

**Fonte:**

<https://pdfcoffee.com/qdownload/doenas-das-aves-angelo-berchieri-jr-2-ediao-pdf-free.html>



# DOENÇAS DAS AVES

2ª edição

Angelo Berchieri Júnior

Edir Nepomuceno Silva

José Di Fábio

Luiz Sesti

Marcelo A. Fagnani Zuanaze



# Doenças das Aves

**- 2ª Edição -**

*Angelo Berchieri Júnior  
Edir Nepomuceno Silva  
José Di Fábio  
Luiz Sesti  
Marcelo A Fagnani Zuanaze*

FACTA – Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas

Campinas, SP  
2009

---

---

## 2ª Edição Doenças das Aves

Direitos Autorais Reservados para FACTA – Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia  
Avícolas

Av. Andrade Neves, 2.501 – 13070-001. Campinas, SP, Brasil

Telefone: (19) 3243-6555 Fax.: (19) 3243-8542

Site: [www.facta.org.br](http://www.facta.org.br)

e-mail: [facta@facta.org.br](mailto:facta@facta.org.br)

ano 2009

### Editores

Angelo Berchieri Júnior

Edir Nepomuceno Silva

José Di Fábio

Luiz Sesti

Marcelo Alexandre Fagnani Zuanaze

### Comercial

Nilza Santos Marcondes

### Capa, Projeto e Editoração Gráfica

Patrícia Bortolato

Imagem capa: [www.textureking.com](http://www.textureking.com)

### Revisão Lingüística

Ibiara Correia de Lima Almeida Paz

### Revisão Bibliográfica

Nubia Josefina Lopes Brichi

D651

Doenças das aves / Editores Ângelo Berchieri Júnior ... [*et al.*]. --  
Campinas : Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009.

1.104 p. : il.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-89327-04-6

1. Ornitopatologia 2. Patologia aviária 3. Doenças das aves industriais. I. Berchieri Júnior, Angelo. II. Silva, Edir Nepomuceno. III. Di Fábio, José. IV. Sesti, Luiz. V. Zuanaze, Marcelo Alexandre Fagnani. VI. Título.

CDU 616:636.5

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação - Serviço de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

---

---

Angelo Berchieri Júnior

Edir Nepomuceno Silva

José Di Fábio

Luiz Sesti

Marcelo A. Fagnani Zuanaze

## ALBERTO BACK

Médico Veterinário, MSc, PhD  
MercoLab  
Cascavel, PR - Brasil  
[alberto@mercolab.com.br](mailto:alberto@mercolab.com.br)

## ANTONIO GUILHERME MACHADO DE CASTRO

Médico Veterinário  
Instituto Biológico  
Descalvado, SP - Brasil  
[gcastro@biologico.sp.gov.br](mailto:gcastro@biologico.sp.gov.br)

## ALBERTO BERNARDINO

Médico Veterinário  
Fort Dodge Saúde Animal Ltda.  
Campinas, SP - Brasil  
[bernara@fdah.com](mailto:bernara@fdah.com)

## ANTONIO JOSÉ PIANTINO FERREIRA

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia - USP  
São Paulo, SP - Brasil  
[ajpferr@usp.br](mailto:ajpferr@usp.br)

## ALBERTO YOCYTACA INOUE

Médico Veterinário, MSc  
Fort Dodge Saúde Animal Ltda  
Campinas, SP - Brasil  
[inouea@fdah.com](mailto:inouea@fdah.com)

## BERNADETE MIRANDA DOS SANTOS

Médica Veterinária  
Universidade Federal de Viçosa  
Viçosa, MG - Brasil  
[bmsantos@ufv.br](mailto:bmsantos@ufv.br)

## ALEXANDRE TEIXEIRA CARLOS AUGUSTO ZOCHE

Médico Veterinário  
Farmabase Saúde Animal  
Jaguariúna, SP - Brasil  
[alexandre@farmabase.com.br](mailto:alexandre@farmabase.com.br)

## MALLMANN

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Veterinária - UFSM  
Santa Maria, RS - Brasil  
[mallmann@lamic.ufsm.br](mailto:mallmann@lamic.ufsm.br)

## ANDRÉ SALVADOR

## CARLOS HENRIQUE

## **KAZANTZI FONSECA**

Biólogo, MSc  
Simbios Biotecnologia  
Canoas, RS - Brasil  
fonseca@simbios.com.br

## **CARNEIRO SANTOS**

Médico Veterinário, MSc  
Granja Planalto  
Uberlândia, MG – Brasil  
chsantos@granjaplanalto.com.br

## **ANDREIA MAURUTO CHERNAKI LEFFER**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Consultora Autônoma  
Jundiaí, SP - Brasil  
amcleffer@uol.com.br

## **CARLOS TADEU PIPPI SALLE**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Veterinária – UFRGS  
Porto Alegre, RS - Brasil  
tadsalle@gmail.com e ctps@ufrgs.br

## **ANGELO BERCHIERI JUNIOR**

Médico Veterinário, MSc, PhD  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias – UNESP  
Jaboticabal, SP – Brasil  
berchier@fcav.unesp.br

## **CÁSSIO XAVIER DE MENDONÇA JÚNIOR**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia - USP  
São Paulo, SP - Brasil  
cxmendon@usp.br

## **ANTONIO CARLOS PAULILLO**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias – UNESP  
Jaboticabal, SP – Brasil  
paulillo@fcav.unesp.br  
paulillo@netsite.com.br

