

IMPORTANCIA DAS PERDIZES (*RHYNCHOTUS RUFESCENS*) COMO FONTE POTENCIAL DE VÍRUS PATOGENICO DA DOENÇA DE NEWCASTLE PARA AVES DOMÉSTICAS

A.C. Paulillo¹, G.S. da Silva¹, L. Doretto Junior², N.M.S.Q. Gama³, M. Nishizawa¹, F. Schocken-Iturrino¹

¹Universidade Estadual Paulista, Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/nº, CEP 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. E-mail: paulillo@fcav.unesp.br

RESUMO

Foram realizados estudos para esclarecimento do real papel exercido pela perdiz (*Rhynchotus rufescens*), no plano epidemiológico, dentro da perspectiva de fonte de infecção do vírus da doença de Newcastle (VDN). Para tanto, foram empregadas aves SPF ("specific-pathogen-free") conviventes com perdizes inoculadas com uma estirpe patogênica (velogênica viscerotrópica) do VDN ($\text{DIE}_{50} = 10^{8.15} / 0,1 \text{ mL}$), pela via óculo-nasal. Cada grupo foi constituído por 6 aves SPF e 6 perdizes. Decorridos cinco (grupo 1), 15 (grupo 2) e 30 dias (grupo 3) após inoculação das perdizes com VDN, 6 aves SPF foram alojadas junto a cada grupo de perdizes, havendo contato direto entre as espécies. Decorridos também 5, 15 e 30 dias após o desafio das perdizes com o VDN, foram colhidos suabes de cloaca das perdizes, para o isolamento viral (vírus patogênico) em embriões de galinhas SPF. As perdizes apresentaram-se refratárias à doença clínica com o VDN. Nestas, o isolamento viral ocorreu de 5 até 15 dias após o desafio com o VDN, demonstrando-se assim o estado de portador do VDN da perdiz, passados até 15 dias da infecção experimental com este patógeno. Já 100% das aves SPF conviventes com perdizes infectadas com o VDN, passados agora 5 (grupo 1) e 15 dias (grupo 2), morreram de 4 a 8 dias após o contato direto entre as espécies. Nestas, os sintomas clínicos e lesões sugestivos da enfermidade de Newcastle foram confirmados pelo reisolamento e identificação do VDN, a partir de suabes de traquéia e cloaca. Desse modo, ficou evidente a transmissão de vírus patogênico (VDN) da perdiz, decorridos até 15 dias da infecção experimental com este patógeno, para aves SPF conviventes, o que vem realçar a importância da perdiz (*Rhynchotus rufescens*), do ponto de vista epidemiológico, como fonte potencial de infecção do VDN para aves domésticas em convívio ou próximas a sua criação.

PALAVRAS-CHAVE: Perdiz, *Rhynchotus rufescens*, doença de Newcastle, epidemiologia, transmissão, estado de portador.

ABSTRACT

RELEVANCE OF PARTRIDGE (*RHYNCHOTUS RUFESCENS*) A POTENTIAL SOURCE OF PATHOGENIC VIRUS OF NEWCASTLE DISEASE TO DOMESTIC FOWL. Studies were made to clarify the real role that was played by the partridge (*Rhynchotus rufescens*) in the epidemiological plan, under the perspective of its being an infection source of the Newcastle disease virus (NDV). For this, the study used specific-pathogen-free birds (SPF) that were housed with partridges inoculated with a pathogenic strain (velogenic viscerotropic) of NDV ($\text{DIE}_{50} = 10^{8.15} / 0,1 \text{ mL}$), by the ocular-nasal via. Each group was composed by 6 SPF birds and 6 partridges. At 5, 15 and 30 days after the inoculation of the partridges with NDV, 6 SPF birds were put together with each group of partridges, so that there was a direct contact between the species. After 5, 15 and 30 days since the challenge of the partridge with NDV, the samples were collected by means of cloacal swabs of the partridge for the viral isolation (pathogenic virus) in SPF embryos. There was no clinical disease in the partridges inoculated with NDV. Therefore, there was viral isolation from 5 to 15 days after the challenge with the NDV, demonstrating, this way the state of carrier of the partridge NDV which

²Laboratório de Apoio Animal – LARA, Campinas, São Paulo, Brasil.

