

SURTO DA DOENÇA DE NEWCASTLE, NO RIO GRANDE DO SUL, PROVOCADO POR VACINA CONTRA O EPITELIOMA CONTAGIOSO DAS AVES¹

ERB FALLER DA COSTA PEREIRA², SYRTHO FERREIRA DA COSTA³
e LÍVIA MARIA GIOVINE ARAUJO⁴

SINOPSE.— Descreve-se um surto de doença de Newcastle em galinhas, provocado por vacina contaminada contra o epiteloma contagioso das aves, que causou graves perdas em granjas avícolas próximas a Porto Alegre. A vacina usada era procedente de laboratório situado em Estado onde existe a doença.

O vírus da doença de Newcastle foi isolado diretamente da vacina contaminada, pela inoculação em ovos embrionados.

A doença foi reproduzida experimentalmente pela vacinação por punção da membrana da asa e por escarificação da pele da coxa em lotes de frangos com 30 dias de idade, manifestando-se com o aparecimento de sintomas e lesões típicas da doença de Newcastle.

O vírus isolado mostrou-se patogênico para os embrionados provocando a morte dos embriões em 48 horas. Os testes sorológicos de hemaglutinação e inibição da hemaglutinação confirmaram o diagnóstico da doença.

Este acidente de vacinação foi responsável pela introdução da doença de Newcastle no Estado do Rio Grande do Sul.

INTRODUÇÃO

A introdução ou disseminação da doença de Newcastle se faz de vários modos: de ave para aves (Piccard 1928), propagação pelo ar (De Lay *et al.* 1948) (De Ome *et al.* 1948), através do tráfego marítimo (Hudson 1937) ou aéreo, carcaças infectadas (Santos *et al.* 1954) e pássaros (Gustafson & Moses 1952). É possível ainda a transmissão pelo uso de vacinas contaminadas com o vírus, como a vacina contra o epiteloma contagioso das aves (Zargar & Pomeroy 1950).

Como o Estado do Rio Grande do Sul era considerado região indene para a doença de Newcastle, a vacinação contra a referida enfermidade obviamente, não era realizada. A profilaxia consistia em evitar e controlar a entrada de aves e ovos procedentes de regiões onde existisse a doença. Em 1966 foi constatada elevada mortalidade em diversas granjas avícolas próximas a Porto Alegre; as aves atingidas apresentavam sintomas e lesões sugestivas da doença de Newcastle. Verificou-se que a mesma aparecia após vacinação contra o epiteloma contagioso das aves. Com a eliminação de todas as possíveis fontes de infecção, suspeitou-se da vacina comercial contra o epiteloma, utilizada nas granjas atingidas, possivelmente contaminada com o vírus da doença de Newcastle. Para confirmar esta hipótese, vários experimentos foram feitos visando esclarecer o assunto.

MATERIAL E MÉTODOS

A vacina em apreço, enviada ao Instituto de Pesquisa Agropecuária do Centro-Sul (IPEACS) pela Inspetoria de Defesa Animal (INDEA) de Porto Alegre, foi tratada com penicilina e estreptomina por 90 minutos e inoculada, na dose de 0,1 ml da suspensão, na cavidade alantóide de seis ovos embrionados com 10 dias de incubação.

Os líquidos amnióticos e alantóides foram coletados e submetidos a testes de hemaglutinação (H.A.) e inibição da hemaglutinação (H.I.).

A mesma vacina foi aplicada pelo método de vacinação contra epiteloma em 30 frangos com 30 dias de idade que, submetidos antes aos testes de H.I., apresentaram resultados negativos. As aves foram divididas em três grupos:

- vacinação por punção na membrana da asa, 10 animais;
- vacinação por escarificação da pele da coxa, 10 animais;
- testemunha (sem vacinação), 10 animais.

Fragmentos de órgãos (sistema nervoso central, fígado, pulmão e baço) de seis frangos do grupo A e dez frangos do grupo B foram retirados e depois de tratados com penicilina e estreptomina, foram inoculados em ovos embrionados com 10 dias de incubação. Os líquidos amnióticos e alantóides coletados foram submetidos a testes de H.A. e H.I.

O vírus isolado foi testado em frangos com 60 dias de idade, normais, sensíveis à doença de Newcastle. Foram inoculadas 6 aves por via intramuscular com dose de 0,2 ml, ficando outras 6 como testemunhas; a mesma dose foi inoculada em ovos embrionados na cavidade córion-alantóide.