## **CLARICE WEIS ARNS**

Médica Veterinária, DMV  
Instituto de Biologia - UNICAMP  
Campinas, SP - Brasil  
arns@unicamp.br

\*\*

## **CLAUDETE SERRANO ASTOLFI FERREIRA**

## **ELMIRO ROSENDO DO NASCIMENTO**



Bióloga, MSc, DSc  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia - USP  
São Paulo, SP - Brasil  
csaf@usp.br

## **CLÁUDIO WAGECK CANAL**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Veterinária - UFRGS  
Porto Alegre, RS - Brasil  
claudio.canal@ufrgs.br

## **CLAUDIO ISSAMU MIYAJI**

Médico Veterinário, MSc  
SPAVE Consultoria em Produção e  
Saúde Animal Ltda  
São Paulo, SP - Brasil  
spave@uol.com.br

## **DOUGLAS EMYGDIO DE FARIA**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Zootecnia e Engenharia  
de Alimentos - USP  
Pirassununga, SP - Brasil  
defaria@usp.br

## **EDIR NEPOMUCENO DA SILVA**

Médico Veterinário, MSc, DSc

Médico Veterinário, MSc, PhD  
Faculdade de Veterinária - UFF  
Niterói, RJ – Brasil  
elmiro@vm.uff.br

## **FERNANDA DE REZENDE PINTO**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias – UNESP  
Jaboticabal, SP - Brasil.  
f\_rezendevet@yahoo.com.br

## **GIANE SERAFIM DA SILVA**

Zootecnista, MSc, DSc  
Pólo Noroeste Paulista/APTA -  
Agência Paulista de  
Tecnologias dos Agro Negócios/SAA  
- Secretaria de  
Agricultura e Abastecimento  
Votuporanga, SP -Brasil  
giane@apta.sp.gov.br

## **HAMILTON LUIZ DE SOUZA MORAES**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Veterinária - UFRGS  
Porto Alegre, RS - Brasil  
moraeshls@gmail.com  
hamilton.souza.moraes@ufrgs.br

## **HELIO JOSÉ MONTASSIER**

Médico Veterinário, MSc, DSc

Biocamp Laboratório Ltda  
Campinas, SP - Brasil  
edir@fea.unicamp.br

Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP- Brasil  
heliojm@fcav.unesp.br

## **EDSON LUIZ BORDIN**

Médico Veterinário, MSc  
Merial Saúde Animal Ltda  
Campinas, SP - Brasil  
edson.bordin@merial.com

## **IBIARA CORREIA DE LIMA ALMEIDA PAZ**

Zootecnista, MSc, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias - UNESP  
Botucatu, SP - Brasil  
ibiara@fca.unesp.br

## **EDUARDO DE ALBUQUERQUE LIMA**

Médico Veterinário  
Aviagen do Brasil Ltda.  
Rio Claro, SP - Brasil  
elima@aviagen.com

## **INALDO SALES PATRÍCIO**

Médico Veterinário  
Consultor Autônomo  
Tatuí, SP – Brasil  
matinal@bitweb.com.br

## **EDUARDO VILAS BOAS LEFFER**

Médico Veterinário  
Intervet Schering-Plough  
Cotia, SP - Brasil  
eduardo.leffer@sp.intervet.com

## **JOSÉ DI FABIO**

Médico Veterinário  
JF Laboratório de Patologia Animal  
Campinas, SP - Brasil  
difabio@jflab.com.br

## **ELISABETH GONZALES**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia - UNESP  
Botucatu, SP - Brasil  
elisa.gonzales@uol.com.br

## **JOSÉ HENRIQUE GUIMARÃES**

Médico Veterinário  
Instituto de Ciências Biomédicas –  
USP  
São Paulo, SP – Brasil  
jguima@usp.br

## **JOSÉ SÉRGIO DE RESENDE**

Médico Veterinário  
Escola de Veterinária – UFMG  
Belo Horizonte, MG – Brasil  
isresendvet@gmail.com

## **JULIANO VITTORI**

Zootecnista  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP – Brasil  
julianovittori@yahoo.com.br

## **KARINA FERREIRA DUARTE**

Médica Veterinária, MSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP- Brasil  
karinafduarte@yahoo.com.br

## **LAURA YANETH VILLARREAL BUITRAGO**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Intervet Schering-Plough  
São Paulo, SP - Brasil  
laura.villarreal@sp.intervet.com

## **LAVÍNIA IERVOLINO ROSSINI**

## **LUIZ AUGUSTO DO AMARAL**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP- Brasil  
lamaral@fcav.unesp.br

## **LUIZ CESAR BELLO FALLAVENA**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Curso de Medicina Veterinária  
Universidade Luterana do Brasil  
Canoas – RS - Brasil  
rsf10338@via-rs.net

## **LUIZ SESTI**

Médico Veterinário, MSc, PhD  
CEVA Saúde Animal Ltda.  
Paulínia, SP - Brasil  
luz.sesti@gmail.com

## **MARCELO ALEXANDRE FAGNANI ZUANAZE**

Médico Veterinário  
Laboratórios Pfizer Ltda – Divisão de Saúde Animal  
São Paulo, SP Brasil  
marcelo.zuanaze@pfizer.com

## **MARCELO VASCONCELOS**

Médica Veterinária  
JF Laboratório de Patologia Animal  
Campinas, SP - Brasil  
la.rossini@bol.com.br

## **MEIRELES**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Curso de Medicina Veterinária -  
UNESP  
Araçatuba, SP - Brasil  
marcelo@fmva.unesp.br