³Instituto Biológico, Bastos, São Paulo, Brasil.

happened until 15 days of the experimental infection with this pathogen. So, 100% of the SPF birds which were housed with the NDV infected partridges, after 5 (group 1) and 15 days (group 2), died from four to eight days after the direct contact among species. This way, the transmission of the pathogenic virus of the partridges was evident until 15 days of the experimental infection with this pathogen (NDV) for the SPF birds that were housed together, and that calls the attention to the importance of the partridges from the epidemiological point of view as potential source of infection of the NDV to domestic birds that housed with these specie or near this breeding.

KEY WORDS: Partridges, *Rhynchotus rufescens*, Newcastle disease, epidemiology, transmission, state of carrier.

INTRODUÇÃO

A doença de Newcastle é um dos principais problemas sanitários da avicultura industrial, em virtude das grandes perdas econômicas que ocasiona (PAULILLO *et al.*, 1982; PAULILLO & DORETTO JUNIOR, 2000). Faz parte da "lista A" das enfermidades infecciosas do OFFICE INTERNATIONAL DES ÉPIZOOTIES OIE (1992), que reúne as moléstias, cujas consequências sócio-econômicas podem ser graves e de grande importância no comércio internacional de aves e seus subprodutos, sendo seus focos de notificação compulsória. Dada a sua relevância no âmbito da patologia aviária, principalmente, no que tange à imunidade e à epidemiologia, essa enfermidade foi amplamente estudada em reprodutoras, frangos de corte e poedeiras comerciais. Entretanto, o papel de aves ornamentais, migratórias, silvestres, semi-domésticas e outras espécies na perpetuação do vírus da doença de Newcastle (VDN) no ambiente constitui ainda um campo de estudo pouco explorado em nosso meio, seja enfocando-se o agente isoladamente, seja particularizando-se características de imunoproteção. Tal fato adquire particular importância quando se constata, contemporaneamente, um crescente aumento da exploração zootécnica de espécies aviárias, até então consideradas parciais ou totalmente silvestres, não apenas em relação à fauna brasileira, como também à fauna autóctone de outros países. Nesse contexto, insere-se a espécie *Rhynchotus rufescens*, popularmente, conhecida como perdiz, cuja criação comercial, visando o mercado de carnes especiais, vem se desenvolvendo no Brasil, possivelmente devido ao potencial de retorno econômico. No que concerne ao comportamento da espécie *R. rufescens* quanto à condição de portador e/ou de transmissor de VDN, as literaturas nacional e internacional compulsadas são escassas. Contudo, no Brasil, SILVA (2000), demonstrou o estado de portador de VDN da perdiz, decorridos até 15 dias da infecção experimental com este patógeno. Nesse aspecto, portanto, nada se sabe a respeito da importância das perdizes, no plano epidemiológico, como disseminadora do VDN ou fator desencadeante de surtos da enfermidade para populações de frangos de corte, poedeiras comerciais e outras espécies de

aves domésticas, semi-domésticas ou silvestres conviventes ou próximas a seu habitat natural e/ou em confinamento. Nesse prisma, a efetiva realização de estudos sobre o tema torna-se relevante, especialmente em face da necessidade de esclarecer o real papel exercido pela espécie *R. rufescens*, dentro da perspectiva de fonte de infecção do VDN, trazendo-se assim contribuições para melhor caracterização da epidemiologia e do controle do agente. Para tanto, tentativas de isolamento viral em ovos embrionados, a partir de suabes traqueais e/ou cloacais colhidos tanto de perdizes inoculadas experimentalmente com uma estirpe patogênica, do VDN, quanto de aves SPF conviventes, complementar-se-ão aos dados obtidos com as provas de desafio e os testes sorológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações, aves experimentais e manejo

O experimento foi realizado no Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, *campus* de Jaboticabal (FCAV-UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil e no Laboratório de Apoio Animal – LARA, Campinas, São Paulo, Brasil.

