

O DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE NEWCASTLE PELO TESTE DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO *

RENATO AUGUSTO DA SILVA **, MOACYR R. NILSSON **, MILTON MARQUES DA SILVA ***
WILHELM BRADA *** e JOSÉ FRANCISCO GUIMARÃES ***

I. INTRODUÇÃO

Hirst⁸, em 1941, verificou que o vírus da Influenza (gripe humana), têm a propriedade de aglutinar os glóbulos vermelhos de galinha, fenômeno este que foi denominado "fenômeno de Hirst", o qual é inibido quando se adicionam os anticorpos específicos. Este fenômeno, foi repetido por vários pesquisadores com outros vírus. Assim, Burnet³, em 1942, com o vírus da Doença de Newcastle; Lush¹⁰ em 1943 consegue o mesmo resultado com o vírus da Peste aviária e da Doença de Newcastle; Levens e Enders⁹, em 1945, com o vírus da Pneumonia; Mills e Dochez¹¹, no mesmo ano, com o vírus da Pneumonia dos camondongos e Burnet e Boake⁴, em 1946, com o vírus da Ectromelia dos camondongos.

Após, os trabalhos de Burnet e Lush com o vírus da Doença de Newcastle, as provas de hemaglutinação e de inibição da hemaglutinação tornaram-se necessárias para a identificação do vírus.

Brandly e col.², em 1946, e Beach¹, em 1948, utilizaram o mesmo fenômeno para o diagnóstico da Doença de Newcastle.

Fabricant⁷, em 1949, fazendo uma comparação dos resultados de inibição da hemaglutinação e de soro-neutralização, em 56 casos de campo, verificou que o título HI (inibição da hemaglutinação) atingia um título positivo antes do título SN (soro-neutralização). Em outra série de 185 casos não selecionados de campo, os resultados indicaram que este teste HI é altamente específico.

II. MATERIAL E MÉTODOS

- Vírus. — Foram empregadas amostras isoladas de focos naturais, n.º 33 (Macapá) e n.º 4 (São Gonçalo)⁵ não formoladas.
- Soro. — Obtido de aves em vários estadios da doença.
- Glóbulos vermelhos de galinha, na diluição de 0,5% em soro fisiológico a 8,5 por mil.
- Soro fisiológico estéril a 8,5 por mil.

Na realização do teste de inibição da hemaglutinação empregamos o Beta teste, conforme recomenda Cunningham⁶, o qual passamos a descrever:

O soro a ser testado era diluído a 1:5 em solução fisiológica. Em uma série de tubos de hemólise colocávamos 0,25 ml da solução fisiológica, a partir do segundo tubo. No primeiro tubo da série, colocávamos 0,25 ml do soro diluído

* Entregue para publicação em 24 de novembro de 1960.

** Da Seção de Zoonoses por Vírus, do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro.

*** Da Seção de Ornitopatologia, do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro.

a 1:5; no segundo tubo, a mesma quantidade de soro diluído a 1:5 era colocada, obtendo-se a diluição 1:10; dêste tubo, após misturarmos várias vezes, retirávamos 0,25 ml, transferindo-se para o terceiro tubo e assim sucessivamente. A seguir, colocávamos em cada tubo 0,25 ml de vírus contendo 10 unidades hemaglutinantes, calculadas pela prova de hemaglutinação; exemplo: se o vírus titulouse na diluição de 1:160, usávamos 0,25 ml da diluição 1:16. Agitávamos os tubos e deixávamos em repouso em temperatura ambiente por 10 minutos. Distribuíamos então 0,25 ml da suspensão de glóbulos vermelhos de galinha a 0,5% em todos os tubos inclusive nos testemunhos dos soros. Os tubos eram agitados e deixados em temperatura ambiente por 45 minutos. As leituras eram realizadas em 15, 30 e 45 minutos, considerando-se como significativos os soros que inibiam a diluição 1:10.

Os títulos dos soros por este método eram calculados multiplicando-se a diluição do último tubo em que houve total inibição da hemaglutinação por 10.

Considerávamos como significativos os títulos HI iguais a 100.

III. RESULTADOS

Dos 50 soros recebidos do antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, 19 apresentaram anticorpos para o vírus da doença de Newcastle.

Do Município de Leopoldina foram recebidos 4 soros, sendo 3 positivos e do Município de Volta Grande 7 soros, dos quais 2 positivos.

Do Estado do Rio de Janeiro, de 7 soros examinados, 4 revelaram anticorpos para o vírus da doença de Newcastle.

No quadro único estão expostos os índices quantitativos em anticorpos dos soros examinados.

QUADRO ÚNICO

N.º de registros	LOCAL DE ORIGEM	Data do teste	Vírus n.º	DILUIÇÕES DOS SOROS								Test. soro	Test. glóbs.	Títulos dos soros
				1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640			
817	Jacarepaguá, Estado da Guanabara	17-3-54	33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1:6.400
844	Campo Grande, Estado da Guanabara	18-3-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
852	Realengo, Estado da Guanabara.....	18-3-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
853	Realengo, Estado da Guanabara	18-3-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400
877	Paciência, Estado da Guanabara	3-5-54	33	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	1:3.200
879	Copacabana, Estado da Guanabara	10-5-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
881	Copacabana, Estado da Guanabara	10-5-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
882	Estrada Rio Petrópolis, km. 20 Estado do Rio.....	10-5-54	33	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
894	Campo Grande, Estado da Guanabara	21-5-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400
898	Vigário Geral, Estado da Guanabara	21-5-54	33	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:800
912	Deodoro, Estado da Guanabara	31-5-54	33	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:800
917	Estrada Rio São Paulo, km. 27, Estado da Guanabara	1-6-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200

