Ineficiência da Thuja occidentalis no tratamento dos poxvirus aviários

Thuja occidentalis ineficiency in avian poxviruses treatment

Thaís Castelo Branco Chaves¹ Aline Rodrigues Bernardo²
Argemiro Sanavria³ Marilene de Farias Brito³
Geraldo Baêta da Cruz⁴ Maria das
Graças Miranda Danelli⁵
Carlos Mazur⁵

-NOTA-

RESUMO

Medicações à base de Tuia (Thuja occidentalis) são comuns em tratamentos homeopáticos e fitoterápicos, na medicina humana e veterinária. Suas propriedades imunoestimulantes e antivirais são descritas e sua utilização empírica no tratamento das poxviroses aviárias é recomendada por criadores e veterinários. Para avaliar o potencial terapêutico da Tuia sobre estas infecções, dois grupos (controle e teste) de dez aves jovens foram inoculados por escarificação, com uma amostra de campo de poxvírus aviário. As aves inoculadas foram examinadas diariamente, quanto ao início e evolução das lesões, registrando-se o número e tamanho destas, até a cicatrização. Após o surgimento das lesões, o grupo teste recebeu a tintura alcoólica diluída na água de consumo. A análise experimental indicou que, nas condições empregadas, a utilização da Tuia não favoreceu a regressão ou restrição no desenvolvimento das lesões de pele promovidas pela infecção experimental.

Palavras-chave: poxviroses, avipoxvirus, Thuja occidentalis, Tuia.

ABSTRACT

Arbor Vitae (Thuja occidentalis) is widely used in homoeopathic and phytotherapic treatments, either for human

or for animals. Its immunestimulating and antiviral properties have been described and its empiric use in the treatment of the avian poxvirosis is recommended by animal breeders and veterinarians. To evaluate the therapeutic potential of Arbor Vitae in these infections, two groups (control and test) of 10 young birds were inoculated by scarification with a field sample of avian poxvirus. When lesions were first observed the test group received the Arbor Vitae alcoholic extract diluted in the drinking water. The birds were examined daily, from the beginning and evolution of the lesions to the healing. The results indicated that, in our experimental conditions, the use of T. occidentalis did not favor the regression or restriction in the development of the skin lesions promoted by the experimental infection.

Key words: poxvirosis, avipoxvirus, **Thuja occidentalis**, Arbor vitae.

Os poxvírus, do gênero *Avipoxvirus*, infectam especificamente aves e têm sido isolados a partir de lesões encontradas em todas as espécies comerciais e silvestres. A forma clínica mais frequente é caracterizada por lesões cutâneas que, mais raramente, atingem a boca e o trato respiratório superior (forma

¹Instituto de Zootecnia, Universidade Fedral Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ), Seropédica, RJ, Brasil

²Instituto de Veterinária, UFRuralRJ, Seropédica, RJ, Brasil

³Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, UFRuralRJ, Seropédica, RJ, Brasil

⁴Técnico de laboratório da Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (CNPAB), Seropédica, RJ, Brasil

Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Veterinária, UFRuralRJ, Seropédica, RJ, Brasil. E-mail: mazur@ufrrj.br. *Autor para correspondência.

diftérica). Embora a doença seja controlada por vacinas em criações comerciais de galinhas e perus, ainda é considerada economicamente expressiva em algumas regiões (LÜSCHOW et al., 2004).

Diversos criadores e veterinários, diante de lesões típicas nas aves, buscam tratamentos alternativos na fitoterapia, como a utilização da Tuia, mesmo com pouco ou nenhum embasamento científico. A partir de contatos com práticos de campo e com textos veterinários em portais de Internet nacionais e internacionais (BENEZ, 2003; GRAY, 2003), observouse que é usual a utilização da Tuia (*Thuja occidentalis*) no tratamento de poxvírus aviários em galinhas de criações caseiras e em aves ornamentais. Acrescentase ainda que o extrato alcoólico comercial da Tuia é recomendado pelos fabricantes para o tratamento das lesões nas poxviroses aviárias.