Foram utilizadas aves SPF conviventes com perdizes inoculadas com uma estirpe patogênica do VDN. Cada grupo foi constituído por 6 aves SPF e 6 perdizes. Em especial, foram empregadas aves SPF de 30 dias de vida e perdizes, sexadas, fêmeas, com 90 dias de idade, sem histórico de vacinação ou de contato com o VDN, comprovado pelo teste de inibição da hemaglutinação (HI).

Decorridos 5 (grupo 1), 15 (grupo 2) e 30 dias (grupo 3) após a inoculação das perdizes com uma estirpe virulenta do VDN, 6 aves SPF foram alojadas junto a cada grupo de perdizes, havendo contato direto/intimo entre as espécies, para o esclarecimento do real papel exercido pela espécie *R. rufescens*, na condição de possível disseminadora do VDN para aves domésticas conviventes. As aves permaneceram em câmaras de isolamento com pressão negativa, ar filtrado, água e alimento "*ad libitum*".

Desafio

As perdizes de todos os grupos foram inoculadas com uma estirpe patogênica (velogênica viscerotrópica) do VDN, com um tempo médio de morte embrionária (TME) e um índice de patogenicidade intracerebral em pintos de 1 dia de idade (IPIC), respectivamente, de 48h e 1,78. Seu título foi expresso através da sua dose infecciosa 50% (DIE₅₀) em embriões de galinhas SPF, o qual foi de 10^{8,15}/0,1 mL. Assim, as perdizes de cada grupo foram desafiadas inoculando-as com 200 mL de uma suspensão de vírus patogênico (VDN), pela via óculo-nasal, em conformidade com PAULILLO (1989) e de acordo com o que recomenda o CODE OF FEDERAL REGULATIONS (1993). Para controle da patogenicidade da estirpe virulenta do VDN, foi usado um grupo de aves SPF. Após o desafio em cada grupo, em aves SPF conviventes com perdizes desafiadas com o VDN, foi realizado registro de sinais clínicos (morbidade e mortalidade) e necropsia em aves mortas.

Teste de inibição da hemaglutinação (HI)

Em amostras de soros obtidas das aves SPF e das perdizes desafiadas, foi realizada a pesquisa de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI), com antígenos vivos contendo 4 unidades hemaglutinantes (UHA). Foi utili-

zado o método b, empregando-se microtécnica padronizada por CUNNINGHAM (1971). O título foi expresso (em log₂) mediante multiplicação do número de unidades hemaglutinantes usadas pela recíproca da maior diluição que inibia completamente a hemaglutinação.

Isolamento viral

Tanto em perdizes desafiadas quanto em aves SPF conviventes, respectivamente, passados 5, 15 e 30 dias após o desafio com o VDN e decorridos 5 a 6 dias após o alojamento das aves SPF junto a cada grupo de perdizes desafiadas (grupos 1 a 3), foram usados suabes de traquéia e/ou de cloaca.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aves SPF, utilizadas para o controle da patogenicidade da estirpe virulenta do VDN, morreram 3 dias após o desafio. Sinais clínicos e lesões macroscópicas foram indicativos da enfermidade de Newcastle, seguido do reisolamento e identificação do VDN.

Já 100% das perdizes de cada grupo não apresentaram sinais clínicos e lesões sugestivos da enfermidade de Newcastle, mostrando-se refratárias à doença clínica com o VDN.

Tabela 1 - Resultado do reisolamento da estirpe velogênica viscerotrópica, do VDN, das perdizes (*Rhynchotus rufescens*), antes e depois do desafio.

