>) e de isolamento de vírus (CARNEIRO <sup>4</sup>, ALICE <sup>1</sup>, CUNHA <sup>7</sup>, SANTOS & col. <sup>22</sup>, AN. REP. BELÉM VÍRUS LAB. <sup>2</sup>).

Em trabalho anterior (NILSSON & SUGAY <sup>20</sup>, 1962) foi referido o isolamento e identificação de duas amostras daquele vírus no Município de Itaporanga, Estado de São Paulo, coincidente com surto epizootico em eqüinos, caracterizado por sintomatologia nervosa.

O presente trabalho tem por finalidade a comprovação sorológica da infecção em animais com história recente, sugestiva de encefalomielite, ou seus contactantes, um levantamento sorológico da população humana e a verificação da presença de anticor-

pos em aves naquele município, uma vez que várias espécies destas já têm sido incriminadas como reservatório de vírus por diferentes autores <sup>13, 15, 16</sup>.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Por ocasião do isolamento das duas amostras de vírus da encefalomielite eqüina leste, referidas em trabalho anterior <sup>20</sup> foram colhidas 7 amostras de sangue de eqüinos, com quadro clínico de encefalite, em fase de convalescência, ou contactantes; dois estavam em fase aguda, e de um deles foi isolada uma amostra de vírus. Aproximadamente um ano após foram colhidas 18 amostras de sangue de aves, sendo 2 galinhas (*Cyanocorax chrysops*), 1 juriti do mato (*Preopeleia montana*) e 15 pombos (2 *Leptotila sufazila* e 13 *Leptotila verreauxi*), e 100 amostras humanas, preferentemente dos proprietários dos eqüinos ou de seus fami-

(1) Médico Assistente da Cadeira de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

(2) Veterinário, Assistente da Secção de Enzoótias do Instituto Biológico, São Paulo.

(3) Veterinário, Chefe da Secção de Enzoótias do Instituto Biológico, São Paulo.

liares. Após a separação, os soros foram conservados congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso.

As reações de inibição da hemaglutinação foram executadas em placas especiais (MONTEIRO & PEREIRA<sup>19</sup>) segundo a técnica de CLARKE & CASALS<sup>6</sup>, empregando-se hemácias de ganso. Os antígenos foram preparados a partir de cérebro de camundongos recém-nascidos infectados, por extração com sacarose-acetona, tendo sido empregadas as seguintes amostras:

EEE — Amostra isolada em Itaporanga (NILSSON & SUGAY<sup>20</sup>).

VEE — Amostra An 10.967, protótipo do Belém Vírus Laboratory).

WEE — Amostra isolada por BRUNO-LÔBO & col.<sup>3</sup> no Rio de Janeiro.

As provas de sôro-neutralização foram realizadas com a técnica apresentada por NILSSON & SUGAY<sup>20</sup>, sendo os vírus os mesmos empregados nas reações de inibição da hemaglutinação, exceto o do tipo leste, que foi a amostra isolada em Tatuí, por CARNEIRO<sup>4</sup>.

## RESULTADOS

Os soros humanos provados em reações de inibição da hemaglutinação foram negativos para os 3 antígenos. Dos 18 soros de aves, 6 foram positivos para encefalite

eqüina leste, pela mesma prova, aparecendo os títulos obtidos e a discriminação das espécies no quadro I.

### QUADRO I

Títulos das reações de inibição da hemaglutinação (obtidos frente a 4 unidades hemaglutinantes) em soros de aves de Itaporanga (São Paulo)

Ave (espécie)	Título
<i>Preopeleia montana</i> (juriti da mata)	$\geq 1:40$
<i>Leptotila verreauxi</i> (pomba) . . . . .	$\geq 1:40$
<i>Leptotila verreauxi</i> (pomba) . . . . .	$\geq 1:40$
<i>Leptotila verreauxi</i> (pomba) . . . . .	$\geq 1:40$
<i>Leptotila verreauxi</i> (pomba) . . . . .	1:20
<i>Cyanocorax chrysops</i> (gralha) . . . . .	$\geq 1:40$

Com apenas uma exceção, os soros de eqüinos eram portadores de anticorpos para a encefalomielite eqüina leste, demonstráveis por reações de neutralização de inibição de hemaglutinação. O quadro II apresenta os títulos obtidos, a identificação dos animais, e o estado clínico na ocasião da colheita do material.