A Tuia, conhecida no Brasil como pinheiro de cemitério ou cipreste, é uma árvore nativa da Europa, da família Cupressaceae, utilizada largamente em homeopatia e fitoterapia humana e veterinária. Estudos do potencial imunofarmacológico da Tuia têm indicado atividades imunoestimulantes e antivirais (EMEA, 1999; NASER et al., 2005). Estudos in vitro demonstraram um aumento da proliferação de linfócitos T e da produção de IL-2. A ação antiviral também foi relatada, a partir da inibição do HIV-1 in vitro. Em culturas de células MT-2 infectadas com HIV-1, a fração polissacarídica da Tuia inibiu a expressão de antígenos virais, inibindo a morte celular. Experimentos in vivo em camundongos demonstraram o aumento significativo de granulócitos segmentados e imaturos, células do baço e leucócitos, particularmente do tipo CD4 (EMEA, 1999; NASER et al., 2005; GOHLA et al., 1986; GOHLA et al., 1990; GOHLA et al., 1992), apontando sua ação imunoestimulante.

Considerando-se a utilização empírica da Tuia no tratamento de lesões cutâneas causadas por poxvírus aviários e suas atividades imunoestimulantes e antivirais, este trabalho teve como objetivo avaliar experimentalmente o potencial terapêutico da Tuia em aves inoculadas com este vírus, com a utilização do tratamento preconizado pelo fabricante para casos naturais.

Para a infecção experimental, foram utilizados vinte frangos da raça Rhode Island Red provenientes do setor de avicultura do Instituto de Zootecnia da UFRuralRJ, com 20 dias de idade, não vacinados para bouba aviária, mantidos em gaiolas apropriadas no Biotério de Experimentação do Laboratório de Viroses Veterinárias, no Instituto de Veterinária da UFRuralRJ.

Para a inoculação, foi empregada uma amostra de campo de poxvírus aviário previamente isolada em ovos embrionados, a partir de um surto em galinhas caseiras. A caracterização viral desta amostra foi realizada por microscopia eletrônica e histopatologia das lesões. Para obtenção do inóculo viral, uma suspensão de crostas, a 10% em PBS, pH 7,2, das lesões cutâneas das aves naturalmente infectadas foi inoculada em ovos embrionados com 10 dias de incubação, via membrana corio-alantóide (MCA). Após quatro dias de incubação, a 37°C, as lesões típicas promovidas na MCA foram colhidas. Em seguida, o inóculo foi preparado a partir de uma suspensão clarificada das lesões da MCA, a 10% em PBS, pH 7,2. A inoculação foi realizada após a escarificação no peito e na coxa, com auxílio de lâminas de barbear, friccionando-se suabes embebidos no inóculo viral, nos locais escarificados.

Após a inoculação, as aves foram examinadas diariamente quanto ao início e desenvolvimento das lesões, registrando-se o número e tamanho destas até a conclusão da cicatrização (queda das crostas secas). Para homogeneização dos grupos, as aves foram separadas apenas após o surgimento das lesões (máculas), em dois grupos de 10 (controle e teste). Portanto, os grupos inicialmente apresentavam aves com níveis equivalentes de severidade de lesões.

Naturalmente, na realidade de campo, o tratamento seria iniciado depois da detecção de lesões típicas evidentes, com formação de crostas. Em consideração a este aspecto, apenas após o início da formação das crostas na maioria das aves, no 7º dia *post infectionem* (pi), o grupo teste recebeu a solução de Tuia, diluída na água de consumo, a 5,0mL L-1, que foi renovada diariamente, de acordo com as recomendações do fabricante para o tratamento de casos naturais de poxviroses aviárias, até o 17º dia pi. A Tuia utilizada no experimento foi empregada na forma de uma solução aquosa comercial, a 18% de extrato alcoólico de *T. occidentalis*. O experimento animal foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da Instituição, sendo realizado de acordo com normas éticas previstas.

Todas as aves apresentaram lesões nos pontos de escarificação inoculados, que, por vezes, se difundiram para outras regiões do corpo. Diferenças significativas do número de lesões secundárias, no crescimento e formação de crostas e na velocidade da cicatrização não foram observadas (Tabela 1). A observação comparativa das lesões entre os grupos inoculados não permitiu identificar diferenças detectáveis na evolução e intensidade destas. Portanto, a análise experimental indicou que, nas condições empregadas, a administração oral da Tuia não favoreceu a regressão ou restrição no desenvolvimento das lesões de pele promovidas.