Aves	Reisolamento viral da cloaca			
	VD	5DDD	15DDD	30DDD
Perdizes (<i>Rhynchotus rufescens</i>)	-	+	+	-

VD = Véspera do desafio.

DDD = Dias depois do desafio realizado aos 90 dias de vida das perdizes.

+ = Amostra positiva.

- = Amostra negativa.

Tabela 2 - Resultados da observação clínica, necropsia, reisolamento da estirpe velogênica viscerotrópica, do VDN, e sorologia (HI) das aves SPF conviventes com perdizes (*Rhynchotus rufescens*), inoculadas com o VDN, passados cinco (grupo 1), 15 (grupo 2) e 30 dias (grupo 3).

Parâmetros avaliados	Aves SPF conviventes com perdizes inoculadas com o VDN		
	5 DDD	15 DDD	30 DDD
Sinais clínicos sugestivos da DN	+	+	-
Mortalidade (%)	100	100	0
Lesões sugestivas da DN	+	+	-
Reisolamento do VDN (T e C)	+	+	-
Sorologia (HI)*	+	+	-

DDD = Dias depois do desafio das perdizes com o VDN.

DN = Doença de Newcastle.

T = suabe de traquéia.

C = suabe de cloaca.

HI = Teste de inibição da hemaglutinação. + = positivo = presente (s). - = negativo = ausente (s).

* Título média geométrica = log₂ 6,00.

* Passados quatro a oito dias depois do contato direto ou íntimo entre as espécies.

Os resultados do reisolamento da estirpe velogênica viscerotrópica, do VDN, das perdizes antes e após o desafio, se encontram na Tabela 1.

Em perdizes, o isolamento viral da cloaca foi de 5 até 15 dias depois do desafio, enfatizando-se assim a susceptibilidade desta espécie ao VDN.

Assim, ficou caracterizado o estado de portador de VDN desta espécie animal, estando compatível com os achados de SILVA (2000).

Os dados em questão induzem a reflexão para um aspecto epidemiológico de fundamental importância na enfermidade de Newcastle, qual seja, o estado de portador de VDN da perdiz.

Os dados apresentados na Tabela 2 mostram que 100% das aves SPF conviventes com perdizes infectadas com uma estirpe patogênica do VDN, decorridos 5 (grupo 1) e 15 dias (grupo 2), morreram de 4 a 8 dias após o contato direto ou íntimo entre as espécies. Os sintomas clínicos e lesões foram compatíveis com a enfermidade de Newcastle, confirmados pelo reisolamento e identificação do VDN, além do título médio de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI) obtido – da ordem de $\log_2 6,00$.

Por tais resultados, é certo que as perdizes inoculadas com VDN, embora não tenham contraído a doença clínica, eliminaram vírus em quantidade suficiente para induzir infecção e doença clínica em aves SPF conviventes. Além disso, obviamente, as aves SPF conviventes com perdizes inoculadas com o VDN não tinham imunidade para impedir a infecção e o aparecimento da sintomatologia clínica sugestiva desta moléstia. Em adição, em aves domésticas, algumas estirpes velogênicas do VDN causam mortalidade, em seguida à introdução de apenas pequena quantidade de unidades infecciosas de vírus; outras necessitam de 1 milhão ou mais de unidades infecciosas de vírus para induzir mortalidade (BEARD & HANSON, 1984).

Pelos achados deste trabalho, empregando-se aves em contato direto com perdizes inoculadas com o VDN, ficou patente a transmissão de vírus desta última espécie, decorridos até 15 dias da infecção experimental com este patógeno, para aves SPF conviventes, o que vem realçar a importância da perdiz (*R. rufescens*), do ponto de vista epidemiológico, como fonte potencial de difusão do VDN para aves domésticas em convívio ou próximas a sua criação.