## **LIANA BRENTANO**

Médica Veterinária, MSc, PhD  
Centro Nacional de Pesquisa de  
Suínos e Aves  
Concórdia, SC – Brasil  
brentano@cnpisa.embrapa.br

## **MARCOS BARCELLOS CAFÉ**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Escola de Veterinária – UFG  
Goiânia, GO - Brasil  
mcafe@vet.ufg.br

## **LÍVIA MARA FELIPE**

Médica Veterinária, MSc  
Sertanejo Alimentos S/A  
Guapiaçu, SP - Brasil  
liviafelipe@gmail.com

## **MARCOS MACARI**

Biomédico, MSc, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP- Brasil  
macari@fcav.unesp.br

## **LUCIANO DORETTO JÚNIOR**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Centro de Pesquisas em Animais do  
Brasil - CPABR  
Amparo, SP - Brasil  
doretto@zaaz.com.br

## **MARIA AUXILIADORA ANDRADE**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Escola de Veterinária – UFG  
Goiânia, GO - Brasil  
maa@vet.ufg.br

## **LUIZ FELIPE CARON**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Veterinária – UFPR  
Curitiba, PR – Brasil  
lfcaron@ufpr.br

## **MARIA BEATRIZ CARDOSO DE OLIVEIRA**

Médica Veterinária, MSc  
Lohmann Saúde Animal  
São Paulo, SP - Brasil  
biacardoso@attglobal.net

## **MARISETE CERUTTI**

Médica Veterinária, MBA  
Seara Alimentos SA  
Seara, SC - Brasil  
marisete\_cerutti@cargill.com

## **PATRÍCIA TIRONI ROCHA**

Médica Veterinária, MSc  
Perdigão Agroindustrial AS  
Videira, SC - Brasil  
patricia.rocha@perdigao.com.br

## **MARK ISHI**

Médico Veterinário  
Fatec S/A  
São Paulo, SP - Brasil  
mark.ishi@fatec.com.br

## **PAULO CÉSAR MARTINS**

Médico Veterinário  
Des-Vet Divisão de Produtos  
Veterinários Des-Far  
Laboratórios Ltda.  
São Paulo - SP – Brasil  
paulo.martins@desvet.com.br

## **NAIR MASSAKO KATAYAMA ITO**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
SPACE Consultoria em Produção e  
Saúde Animal Ltda.  
São Paulo, SP - Brasil  
spave@uol.com.br

## **PAULO DILKIN**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Veterinária – UFSM  
Santa Maria, RS - Brasil  
dilkin@lamic.ufsm.br

## **NELSON RODRIGO DA SILVA MARTINS**

Médico Veterinário, MSc, PhD  
Escola de Veterinária – UFMG  
Belo Horizonte, MG - Brasil  
rodrigo@vet.ufmg.br

## **PAULO LOURENÇO DA SILVA**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Medicina Veterinária –  
UFU  
Uberlândia, MG - Brasil  
plsilva@umuarama.ufu.br  
pauloufu@hotmail.com

## **NILCE MARIA SOARES**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Instituto Biológico  
Bastos, SP - Brasil  
updbastos@biologico.sp.gov.br  
nilcemarias@gmail.com

## **NILO IKUTA**

Engenheiro Agrônomo, MSc, DSc  
Simbios Biotecnologia  
Canoas, RS - Brasil  
ikuta@simbios.com.br

## **OSWALDO DURIVAL ROSSI JÚNIOR**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP - Brasil  
rossijr@fcav.unesp.br

## **OLIVEIRO CAETANO DE FREITAS NETO**

Médico Veterinário, MSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP - Brasil  
oliveirocaetano@yahoo.com.br

## **OTTO MACK JUNQUEIRA**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e

## **RAPHAEL LUCIO ANDREATTI FILHO**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia - UNESP  
Botucatu, SP - Brasil  
andreatti@fmvz.unesp.br

## **RENATO LUIS FURLAN**

Médico Veterinário, MSc, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP - Brasil  
rlfurlan@fcav.unesp.br

## **RICARDO HUMMES RAUBER**

Médico Veterinário, MSc  
Instituto de Soluções Analíticas  
Microbiológicas e  
Tecnológicas (Instituto SAMITEC).  
Santa Maria, RS - Brasil  
rauber@samitec.com.br

## **RUBEN PABLO SCHOCKEN-ITURRINO**

Médico Veterinário, DSc  
Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP - Brasil  
pablo@fcav.unesp.br

## **SANDRA OKABAYASHI MIYAJI**

Médica Veterinária

Veterinárias - UNESP  
Jaboticabal, SP - Brasil  
ottomack@fcav.unesp.br

SPACE Consultoria em Produção e  
Saúde Animal Ltda  
São Paulo, SP - Brasil  
spave@uol.com.br

\*\*

## **SUZETE LORA KUANA**

Médica Veterinária, MSc  
Perdigão Agroindustrial SA  
Videira, SC - Brasil  
suzete.kuana@perdigao.com.br

## **TÂNIA DE FREITAS RASO**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia –  
USP  
São Paulo, SP - Brasil  
tfraso@usp.br

## **TAYLOR MARCELO CORREA BARBOSA**

Médico Veterinário, MSc  
The University of Georgia  
Athens, Geórgia - EUA  
taylorb@uga.edu

## **TEREZINHA KNÖBL**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU  
Universidade do Grande ABC – UniABC  
Universidade Metropolitana de Santos - UNIMES  
São Paulo, SP - Brasil  
tknobl@fmu.br