Embora considerando que a comprovação das propriedades terapêuticas da *T. occidentalis* seja

1336 Chaves et al.

Tabela 1 - Evolução clínica das lesões nas aves inoculadas com poxvírus aviários.

| Grupos | Observação clínica | dias após a administração da Tuia | | | | | | | | | | |
|----------|---------------------|-----------------------------------|---|---|---|---|---|----|---|---|---|----|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Controle | Início das lesões* | 3** | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Início das crostas | 7 | 8 | 6 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Crostas formadas | 0 | 1 | 3 | 7 | 8 | 9 | 10 | 9 | 8 | 8 | 2 |
| | Redução das crostas | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 8 |
| Teste | Início das lesões* | 3 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Início das crostas | 7 | 7 | 7 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Crostas formadas | 0 | 1 | 1 | 6 | 8 | 8 | 9 | 8 | 7 | 7 | 2 |
| | Redução das crostas | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 3 | 8 |

^{*}Observação de máculas.

baseada apenas em evidências clínicas e em estudos *in vitro*, práticos, criadores, veterinários e fabricantes recomendam a Tuia para o tratamento das lesões cutâneas das poxviroses aviárias. Possivelmente, esta prática originou-se de observações de campo, a partir de tratamentos empíricos não fundamentados cientificamente. A indicação da Tuia para lesões típicas, comumente sem a caracterização viral, torna ainda mais difícil a avaliação da sua utilidade. Mesmo assim, sua disseminação nos meios referidos suscita o questionamento da eficiência do processo, seja na redução do tamanho, número ou tempo de remissão das lesões.

A pesquisa bibliográfica realizada indicou a escassez de estudos experimentais sobre a utilização da Tuia como antiviral em geral, e não foram encontrados estudos específicos com infecções por poxvírus. Entretanto, pode-se observar a ação mitogênica da fração polissacarídica da T. occidentalis sobre diversas células da resposta imune, tanto in vitro como in vivo. Estes achados sugerem que sua atividade antiviral é relacionada com a estimulação da resposta imune e que novos estudos devem ser realizados com esta fração bioquímica. Deve-se ter em conta ainda que o tratamento com a Tuia para poxviroses aviárias é difundido entre pequenas criações domésticas, onde as aves são de linhagens variadas, sendo sua manutenção distinta de criações comerciais visando à avicultura industrial. Neste contexto, considerando-se as diferenças de status imunológico e de condições ambientais entre aves "de fundo de quintal" e das aves e condições empregadas neste trabalho, seria interessante desenvolver novos estudos a partir de surtos naturais. A administração parenteral do extrato polissacarídico também poderá representar uma via mais eficiente de administração, face às variáveis representadas pela via oral, ad libitum.

De qualquer forma, apesar das considerações acima, tendo reproduzido o tratamento

recomendado e utilizado no campo, de acordo com o objetivo traçado, o resultado foi claramente negativo, apontando a ineficácia do tratamento em questão.

REFERÊNCIAS

BENEZ, S.M. **Bouba aviária: prevenção e profilaxia**. 2003. Capturado em 20 de agosto de 2005. Online. Disponível na internet http://www.cobrap.org.br/site/artigos_vis.php?id=58.

EMEA. THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS. Committee for Veterinary Medicinal Products, *Thuja occidentalis*. **Summary Report**, 1999. Capturado em 20 de agosto de 2005. Online. Disponível na Internet http://www.emea.eu.int/pdfs/vet/mrls/060299en.pdf.

GOHLA S.H. et al. Activation of CD4-positive T cells by polysaccharide fractions isolated from the Cupressaceae *Thuja occidentalis* L. (Arborvitae). **J Allergy Clin Immunol**, v.77, p.268–272, 1986.

GOHLA S.H. et al. Inhibition of the replication of HIV-1 by TPSg, a polysaccharide-fraction isolated from the Cupressaceae *Thuja occidentalis* L'. *AIDS.* **Res Hum Retroviruses**, v.6, p.131, 1990.

GOHLA S.H. et al. Modification of the *in vitro* replication of the human immunodeficiency virus HIV-1 by TPSg, a polysaccharide fraction isolated from the Cupressaceae *Thuja occidentalis* L. (Arborvitae). **Haematol Blood Transfus**, v.35, p.140–149, 1992.

GRAY, T. **Natural healing.** Palm Bay, Florida. Jan 2003. Capturado em 20 de agosto de 2005. Disponível na Internet http://www.pigeons.biz/forums/archive/index.php/t-10568.html

LÜSCHOW, D. et al. Differentiation of avian poxvirus strains on the basis of nucleotide sequences of 4b gene fragment. **Avian Diseases**, v.48, p.453–462, 2004.

NASER, B. et al. *Thuja occidentalis* (Arbor vitae): a review of its pharmaceutical. **Pharmacological and Clinical PropeCAM**, v.1, n.2, p.69–78, 2005.

^{**}Número de aves.