Nas aves mortas foram efetuados exames anátomo-patológicos e coletados fragmentos de sistema nervoso central, intestino e baço, que foram conservados em formol a 10%, para estudo microscópico; os cortes histológicos foram corados pela hematoxilina e eosina.

¹ Aceito para publicação em 9 set. 1972.

² Veterinário do Setor de Ornitopatologia do Instituto de Pesquisa Agropecuária do Centro-Sul (IPEACS), Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

³ Veterinário do Setor de Ornitopatologia do IPEACS e Prof. Assistente do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

⁴ Veterinário do Setor de Ornitopatologia do IPEACS.

RESULTADOS

Teste com a vacina contaminada, em ovos embrionados

A vacina provocou mortes dos embriões no 3.º, 4.º e 5.º dias após a inoculação; os testes de hemaglutinação (H.A.) e inibição da hemaglutinação (H.I.) apresentaram títulos de 1:320 e 1:400, respectivamente; as membranas córion-alantóides não apresentaram placas que caracterizassem a presença do vírus do epiteloma.

Teste com a vacina contaminada, em frangos

Grupo A: vacinação na membrana da asa. No sexto dia após a vacinação, um frango apresentou sintomas clínicos da doença: depressão, anorexia, sinais nervosos, tremores e dispnéia. No 8.º, 10.º, 11.º, 12.º e 13.º dias após a vacinação, cinco frangos, um em cada dia, apresentaram sintomas idênticos aos acima referidos. Os embriões inoculados com material destas aves morreram no 2.º, 3.º, 4.º e 5.º dias após a inoculação; os testes de H.A. e H.I. dos líquidos amnióticos e alantóides apresentaram os títulos de 1:320 e 1:400, respectivamente.

Grupo B: vacinação por escarificação na coxa. Os primeiros sintomas característicos da doença de Newcastle apareceram em quatro frangos no 10.º dia após a vacinação; os mesmos apresentaram depressão, sinais nervosos e tremores. No 11.º dia, outras aves apresentaram sintomas semelhantes, o mesmo acontecendo com as aves restantes (dois frangos) no 12.º e 14.º dias.

Os embriões inoculados com material dos frangos morreram no 2.º, 3.º e 4.º dias após a inoculação; os testes de H.A. e H.I. dos líquidos amnióticos e alantóides apresentaram títulos de 1:320 e 1:400, respectivamente.

Grupo C: testemunha (sem vacinação). Neste grupo nenhuma irregularidade ocorreu. As aves foram sangradas e, feito o teste da inibição da hemaglutinação, o resultado se revelou negativo.

Teste com o vírus isolado, em frangos

A doença manifestou-se no 3.º dia após a inoculação e os animais morreram no 4.º e 5.º dias.

Teste com o vírus isolado, em embriões de pinto

Houve morte dos embriões 48 horas após a inoculação. Os testes de H.A. e H.I. dos líquidos amnióticos e alantóides apresentaram títulos de 1:320 e 1:400, respectivamente.

Exame anátomo-patológico

Foram efetuados exames anátomo-patológicos das aves que morreram nos experimentos. Todas as aves apresentaram lesões características da enfermidade, havendo uma certa predominância das lesões entéricas. Foram constatadas lesões hemorrágicas e necróticas, principalmente no duodeno, e, esplenomegalia em alguns casos.

Exame histopatológico

Todos os materiais tiveram as seguintes alterações histopatológicas: infiltração linfocitária perivascular e gliose focal no sistema nervoso central, hiperplasia dos agregados linfóides, hemorragia e necrose no intestino delgado, baço com necrose hialina.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

As vacinas vivas produzidas com amostras de vírus modificados cultivados em ovos embrionados são passíveis de carrear vírus de outras enfermidades, principalmente tratando-se de vacinas para aves.

Também essas vacinas podem-se contaminar durante seu processamento por existência de microrganismo no ambiente e material usado.

No caso do presente trabalho as duas hipóteses são válidas.

Levando-se em conta que a vacina que deu origem ao problema foi produzida em Estado onde existe a doença de Newcastle, torna-se mais fácil a explicação.

Como caso semelhante temos o descrito por Zargar e Pomeroy (1950), que isolaram amostras de vírus vivo da doença de Newcastle em vacinas comerciais de larín-go-traquite e epiteloma contagioso das aves. Após testes realizados em ovos embrionados e em aves sensíveis, os citados autores chegaram à conclusão de que as duas vacinas comerciais foram contaminadas por vírus patogênico de doença de Newcastle em um dos estágios de sua fabricação.