## **URARA KAWAZOE**

Médica Veterinária, DSc  
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP  
Campinas, SP - Brasil  
urara@unicamp.br  
ukawazo@gmail.com

## **VAGNER RICARDO LUNGE**

Engenheiro Agrônomo, MSc  
Simbios Biotecnologia  
Canoas, RS - Brasil  
lunge@ulbra.br

## **VIRGINIA LÉO DE ALMEIDA PEREIRA**

Médica Veterinária, MSc, DSc  
Doutora em Higiene Veterinária e Processamento  
Tecnológico de Aves, Ovos e Derivados  
Professor Adjunto III  
Universidade Federal Fluminense - UFF  
Niterói – RJ - Brasil  
virginialeo@vm.uff.br

## **VLADIMIR PINHEIRO DO NASCIMENTO**

Médico Veterinário, MSc, PhD  
Faculdade de Veterinária - UFRGS  
Porto Alegre, RS - Brasil  
vladimir@orion.ufrgs.br



Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos

Aviagen do Brasil Ltda

Bayer S/A

Ceva Saúde Animal Ltda

Cobb-Vantress Brasil Ltda

Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo

Dês-Far Laboratórios Ltda

Fort Dodge Saúde Animal Ltda

Granja Planalto Ltda

Hendrix Genetics Ltda

Intervet Schering-Plough

Kemin do Brasil Ltda

Laboratório Biovet S.A.

Laboratórios Pfizer Ltda

Merial Saúde Animal Ltda

Novus do Brasil Comércio e Importação Ltda

Nutron Alimentos Ltda

Poly Sell Produtos Químicos Ltda

União Brasileira de Avicultura

Depois do enorme sucesso do lançamento da primeira edição nove anos atrás, temos a grande satisfação de trazer agora a segunda edição do livro "**Doenças das Aves**". Esta 2ª edição apresenta uma revisão geral dos capítulos da 1ª edição e a inclusão de vários novos capítulos. Deste modo, objetivamos contemplar a forte evolução da medicina aviária ocorrida nos últimos anos.

Sob a coordenação da FACTA, esta obra é o esforço conjunto de profissionais de entidades públicas de ensino e pesquisa e da iniciativa privada, apoiados por associações de classe como a União Brasileira de Avicultura (UBA) e o Conselho Regional de Medicina Veterinária de São Paulo (CRMV-SP).

O objetivo desta publicação é o de dar continuidade a difusão de conhecimento técnico-científico confiável - um dos pilares-mestre da FACTA - aos profissionais da avicultura industrial, através de uma linguagem científica objetiva e de larga abrangência, e escrita por profissionais de elevada competência e muitos anos de envolvimento com o segmento avícola.

Esta obra objetiva proporcionar não somente os mais atualizados conhecimentos científicos, mas principalmente, a experiência de cada autor, o que torna este trabalho único e de substancial valor para a comunidade científica, médicos veterinários de campo, estudantes de medicina veterinária, produtores e todos os demais interessados em medicina das aves.

Temos a esperamos, mais uma vez, de alcançarmos o objetivo de prover nossa contribuição voluntária ao avanço da avicultura através desta ferramenta para o conhecimento e solução dos problemas de saúde dos plantéis de aves domésticas, principalmente aqueles da avicultura industrial.

Estamos imensamente gratos por termos podido contar com o entusiasmo e a boa vontade de sempre dos melhores profissionais no mercado, para os quais oferecemos nossos mais ternos e profundos agradecimentos. Nossa maior e única compensação é a motivação profissional que nossos colegas da avicultura encontrarão nesta fonte de informações sobre a medicina aviária.

Agradecemos também, de sobremaneira, aos patrocinadores desta 2ª edição, os quais, com sua atitude de apoio e suporte a este trabalho reconheceram sua importância para a avicultura brasileira.

Por fim, agradecemos a nossos colegas da FACTA pelo incansável trabalho de apoio e gerenciamento desta obra.

**Os Editores**

**Biosseguridade e qualidade em criações  
avícolas**

**1.1 - Prevenção de doenças / Manejo profilático / 03**

**Monitoria**

*Carlos Tadeu Pippi Salle, Hamilton Luiz de Souza Moraes*

**1.2 - Limpeza e desinfecção de instalações avícolas 21**

*Suzete Lora Kuana*

**1.3 - Coleta e envio de material para laboratório 41**

*José Di Fábio, Lavinia Lervolino Rossini*

**1.4 - Programa de qualidade higiênica na produção 53**

**avícola**

*Marisete Cerutti*

# Prevenção de doenças / Manejo profilático / Monitoria

<b>Manejo sanitário do lote</b>	<b>2</b>
<b>Drogas</b>	<b>3</b>
<b>Desinfetantes</b>	<b>3</b>
<b>Limpeza e desinfecção de galpões e equipamentos</b>	<b>5</b>
<i>Compostagem</i>	6
<b>Manejo sanitário do ovo fértil</b>	<b>6</b>
<i>Qualidade interna e externa</i>	6
<i>Coleta</i>	6
<i>Ninhos</i>	7
<i>Ovos de piso ou de chão</i>	7
<i>Seleção e desinfecção dos ovos</i>	7
<i>Transporte para o incubatório</i>	8
<i>Controle sanitário da incubação</i>	8
<i>Monitoramento da incubação</i>	9
<b>Sistema imunológico das aves</b>	<b>9</b>
<b>Vacinações e monitorizações</b>	<b>9</b>
<i>Vacinas</i>	9