N.º de registros	LOCAL DE ORIGEM	Data do teste	Virus n.º	DILUIÇÕES DOS SOROS								Test. sóro	Test. glóbs.	Títulos dos soros
				1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640			
930	Paciência, Estado da Guanabara	10-5-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400
988	Catete, Estado da Guanabara	4-8-54	4	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:800
1.005	São João de Meriti Estado do Rio	13-8-54	4	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:400
1.007	Estrada da Gramma Campo Grande, Estado da Guanabara	17- 8-54	4	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
1.052	Realengo, Estado da Guanabara	6-10-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400
1.041	Volta Grande, Estado de Minas Gerais	4-10-54	33	—	—	—	+	—	+	+	+	—	—	1:200
1.047	Volta Grande, Estado de Minas Gerais	4-10-54	33	—	—	—	+	—	+	+	+	—	—	1:200
1.065	Engenho de Dentro Estado da Guanabara	21-10-54	33	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	1:1.600
1.066	Realengo, Estado da Guanabara	21- 4-54	33	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	1:800
1.070	Leopoldina, Estado de Minas Gerais	26-10-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:100
1.070	Leopoldina, Estado de Minas Gerais	26-10-54	33	—	—	—	—	+	—	+	+	—	—	1:400
1.070	Leopoldina, Estado de Minas Gerais	26-10-54	33	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
1.071	São Bento, Estado do Rio	19-11-54	33	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
1.071	São Bento, Estado do Rio	19-11-54	33	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	1:100
1.075	Rocha Miranda, Estado da Guanabara	1-11-54	33	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	1:200
1.096	Campo Grande, Estado da Guanabara	1-11-54	33	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	1:400

(—) = Ausência de Hemaglutinação.

(+) = Hemaglutinação.

IV. COMENTÁRIOS

A diferença de títulos entre os vários soros examinados pode ser explicada pelas diferentes fases de evolução da doença.

O diagnóstico sorológico da doença de Newcastle em zonas não vacinadas pode ser firmado, como também o seu diagnóstico retrospectivo, pelo teste de inibição da hemaglutinação.

V. RESUMO

Os autores, trabalhando com 68 soros de aves não vacinadas procedentes de diversas localidades do antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, do Estado do Rio de Janeiro e do Estado de Minas Gerais, constatarem índices significativos para o vírus da doença de Newcastle, quando submetidos ao teste de inibição da hemaglutinação (Beta teste). Assim, são descritos novos focos da Doença de Newcastle, diagnosticados pelo teste HI (Beta teste), sendo 11 no antigo Distrito Federal, atual Estado da Guanabara, 2 no Estado do Rio de Janeiro e 2 no Estado de Minas Gerais.

THE DIAGNOSIS OF NEWCASTLE DISEASE BY HEMAGGLUTINATION-INHIBITION TEST

Abstract

The hemagglutination-inhibition test (Beta procedure) has showed significant titers of infection by the Newcastle disease virus, when applied to examine 68 serum-strains from not vaccinated chickens. The authors have dealt with fowls from: State of Guanabara (early Distrito Federal); State of Rio de Janeiro and State of Minas Gerais. By way of the above cited procedure the authors have demonstrated the following new outbreaks of Newcastle disease: 11 in the State of Guanabara (early Distrito Federal); 2 in the State of Rio de Janeiro and 2 in the State of Minas Gerais.

VI. REFERÊNCIAS

- 1) BEACH, J.R. (1948).—The Application of the Hemagglutination-Inhibition Test in the Diagnosis of Avian Pneumoencephalitis (Newcastle Disease). *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, 112: 85-91.
- 2) BRANDLY, C.A.; MOSES, H.E.; JUNGHER, E.L. & JONES, E.E. (1946).—The Isolation and Identification of Newcastle Disease Virus. *Am. Jour. Vet. Res.*, 7: 289-306.
- 3) BURNET, F.M. (1942).—The Affinity of Newcastle Disease Virus to the Influenza Virus Group. *Aust. Journ. Exp. Biol. and Med. Sci.*, 20: 81-88.
- 4) BURNET, F.M. & BOAKE, W.C. (1946).—The Relationship between the Virus of Infectious Ectromelia of Mice and Vaccinia Virus. *Jour. Immunol.*, 53: 1-13.
- 5) CUNHA, R.G. & SILVA, R.A. (1955).—Isolamento e identificação do vírus da doença de Newcastle no Brasil. *Bol. Soc. Bras. Med. Vet.*, 23: 17-33.
- 6) CUNNINGHAM, C.H. (1952).—Methods Employed in the Diagnosis and Investigation of Infectious Bronchitis and Newcastle Disease. *Proc. Book Amer. Vet. Med. Ass. 89th Annual Meeting*: 250-257.
- 7) FABRICANT, J. (1949).—Studies of the Diagnosis of Newcastle Disease and Infectious Bronchitis of Fowls. I. The Hemagglutination-Inhibition Test for the Diagnosis of Newcastle Disease. *Cornell Vet.*, 39: 203-220.
- 8) HIRST, G.K. (1941).—The Agglutination of Red Cells by Allantoic Fluid of Chick Embryos Infected with Influenza Virus. *Science*, 94: 22-23.
- 9) LEVENS, J.H. & ENDERS, J.P. (1945).—The Hemoagglutinative Properties of Amniotic Fluid from Embryonated Eggs Infected with Mumps Virus. *Science*, 102: 117-120.
- 10) LUSH, D. (1943).—The Chick Red Cell Agglutination Test with the Viruses of Newcastle Disease and Fow Plague. *Jour. Comp. Path. and Therap.*, 53: 157-160.
- 11) MILLS, K.C. & DOCHEZ, A.R. (1945).—Further Observations on Red Cell Agglutinating Agent Present in Lungs of Virus Infected Mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 60: 141-143.