Testes idênticos aos realizados por Zargar e Pomeroy (1950), para detecção de agentes estranhos nas vacinas, são essenciais ao controle das mesmas e eliminariam o risco de contaminação dos plantéis avícolas.

Os testes consistem em inocular a vacina suspeita em ovos embrionados; havendo morte dos embriões, coletam-se os líquidos amniótico e alantóide, realizando-se em seguida o teste H.A., que será positivo para a doença de Newcastle caso apresente algum título que indique a presença do vírus da doença. A complementação destes testes pode ser feita inoculando-se os líquidos amniótico e alantóide (dose 0,2 ml) por via intramuscular em aves sensíveis à doença de Newcastle, deixando outras aves como testemunhas (sem inoculação). As aves são observadas durante 10 dias e logo após é realizado nos dois grupos de aves o testes de H.I., que normalmente será negativo para o grupo testemunha e com algum título para o grupo inoculado, o que indicará a presença do vírus da doença de Newcastle na vacina. Ao mesmo tempo em que se realiza o teste de H.I., as aves de ambos os grupos são inoculadas subcutaneamente com uma amostra virulenta de Newcastle na dose de 0,1 ml; decorrido o período de incubação da doença, as aves do grupo testemunha devem morrer, o que não acontecerá com os inoculados com a mistura de líquidos amniótico e alantóide.

No presente trabalho, as aves afetadas apresentaram lesões típicas de doença de Newcastle, predominando formas entéricas, principalmente do intestino delgado, lesões estas semelhantes às descritas por Jungherr *et al.* (1946). No sistema nervoso também foram observadas lesões idênticas às descritas por Karson e Bang (1951).

De acordo com os resultados dos testes conduzidos e as observações realizadas, conclui-se que a vacina contra o epiteloma contagioso das aves estava contaminada com o vírus da doença de Newcastle e foi a responsável pela introdução da referida enfermidade no Estado do Rio Grande do Sul, em 1966.

REFERÊNCIAS

- De Lay, P.D., De Ome, K.B. & Bankowski, R.A. 1948. Recovery of pneumocephalitis (Newcastle) virus from the air of poultry houses containing infected birds. *Science* 107: 474-475.
- De Ome, K.B., Bankowski, R.A. & De Lay, P.D. 1948. The recovery of pneumocephalitis virus from poultry house dust. *Poult. Sci.* 27:659-660.
- Gustafson, D.P. & Moses, H.E. 1952. Some effects of oral exposure of english sparrows to Newcastle disease virus. *Am. J. vet. Res.* 13:566-571.
- Hudson, J.R. 1937. A description of a highly fatal virus disease of poultry new to East Africa. *East African agric. J.* 2:495-498.
- Jungherr, E.L., Tyzzer, E.E., Blandly, C.A. & Moses, H.E. 1946. The comparative pathology of fowl plague and Newcastle disease. *Am. J. vet. Res.* 7:250-288.
- Karzon, D.T. & Bang, F.B. 1951. The pathogenesis in infection with avirulent (C E 179) and an avirulent (B) strain of Newcastle in the chicken. I. Comparative rates of viral multiplication. *J. exp. Med.* 93:267-284.
- Piccard, W.K. 1928. Pseudo-Vogelpest. *Dutch East Indies Vet. Bull.* 65:1-6.
- Santos, J.A., Silva, R.A., Brada, W. & Marinho, E. 1954. A ocorrência da doença de Newcastle no Brasil. *Revta Prod. Anim., S. Paulo*, 1:4-12.
- Zarger, S.L. & Pomeroy, B.S. 1950. Isolation of Newcastle disease from commercial fowlpox and laryngotracheitis vaccines. *J. Am. vet. med. Ass.* 116:304-305.

ABSTRACT.- Pereira, E.F.da C.; Costa, S.F.da; Araujo, L.M.G. [*Outbreak of Newcastle disease in Rio Grande do Sul (Brazil) caused by contaminated fowlpox vaccine.*], Surto da doença de Newcastle, no Rio Grande do Sul, provocado por vacina contra o epiteloma contagioso das aves. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Série Veterinária* (1973) 8, 31-33 [Pt, en] IPEACS, Km 47, Rio de Janeiro, GB, ZC-26, Brazil.

An outbreak of Newcastle disease caused by a contaminated vaccine against fowlpox is reported. The occurrence caused serious losses in flocks near Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul. The farms which utilized the vaccine against fowlpox made by a private laboratory have had a complete destruction of their flocks. By means of appropriate tests it was possible to detect the NDV in a sample of the vaccine against fowlpox.