Tanto os soros de aves como os de eqüinos não se revelaram portadores de anticorpos para as encefalites eqüinas Oeste e Venezuelana.

### QUADRO II

Demonstração de anticorpos para a encefalomielite eqüina, pelas reações de neutralização e de inibição da hemaglutinação, em soros de eqüinos de Itaporanga, São Paulo

Sôro eqüino	LD <sub>50</sub> neutralizadas	Inibição da hemaglutinação *	Isolamento	Estado clínico
1	10 <sup>5.6</sup>	$\geq 40$	NR	Convalescente
2	10 <sup>3.5</sup>	40	NR	Contactante
3	$\leq 10^{2.8}$	20	Negativo	Agonizante
4	—	10	Positivo	Fase aguda
5	10 <sup>5.4</sup>	$\geq 40$	NR	Convalescente
6	10 <sup>6.0</sup>	$\geq 40$	NR	Convalescente
7	10 <sup>6.0</sup>	$\geq 40$	NR	Convalescente

\* Títulos obtidos frente a 4 unidades hemaglutinantes.

#### COMENTÁRIOS

O isolamento de 2 amostras de vírus de encefalite eqüina tipo leste, já referido<sup>20</sup>, e o encontro de anticorpos em todos os soros de eqüinos colhidos, à exceção de um, do qual conseguiu-se isolamento de vírus, associados à natureza do quadro clínico, parece-nos caracterizar o surto epizootico como sendo provocado por aquêlê vírus.

Devido à discrepância dos resultados obtidos por diferentes autores na pesquisa de anticorpos em soros humanos, incluímos 100 amostras dêstes soros. Nossos resultados se superpõem aos obtidos por FOTHERGILL<sup>11</sup>, LIAO<sup>17</sup>, PEREIRA, MOREIRA & ROJAS<sup>21</sup> e outros, que não puderam demonstrar a presença de anticorpos humanos, após surtos epizooticos, ao contrário de HOWITT & col.<sup>13</sup>, CAUSEY<sup>2</sup> e outros que encontraram sinais sorológicos de infecção humana coexistindo com surtos em eqüinos.

A porcentagem relativamente grande (33,3%) de soros positivos em aves sugere a possibilidade de que êstes animais possam ser reservatórios naturais de vírus naquela região.

#### SUMMARY

*Equine encephalitis in Itaporanga, State of São Paulo (Brazil). II. Serological studies.*

125 sera (100 human, 18 avian and 7 equine) were studied. Hemagglutination inhibition test has been performed in human, avian and equine sera. Also, a neutralization test was done but only in equine sera.

Positive reactions were found in all the equines but one, and in one third of the birds studied when tested against Eastern equine encephalitis antigen. All the sera failed to show antibodies when tested against Western and Venezuelan equine encephalitis.