<i>Monitoramento de salmonelas e micoplasmas</i>	10
<i>Monitorização sorológica</i>	10
<i>Interpretação dos resultados da monitorização sorológica</i>	11
<i>Monitoria de micotoxinas</i>	14
<i>Utilização de inteligência artificial na avicultura</i>	14
<b>Bibliografia</b>	16

# Capítulo 1.1 - Prevenção de doenças / Manejo profilático / Monitoria

**Carlos Tadeu Pippi Salle; Hamilton Luiz de Souza Moraes**

A indústria avícola se caracteriza pela contínua agregação de novas tecnologias. Esta característica tem feito com que a avicultura tenha os mais destacados índices de produtividade entre os diversos segmentos da pecuária. Os indicadores de produção da avicultura brasileira são iguais, ou freqüentemente melhores, que os encontrados em qualquer outro país do mundo.

O uso dos métodos de controle de qualidade já é rotina para as empresas avícolas brasileiras. Buscam, com isto, um rigoroso padrão de qualidade que se reflita na escolha do produto pelo consumidor e na conquista de novos mercados no País e no exterior. Sob as novas circunstâncias nas quais as barreiras não tarifárias, principalmente as barreiras sanitárias, são utilizadas com freqüência cada vez maior, a preocupação com a sanidade dos plantéis é uma constante, seja nas granjas, incubatórios ou abatedouros.

As perdas causadas pelas enfermidades das aves domésticas advém de cinco grupos ou tipos de doenças, sendo elas:

Doenças respiratórias, entre as quais, se destacam as micoplasmoses e enfermidades virais como doença de Newcastle, bronquite infecciosa, varíola aviária, pneumovirose (síndrome da cabeça inchada) e influenza aviária.

- Doenças bacterianas, exemplificadas com as salmoneloses e infecções por *Escherichia coli*.
- Doenças tumorais, representadas pela doença de Marek, leucose linfóide e leucose mielóide.
- Doenças parasitárias, entre as quais, a mais importante é a coccidiose.
- Doenças imunodepressoras, que têm seus melhores exemplos na doença infecciosa bursal, também conhecida como doença de Gumboro, anemia infecciosa das aves e nas micotoxicoses, principalmente a aflatoxicose e a ocratoxicose.

Os meios mais comuns para a disseminação das doenças são:

- Introdução de aves doentes no lote.
- Introdução de aves saudáveis, mas que sofreram doença e são portadores.
- Contato com objetos inanimados (fômites) contaminados com microrganismos.
- Carcaças de animais mortos.
- Água de má qualidade.
- Roedores, aves silvestres e insetos.
- Sapatos e roupas dos operários e visitantes.
- Via aérea.
- Transmissão pelo ovo (vertical).

Em razão da forma como as aves industriais são criadas, ou seja, em alta densidade populacional,

estas enfermidades raramente apresentam-se sozinhas. Com frequência cada vez maior, uma enfermidade abre as portas para a outra ou associam-se entre si. Isso faz com que o diagnóstico laboratorial seja de extrema importância para a confirmação do diagnóstico clínico, indicação do tratamento e aplicação das medidas de prevenção e controle de maneira adequada. Infelizmente, nas universidades elas são apresentadas isoladamente, porque geralmente não se dispõe de outro recurso didático, dificultando ao estudante a percepção do inter-relacionamento entre elas, tal como ocorre no campo. Desta forma, muitas vezes o médico veterinário busca apenas um diagnóstico para determinado problema quando, na verdade, ele está se defrontando com vários agentes etiológicos superpostos que exigirão a proposição de medidas específicas para cada etiologia identificada e, para que assim, o problema seja resolvido de maneira eficaz.

Exemplificando, as medidas isoladas tomadas contra infecções causadas por *Escherichia coli* terão eficácia menor se no lote estiverem presentes, e não forem diagnosticadas, micoplasmose, bronquite infecciosa, doença infecciosa bursal e micotoxicoses. A Figura 1 apresenta a frequência dos diagnósticos efetuados nos laboratórios Central e Regional Serra do Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), no ano de 1998 e que ilustra o grau de associação entre as diversas enfermidades das aves. Daquela data até os dias de hoje a situação continua similar.

**Figura 1** - Frequência de diagnósticos realizados no mesmo material no ano de 1998. Fonte: CDPA-UFRGS.

## Manejo sanitário do lote

Muitas vezes, a observação diária do lote é fundamental para explicar possíveis alterações que poderão ser erroneamente atribuídas à presença de doenças infecciosas. Desta forma, deve-se estar atento para o consumo de água e de alimento, para os sons emitidos pelos animais (espirros, tosse) e para o comportamento das aves. Frequentemente, falhas no manejo são as responsáveis por situações anormais no lote e devem ser investigadas imediatamente. Erro no processo de debicagem, ingestão de cama, falta de água e de alimento, frio ou calor anormais, falhas na rede elétrica e em equipamentos automáticos, dimensionamento dos ventiladores, canibalismo, roedores, etc. Por exemplo, muitas vezes são observadas quedas na postura de poedeiras comerciais que podem ser corrigidas através da melhor oferta de água para as aves.

Não existe um programa de prevenção de doenças para ser aplicado em todas as granjas avícolas, mas alguns princípios básicos podem ser obedecidos para facilitar a prevenção de doenças.

