

INVESTIGAÇÃO SOBRE INFECÇÕES PELO VÍRUS DA DOENÇA DE NEWCASTLE EM PINGÜINS-DE-MAGALHÃES NA REGIÃO COSTEIRA DO RIO GRANDE DO SUL (RS)

NUNES, C.F.^{1*}; VILELA, C. DE O.¹; VARGAS, G.D.¹; MUNHOZ, L.S.¹; FINGER, P.F.¹; SIEDLER, B.S.¹; FISCHER, G.¹; FERREIRA, L.N.¹; LEITE, A.T.M.²; FILHO, R.P.S.²; HÜBNER, S.O.¹.

Resumo

O vírus da doença de Newcastle (VDN), considerado um dos mais contagiosos, tem sido isolado na maioria das espécies de aves de vida livre e doméstica em todo o mundo. As aves migratórias são importante alvo de investigações, principalmente no que se refere às suas relações com a disseminação do VDN. Este trabalho visou investigar a ocorrência de infecção pelo VDN em Pingüins de Magalhães (*Spheniscus magellanicus*), e um possível papel dessa espécie na disseminação desse vírus. Para avaliar esta hipótese, amostras de soro de 90 pingüins-de-Magalhães coletadas entre agosto de 2005 e dezembro de 2006, independentemente da presença de sinais clínicos, foram testadas para a presença de anticorpos pela técnica de inibição da hemaglutinação, todos foram identificados com uma anilha contendo um número de identificação. O volume coletado foi em média de 1ml. O sangue foi centrifugado e o soro separado e submetido aos testes sorológicos para a pesquisa de anticorpos específicos. Todos os soros analisados para a presença de anticorpos para o vírus da DN através do teste de HI resultaram negativo. Embora o resultado tenha sido negativo para estas aves, não significa que o vírus não ocorra na espécie e que esta não possa ter importância na epidemiologia da doença.

Introdução

Animais de vida livre podem servir de reservatórios para diversos patógenos que infectam animais de produção, animais de companhia e também humanos. Tal aspecto faz com que exista uma preocupação crescente com a obtenção de conhecimento sobre as doenças que os afetam. Particularmente as aves de vida livre, devido suas características biológicas, são capazes de disseminar microorganismos patogênicos facilmente, podendo atuar como carreador biológico ou mecânico, ou ainda como carreador e hospedeiro de ectoparasitos infectados (Hubalék, 2004). Assim, temos as aves migratórias como o principal alvo de estudos de pesquisadores, principalmente no que se refere às suas relações com a disseminação de importantes doenças virais, como a de Newcastle (DN), que está na lista A das doenças infecciosas da *Office International des Epizootie - OIE - (2000)*, sendo uma enfermidade de notificação obrigatória ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

A DN possui distribuição mundial, é considerada uma das infecções virais mais contagiosas, espalhando-se rapidamente entre aves suscetíveis (Murphy *et al.*, 1999). Possui grande importância econômica, uma vez que provoca perdas

¹UFPEl, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Virologia e Imunologia, Pelotas, RS. CEP 96010-900.

²FURG, CRAM, Rio Grande, RS. CEP 96200-970

pela morte dos animais, além de redução na produção de ovos (Friend & Franson, 1999). Infecções pelo VDN resultam em alterações respiratórias, circulatórias, gastrointestinais e nervosas, que variam conforme o tropismo e a virulência da cepa (Murphy *et al.*, 1999). A transmissão pode ser tanto horizontal quanto vertical (Murphy *et al.*, 1999). A disseminação é favorecida pela relativa estabilidade do vírus, seu grande número de hospedeiros, pela presença do vírus em todas as excreções e secreções por um longo período em animais sobreviventes à infecção (Lima *et al.*, 2004). Mais de 241 espécies de aves, representando 27 das 50 ordens de aves, já foram identificadas como suscetíveis à infecção natural ou experimental pelo VDN (Oliveira, 2003).

O Pingüim-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) é uma ave migratória que vive na costa da América do Sul. No inverno, os pingüins deslocam-se até o sul do Brasil, através das correntes marinhas (Willians, 1995) podendo ser encontrados nas praias do RS e regiões adjacentes, onde param para descansar, geralmente encontrando-se debilitados (Ruoppolo, 1999). No RS dois centros são encarregados no recebimento, reabilitação e re-introdução dos pingüins-de-Magalhães, o Centro de Recuperação de Animais Marinhos (CRAM), do Museu Oceanográfico da Fundação Universidade de Rio Grande (FURG) e o Centro de Reabilitação de Animais Marinhos (CERAM) do Centro de Estudos Costeiros Limnológicos e Marinhos (CECLIMAR) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Este trabalho visou investigar a ocorrência de infecção pelo VDN em Pingüins de Magalhães e um possível papel dessa espécie na disseminação desse vírus.

Material e Métodos

Animais

Foram coletadas amostras de soro de 90 pingüins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*), independentemente da presença de sinais clínicos, os quais foram acolhidos nos dois centros de reabilitação de animais marinhos do estado (CRAM e Ceclimar) no período compreendido entre agosto de 2005 e dezembro de 2006. Todos os pingüins foram identificados com uma anilha contendo um número de identificação.

Coleta de sangue

O animal devidamente contido teve o sangue coletado da veia metatarsal medial. A coleta foi feita através de punção com agulhas estéreis, deixando-se o sangue gotejar em tubos. O volume coletado foi em média de 1ml. O sangue foi centrifugado e o soro separado e submetido aos testes sorológicos para a pesquisa de anticorpos específicos.