Diante desses resultados, não restam dúvidas de que a perdiz (*R. rufescens*), na condição de fonte de infecção do VDN, ainda que em potencial, venha a se transformar em um ponto de estrangulamento para a produção avícola, ao menos da óptica desse estudo, no qual esta espécie permaneceu em convívio com aves SPF.

Por outro lado, aves SPF conviventes com perdizes inoculadas com o VDN, decorridos agora 30 dias

(grupo 3), não sucumbiram após contato direto entre as espécies (Tabela 2). Ademais, não mostraram sinais clínicos, entre eles, mortalidade, e tão pouco lesões sugestivos da enfermidade de Newcastle, comprovados pela falta de reisolamento viral e títulos séricos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (HI) nulos, o que reforça a idéia da ausência de atividade ou replicação viral e, conseqüentemente, de perdizes, na condição de portador e/ou fonte de infecção do VDN.

É pertinente notar que o esclarecimento de importantes aspectos epidemiológicos da enfermidade de Newcastle, entre eles, o papel representado pelas perdizes (*R. rufescens*), como fonte potencial de infecção do VDN para aves domésticas conviventes, abre novas fronteiras para investigação desta virose em outras espécies aviárias domésticas, semi-domésticas, silvestres e/ou migratórias, em confinamento ou não.

CONCLUSÕES

Sobre a base deste estudo pode extrair-se as seguintes conclusões:

1. As perdizes mostraram-se susceptíveis à infecção experimental com o VDN.
2. As perdizes mostraram-se refratárias à enfermidade clínica com o VDN.
3. Foi demonstrado o estado de portador de VDN da perdiz, decorridos até 15 dias da infecção experimental com este patógeno.
4. Foi comprovada a importância da perdiz (*R. rufescens*), do ponto de vista epidemiológico, como fonte potencial de infecção do VDN para aves SPF conviventes, decorridos até 15 dias da infecção experimental com este patógeno.

AGRADECIMENTOS

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Proc. nº 95/4391-4- pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIA

- BEARD, C.W. & HANSON, R.P. Newcastle disease. In: HOFSTAD, M.S.; BAMES, H.J.; CALNEK, B.W.; REID, W.M.; YODER, H.W. (Eds.). *Diseases of poultry*. 8.ed. Ames: Iowa State University Press, 1984. p.452-470.
- CODE OF FEDERAL REGULATIONS. *Animal and animal products*. Washington: National Archive and Records Administration, 1993, 818p.
- CUNNINGHAM, C.H. *Virologia practica*. 6.ed. Zaragoza: Acribia, 1971, 260p.

- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Newcastle disease. In: TRUSZCZYNSKI, M. & BLANCOU J. *International Animal Health Code - Mammals, Birds & Bees*. 6.ed. Paris: OIE, 1992. p.157-65.
- PAULILLO, A.C. Avaliação da resposta imune e da performance zootécnica de poedeiras vacinadas experimentalmente contra a doença de Newcastle. Jaboticabal, 1989. 116f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal: 1989.
- PAULILLO, A.C. & DORETTO JUNIOR, L. Doença de Newcastle. In: BERCHIERI JÚNIOR, A. & MACARI, M. (Eds.). *Doenças das aves*. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2000, p.267-81.
- PAULILLO, A.C.; PAULILLO, A.C.; PINTO, A.; ARIKI, J.; BERCHIERI JUNIOR, A. Doença de Newcastle. I. Estudo experimental da resposta imune às estirpes vacinais B1 e LaSota. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v.19, n.1, p.9-43, 1982.
- SILVA, G.S. Aspectos imunológicos, clínicos e zootécnicos da vacinação em perdizes (*Rhynchotus rufescens*) contra a enfermidade de Newcastle. Pesquisa do estado de portador do vírus e sua importância epidemiológica. 73p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal: 2000.

Recebido em 12/6/05

Aceito em 30/6/05