- Selecionar cuidadosamente o fornecedor de pintainhos, aves de recrias ou ovos para incubação assegurando-se de que eles provém de reprodutoras saudáveis
- Comprar somente pintainhos de um dia ou ovos embrionados. Se for necessário adquirir aves de recria, sempre buscar a melhor alternativa considerando a sanidade em primeiro lugar.
- Manter os animais agrupados de acordo com a idade e a procedência.
- Seguir o programa “tudo dentro-tudo fora” (*all-in, all-out*).
- Sempre que possível, trocar a cama, limpar e desinfetar o aviário e todo o equipamento.
- Selecionar ou fabricar alimento de boa qualidade.
- Oferecer água em quantidade suficiente e de boa qualidade.
- Permitir somente a entrada de pessoal estritamente necessário às atividades laborais da

granja, ou seja, evitar visitas.

- Em caso de alguma doença no lote, deve-se providenciar um diagnóstico rápido e confiável e aplicar o tratamento e as medidas de prevenção e controle adequadas ao caso.
- Desprezar todas as aves mortas usando a incineração, fossa séptica ou compostagem.
- Manter registros sobre a saúde do lote (datas de vacinações, tipos de vacinas, medicação aplicada, mortalidade, etc.).

## Drogas

A indústria avícola utiliza um grande número de drogas no seu dia a dia e muitas delas são adicionadas à ração como promotores de crescimento. Estes últimos, também são empregados nas situações de estresse como a movimentação, vacinação ou debicagem dos animais. Nestas situações, é difícil avaliar o benefício que trazem. Por outro lado, a avicultura gasta uma grande quantidade de dinheiro com tratamentos que produzem pouco ou nenhum efeito. Em termos gerais, não devem ser utilizadas drogas até que se tenha um diagnóstico do problema, ou seja, consultado um médico veterinário. A não observação desta premissa pode ocasionar perda de dinheiro, criar problemas para a formulação de medidas futuras e para o correto diagnóstico da doença em questão. As drogas deverão ser usadas de acordo com o diagnóstico efetuado e tendo em conta que podem deixar resíduos na carne e nos ovos. Assim sendo, é recomendável a observação cuidadosa do momento em que deverão ser retiradas com vistas à qualidade sanitária do produto e aos riscos que podem oferecer à saúde pública.

Os tratamentos medicamentosos podem ser aplicados da seguinte forma:

- **Aplicação em massa:** incorporação ao alimento, por meio da água de beber, por aerossol ou aspergindo a droga para ser respirada.
- **Aplicação individual:** parenteral (subcutânea, intramuscular).

Os métodos de aplicação em massa são os preferidos e os mais utilizados porque facilitam o trabalho e originam estresse menor, pois as aves não são manuseadas individualmente e a medicação pode ser feita por períodos maiores. Mas, a maior desvantagem é a de que não se tem o controle da dose que cada animal recebe.

As drogas empregadas na granja sempre deverão estar de acordo com as recomendações do fabricante, garantindo o nível de segurança, combinações com outros princípios ativos e período de retirada para evitar resíduos.

Além das citadas anteriormente, há outras razões pelas quais o uso indiscriminado de drogas deverá ser desestimulado. Entre elas estão:

- Custo.
- Indução de resistência nos microrganismos.
- A utilização de medicação preventiva pode levar o criador a uma falsa sensação de segurança e negligenciar as medidas sanitárias.
- Frequentemente, a medicação preventiva mascara a doença presente e torna o diagnóstico laboratorial mais difícil pelas dificuldades em isolar o agente etiológico.



# Desinfetantes

Os desinfetantes atuam, geralmente, por contato com as partes externas dos microrganismos, desnaturando os seus constituintes protéicos ou dissolvendo os seus componentes lipídicos. O processo de esterilização é quando se consegue eliminar drástica e indiscriminadamente todos os microrganismos (vírus, bactérias e fungos) do local. Ao contrário, quando a ação do desinfetante é mais suave e a destruição é parcial, não se conseguindo, por exemplo, eliminar as formas esporuladas, têm-se a desinfecção

Não se pode pretender que o controle da população microbiana de um ambiente possa ser feito indefinidamente pela simples aplicação periódica de um desinfetante. Esse conceito errôneo levará, fatalmente, ao desenvolvimento de microrganismos resistentes e à necessidade de substituição do desinfetante. Eles têm limitações que devem ser conhecidas. Alguns deles têm afinidade pela matéria orgânica e, por isso, atuam mal na presença da mesma. Não são, portanto, recomendáveis para serem usados em pedilúvio, rodolúvio ou para desinfecção de piso. Outros são sensíveis a variações de pH ou de temperatura. A amônia quaternária não deve ser aplicada sobre superfícies onde existam restos de detergentes ou sabões aniônicos porque seria neutralizada por eles. Boa parte dos desinfetantes são irritantes para as mucosas e para a pele, por isso, devem ser utilizados com extremo cuidado para evitar acidentes.

É importante também, que no momento da escolha do desinfetante possa se compatibilizar as propriedades dele com as necessidades de sua utilização. Para isso, deve-se levar em conta o tipo de microrganismo (vírus, bactérias ou fungos) devem ser controlados e o local ou o objeto que deve ser desinfetado (piso, parede, máquinas, equipamento, material cirúrgico, veículos, etc.). Os equipamentos, veículos e material cirúrgico acabam sendo danificados quando se usa sistematicamente um desinfetante corrosivo. Os pisos de galpões, incubatórios, entre outros, geralmente têm restos de matéria orgânica, o que limita a ação de alguns desinfetantes.