Inibição da Hemaglutinação

Anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle foram pesquisados através da prova de inibição da hemaglutinação (HI). Para tal os soros das aves foram diluídos em PBS (pH 7.0-7.2) e incubados com o VDN (4 unidades hemaglutinantes) durante 30 minutos a 20 °C. A seguir, foi adicionada uma suspensão de hemácias de galinha a 1%. A leitura foi procedida quando todas as hemácias controles estavam sedimentadas. O título de anticorpos foi considerado como a maior diluição capaz de inibir completamente a hemaglutinação viral. O

¹UFPeI, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Virologia e Imunologia, Pelotas, RS. CEP 96010-900.

²FURG, CRAM, Rio Grande, RS. CEP 96200-970

título de inibição da hemaglutinação (HI) maior ou igual a 1:16, foi considerado como uma amostra "reagente". A validade dos resultados foi assegurada através de um soro controle negativo e de um soro controle positivo (obtido de galinhas) com título de anticorpos conhecidos. Amostras reagentes foram adsorvidas com hemácias de galinha a 50%, para retirar inibidores inespecíficos e então testadas novamente por HI.

Resultados e Discussão

Todos os soros analisados para a presença de anticorpos para o vírus da DN através do teste de HI resultaram negativo. Três amostras de soro de pingüins foram reagentes para o vírus da doença de Newcastle a diluição 1:16, mas, após serem submetidas a tratamento com hemácias de galinha e re-testadas, apresentaram-se negativas.

Ainda não foi descrita na literatura a ocorrência do vírus ou de anticorpos para a DN em pingüins-de-Magalhães, mas alguns trabalhos realizados com pingüins de outras espécies descrevem a presença de anticorpos para o vírus em determinadas populações. Morgam (1981-a) demonstrou a presença de anticorpos para o vírus da doença de Newcastle em pingüins Adelie (*Pygoscelis adeliae*), na Antártica e também foi demonstrada a soropositividade para o VDN em algumas espécies de pingüins da região subantártica, na ilha Macquaire (Morgan 1981-b).

Para impedir a disseminação e combater a Doença de Newcastle é importante que se conheçam as áreas de risco, as espécies de aves envolvidas e as formas pelas quais o vírus pode ser carregado para áreas suscetíveis. Somente dessa maneira podem ser elaboradas medidas adequadas (Friend and Franson, 1999). Embora o resultado tenha sido negativo para estas aves, não significa que o vírus não ocorra na espécie e que esta não possa ter importância na epidemiologia da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRIEND, Milton; FRANSON, J. C. **Field manual of wildlife diseases: general field procedures and diseases of birds.** Washington D. C.: USGS, 1999. 426p.

GAUTHIER-CLERC, M.; ETERRADOSSI, N.; TOQUIN, D.; GUITTET, M.; KUNTZ, G.; MAHO, Y. Serological survey of the King penguin, *Aptenodytes patagonicus*, in Crozet Archipelago for antibodies to infectious bursal disease, influenza A and Newcastle diseases viruses. **Polar Biology**. 25, p. 316-319, 2002.

HUBÁLEK, Zdenek. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 4, n. 4, 2004.

LIMA, F. S.; SANTIN, E.; PAULILLO, ^a C.; DORETTO, L. J.; MORAES, V. M. B.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) as Newcastle diseases virus carrier. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, n. 7, p 483-484, 2004.

¹UFPEl, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Virologia e Imunologia, Pelotas, RS. CEP 96010-900.

²FURG, CRAM, Rio Grande, RS. CEP 96200-970

MORGAN, I. R. AND WESTBURY, H. A. Virological studies of Adelie penguins (*Pygoscelis adeliae*) in Antarctica. **Avian Diseases**, v. 25, n. 4, p. 1019-1026, 1981(a).

MORGAN, I. R.; WESTBURY, H. A.; CAPLE, I. W.; CAMPBELL, J. A survey of virus infection in sub-antarctic penguins on Macquaire Island, southern ocean. **Australian Veterinary Journal**, vol. 57, July, p. 333-334, 1981(b).

MURPHY, F.A.; GIBBS, E.P.J.; HORZINEK, M.C.; STUDDERT, M.J. **Veterinary Virology**, 3 ed. San Diego: Academic Press, 1999, 629p.

Office International des Epizooties. World Organization for animal health. Manual of Standard for diagnostic tests and vaccines. 2000. 1222p.

OLIVEIRA, J.G. J.; PORTZ, C.; LOUREIRO, B. O.; SCHIAVO, P. A.; FEDULLO, L. P. L.; MAZUR, C.; ANDRADE, C. M. Vírus da doença de Newcastle em aves não vacinadas no estado do Rio de Janeiro. **Ciência Rural**, v33, n 2, p. 2003.

RUOPPOLO, Valéria; SANTOS, M. C. O. Aves e mamíferos marinhos visitantes da costa brasileira. **Clínica Veterinária**, n. 20, p. 37-40, 1999.

WILLIAMS, Tony D. **The Penguins: Spheniscidae**. New York: Oxford University Press, 1995, 295p.

¹UFPEl, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Virologia e Imunologia, Pelotas, RS. CEP 96010-900.

²FURG, CRAM, Rio Grande, RS. CEP 96200-970