#### REFERÊNCIAS

1. ALICE, F. J. — Encefalomielite eqüina na Bahia, Estudo de três amostras isoladas. Rev. bras. Biol. 11:125-144.
2. ANNUAL REPORT BELEM VIRUS LABORATORY, BELEM, PARÁ, BRAZIL — 1960.
3. BRUNO-LOBO, G.; BRUNO-LOBO, M.; TRAVASSOS, J.; PINHEIRO F., F. & PAZIN, I. P. — Estudos sôbre os Arbovírus. III. Isolamento de um vírus sorolôgicamente relacionado ao subgrupo WESTERN-SINDBIS, de um caso de encefalomielite eqüina ocorrido no Rio de Janeiro. An. Microb. 9:183-196, 1961.
4. CARNEIRO, V. — A encefalomyelite infecciosa dos equideos no Brasil. Arch. Inst. Biol. 8:115-134, 1937.
5. CARNEIRO, V. — Novos focos de encefalomielite infecciosa do cavalo em São Paulo, identificados pelas provas de sôro-neutralização. Arch. Inst. Biol. 17:183-198, 1946.
6. CLARKE, D. H. & CASALS, J. — Techniques for hemagglutination and hemagglutinationinhibition with arthropod-borne viruses. Amer. Jour. trop. Med. & Hyg. 7: 561-573, 1958.
7. CUNHA, R. — Estudos sôbre uma amostra de vírus da encefalomielite eqüina isolada de material proveniente de Recife. Bol. Soc. bras. Med. Vet. 14:201, 1945.
8. CUNHA, R. — Verificação de anticorpos para o vírus "este" da encefalomielite eqüina em sôro de cavalos no Nordeste Brasileiro. Rev. bras. Biol. 3:425-430, 1943.
9. CUNHA, R.; RIBEIRO, L. & PASSOS, W. — Ocorrência da encefalomielite eqüina no Município de Campos, com verificação de anticorpos neutralizantes para a amostra "este" em sôro de equideos. Bol. Soc. bras. Med. Vet. 17:21-36, 1948.
10. EKLUND, C. M. & BLUMSTEIN, A. — The relation of human encephalitis in horses. Jour. Amer. Med. Assoc. 111:1734-1735, 1938.
11. FOTHERGILL, L. R.; DINGLE, J. H.; FARBER, S. & CONNERLY, M. L. — Human encephalitis caused by the virus of eastern variety of equine encephalomyelitis. New England Jour. Med. 219:411.
12. HOWITT, B. F.; BISHOP, L. K.; GORRIE, R. H.; KISSLING, R. E.; HOUSER, G. H. & TRUETING, W. L. — An outbreak of equine encephalomyelitis. Eastern type in South-Western Louisiana. Proc. Soc. exper. Biol. & Med. 68:70-72, 1948.
13. JUNGHER, E. L.; HELMBOLT, C. F.; SARTRIANO, S. F. & LUGINBUHL, R. E. — Investigation of eastern equine encephalomyelitis. III. Pathology in pheasants and incidental observation in geral birds. Am. J. Hyg. 67:10-20, 1958.
14. KISSLING, R. E. — Host relationship of the arthropod-borne encephalitides. Ann. New York Acad. Sci. 70:320-326, 1958.

---

PEREIRA, O. A.; NILSSON, M. R.; SUGAY, W. & TRAPP, E. E. — Ocorrência de encefalomielite eqüina em Itaporanga, Estado de São Paulo (Brasil). II. Estudos sorológicos. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 6:1-4, 1964.

---

15. KISSLING, R. E.; CHAMBERLAIN, R. W.; SIKES, R. K. & EDISON, M. E. — Studies on the North-American arthropod-borne encephalitides. III. Eastern equine encephalitis in wild bird. Amer. Jour. Hyg., 60:251-265, 1954.
16. KISSLING, R. E.; STAMM, D. D.; CHAMBERLAIN, R. W. & SUDIA, W. D. — Birds as winter hosts for eastern and western equine encephalitis viruses. Amer. Jour. Hyg. 66:42-47, 1957.
17. LENNETTE, E. & FOX, J. — Anticorpos neutralizantes para a amostra leste de vírus da encefalomielite eqüina no Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 38:85-92, 1943.
18. LIAO, S. J. — Eastern equine encephalitis in Connecticut: serological survey in pheasant farmers. Yale J. Biol. & Med. 27:287-296, 1955.
19. MONTEIRO, E. V. L. & PEREIRA, O. A. C. — Batoques de polietileno no preparo de placas para hemaglutinação e fixação do complemento. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 3:209-212, 1961.
20. NILSSON, M. R. & SUGAY, W. — Ocorrência de encefalomielite eqüina em Itaporanga, no Estado de São Paulo. Arq. Inst. Biol. 29:63-68, 1962.
21. PEREIRA, O. A.; MOREIRA, L. P. & ROJAS, E. — Encefalomielite eqüina em Conchas, Estado de São Paulo. Incidência de anticorpos inibidores da hemaglutinação no homem e em eqüídeos. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 4:149-151, 1962.
22. SANTOS, J. A.; LESSA, J. & PASSOS, W. — Estudos sobre um foco de encefalomielite eqüina (vírus "este") observado no Distrito Federal. Anais do 1.º Congr. Inter-Amer. Med. 11, 1946.
23. SILVA, R. A. & SANTOS, J. A. — Nota sobre um surto de encefalomielite eqüina observado no Estado de Alagoas. Veterinária, Rib. 11:39-43, 1955.

---

Recebido para publicação em 16 setembro 1963.