## Desinfetantes mais usados na avicultura

**Formol (formaldeído ou aldeído fórmico):** disponível no comércio em solução aquosa a 37% ou em pó (paraformaldeído), que é a forma polimerizada do formol. Foi o desinfetante mais popular na avicultura, principalmente em incubatórios. Na atualidade vem perdendo a popularidade por ser uma droga altamente irritante das mucosas e pele, além de recair sobre ele a suspeita de ser carcinogênico. É um excelente desinfetante. Atua tanto sobre bactérias como sobre vírus e fungos. Funciona muito bem na desinfecção de ovos férteis, o que é feito em nível de granja e em incubatórios. Também é utilizado na desinfecção de incubadoras, nascedouros e de todas as salas e dependências do incubatório. Geralmente, para os fins citados ele é usado como gás fumegante, o que se consegue vertendo o formol sobre o permanganato de potássio, em proporção de 2:1. As concentrações dos reagentes (formol + permanganato) são calculadas tomando-se o metro cúbico como unidade a ser desinfetada. Assim, pode-se utilizá-los em proporção de 14ml de formol para 7g de permanganato de potássio por metro cúbico (14:7) e esta seria uma concentração simples. Pode-se utilizar concentrações dupla (28:14), tripla (42:21) e assim por diante, dependendo do que se queira desinfetar.

Ao se verter a formalina sobre o permanganato de potássio, haverá uma reação exotérmica

intensa, com evaporação rápida do formol. Nunca se deve fazer o contrário, isto é, despejar o permanganato sobre o formol, pois pode ocorrer uma explosão.

Para que o objetivo desejado seja atingido, ou seja, para que haja uma boa desinfecção o ambiente onde a operação está se realizando, a área deve estar com umidade relativa próxima a 80% e temperatura em torno de 30°C. Em certas câmaras de desinfecção de ovos, o formol é vertido sobre uma cortina de tecido, estendida próximo a um ventilador e, assim, é evaporado sem ser preciso fazê-lo reagir com o permanganato de potássio.

Aquecendo-se o paraformaldeído, por sublimação, ocorre liberação de vapores de formol.

**Glutaraldeído:** desinfetante de largo espectro, também é um aldeído como o formol e é bactericida, com atividade lenta sobre micobactérias, esporicida, virucida e fungicida, mas, é ineficaz sobre os prions. Deve ser utilizado a uma concentração de 1 a 2% para se obter efeito desinfetante. Tem volatilidade demorada, mas seu efeito residual só acontece quando utilizado acima do recomendado que é entre 1 a 2ppm. É um bom desinfetante de superfícies por agir razoavelmente bem na presença de matéria orgânica. É utilizado como desinfetante de equipamentos e instrumental que não possam ser submetidos ao calor. O pH alcalino aumenta sua atividade antimicrobiana. É biodegradável e sua ação é rápida naqueles microrganismos sensíveis a ele. Apesar de ter um odor apazível ele é irritante às mucosas, podendo causar danos aos olhos. O uso repetido e continuado pode ocasionar reações alérgicas, como asma. Em pessoas com hipersensibilidade, portanto, o seu manuseio deve ser feito sob proteção de máscaras, luvas, etc.

**Amônia quaternária:** é outro desinfetante largamente utilizado na avicultura. Tem atuação limitada em presença de matéria orgânica e em superfícies com restos de sabões e detergentes aniônicos. É efetivo contra vírus (boa atividade sobre os vírus envelopados e nula sobre os não envelopados), bactérias (bacteriostático sobre as Gram negativas e bactericida sobre as Gram positivas) e fungos. Não é esporicida e nas soluções usuais não é irritante para pele, nem corrosivo. A amônia quaternária é efetiva em pH ácido e alcalino, é inodora, não mancha e tem rápida ação sobre os microrganismos sensíveis a ela.

**Fenóis:** são eficientes na presença de matéria orgânica. É um germicida de largo espectro, age sobre bactérias Gram positivas e negativas, fungos e muitos vírus. É pouco tóxico, mas pode ocasionar despigmentação da pele e irritação nos olhos, quando usados em grandes concentrações. Sua atuação não é prejudicada pela presença de matéria orgânica. Por isso, é indicado para ser usado em pedilúvio e desinfecção de pisos por ter bom efeito residual.

**Cresóis:** derivados do alcatrão da hulha. Sua atuação também não é prejudicada pelo contato da matéria orgânica. Têm um poder residual prolongado. Possuem um largo espectro de atuação, eliminando bactérias Gram negativas, mas não as Gram positivas e também não destroem os esporos.

Exalam odor forte e são irritantes para a pele e olhos. Não corroem materiais metálicos, porém, podem corroer materiais de borracha e plástico. Não devem ser utilizados em recintos fechados.

**Iodados e clorados:** são desinfetantes halogênicos. Suas propriedades são similares. Têm uma ação germicida, poder residual pobre e sua atuação sobre os microrganismos se faz através da

desnaturação protéica. Atuam mal em presença de matéria orgânica e podem manchar as superfícies onde são aplicados. Iodóforos são compostos que liberam iodo quando dissolvidos em água, em função disto e da liberação de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> são muito corrosivos. Eliminam bactérias Gram negativas e positivas, fungos e muitos vírus e podem ser utilizados na água de bebida das aves. Os desinfetantes clorados são comercializados como hipoclorito de sódio ou de cálcio, ou como dióxido de cloro, que tem um grande espectro de ação, inclusive em esporos. Os clorados também são muito corrosivos. Os desinfetantes em uso nas empresas, devem ser periodicamente submetidos a testes laboratoriais que avaliem sua eficácia frente aos microrganismos.

**Ácido peracético:** o ácido peracético é um agente oxidante que age desnaturando as proteínas, por rompimento da permeabilidade da membrana celular. Tem amplo espectro de ação, incluindo as micobactérias e esporos bacterianos. A inativação dos microrganismos é dependente do tempo, variando de 15 segundos a 30 minutos em concentrações de 1000 a 100ppm, respectivamente. É corrosivo para metais, no entanto, esta corrosão pode ser diminuída por aditivos e alterações de pH.

**Ácido peracético e peróxido de hidrogênio:** a mistura produz um produto com atividade de grande espectro, rápida ação e esporicida. É menos corrosivo que o dióxido de cloro e tem odor menos intenso que o glutaraldeído, mas pode causar irritação nos olhos e na mucosa respiratória. Não deve ser utilizado em materiais metálicos, mas tem boa compatibilidade com plásticos. Aditivos e modificações de pH reduzem a corrosão.

## Limpeza e desinfecção de galpões e equipamentos

Entre a saída de um lote de aves, que chegou ao final de seu ciclo de produção, e a chegada do próximo, deve haver um intervalo de tempo em que os galpões permanecem vazios. É o chamado vazio sanitário, que quanto mais prolongado for, tanto melhor, sob o ponto de vista sanitário.

Em criações de frangos de corte, têm-se observado uma redução desse período de vazio sanitário, assim como uma deterioração geral na prática de limpeza e desinfecção dos galpões.

A reutilização de uma mesma cama em lotes sucessivos e o uso de pisos de chão batido (sem revestimento de concreto ou asfalto), nos galpões de frangos de corte dificulta, ou mesmo impede, que seja feita uma boa desinfecção do ambiente.

### Execução da limpeza e desinfecção

- Retirar as sobras de ração dos comedouros.
- Remover os equipamentos desmontáveis.
- Proteger os motores e equipamentos elétricos da ação da água e desinfetantes.
- Remover a cama ou amontoá-la no interior do galpão, se for reutilizá-la.
- Lavar e escovar o piso, quando este for de concreto, usando um detergente, preferencialmente aniônico e água sob pressão.
- Lavar parede, forro e cortinas, com detergente e água sob pressão.
- O exterior dos galpões, como área de serviço, telhado e paredes externas, calhas de esgoto, devem ser desinfetados.

- Se o piso dos galpões for de terra é recomendável o uso de desinfetantes cresólicos, pois sua ação não é prejudicada pela presença de matéria orgânica, além de terem um bom poder residual.
- Enxaguar com bastante água para remover a matéria orgânica dissolvida durante a lavagem e o resto do detergente.
- Depois de secas, todas as superfícies lavadas, inclusive os equipamentos, são desinfetados com uma solução de amônia quaternária ou outro desinfetante apropriado, em concentração indicada pelo fabricante.
- Antes de distribuir a cama nova, é conveniente utilizar algum inseticida de baixa toxicidade, como os carbanatos, sobre o piso com o objetivo de controlar o cascudinho (*Alphytobius diaperinus*) da cama.
- Em galpões de criação de frangos de corte, onde normalmente a cama é reutilizada, ela deve ser parcialmente substituída por uma nova, nas zonas dos círculos de proteção, onde os pintainhos permanecerão por mais tempo. Deve-se substituir a cama nos locais emplastados.

## Compostagem

Quando um lote de aves apresentar história de enfermidades de alto risco, tanto para as aves (Doença de Newcastle, tifo, pulorose) como para a saúde pública (presença de outras salmonelas, especialmente *S. enteritidis*), haverá necessidade de que seus dejetos (cama ou fezes) recebam um tratamento especial, a fim de que esses microrganismos sejam destruídos. Em caso de Doença de Newcastle, o melhor é a incineração. Em se tratando de *Salmonella* spp. pode-se fazer a compostagem desses resíduos, incluindo também as aves mortas.

Os fatores temperatura, umidade e tempo de exposição, a que ficam submetidos os microrganismos patogênicos são suficientes para destruí-los. Ultimamente tem-se apregoadado esse processo para uso em rotina nas granjas, por sua eficiência na decomposição de carcaças de aves mortas.

## Manejo sanitário do ovo fértil

O ovo fértil pode ser considerado como a matéria prima que dará origem ao pintinho. Portanto, há uma correlação entre as qualidades de um e do outro, daí a preocupação em produzir e manusear os ovos da melhor forma possível, desde sua produção, nas granjas até sua transformação em pintainho no incubatório.

As aves dispõem de um sistema reprodutivo bem diferente daquele dos mamíferos. Nelas, quase que a totalidade do período embriogênico ocorre fora do corpo da mãe. A célula embrionária é envolvida pelos elementos nutritivos necessários ao desenvolvimento do embrião e o conjunto é envolto por uma capa calcárea que é a casca. Como o embrião necessita, para o seu desenvolvimento, realizar trocas gasosas com o meio externo, a casca tem que ser porosa, o que torna o ovo vulnerável ao ataque de microrganismos ambientais. A contaminação da casca já se inicia quando da sua passagem pela cloaca e continua, posteriormente, pelo contato com o meio externo, como ninhos, bandejas de coletas, poeira ambiental, mãos do coletador, etc.

O ovo tem suas próprias defesas. A casca, quando íntegra e bem calcificada, constitui o primeiro

obstáculo à penetração de bactérias. Logo que o ovo sai do organismo materno vem revestido por uma substância mucóide que em contato com o ar se solidifica, diminuindo o tamanho dos poros da casca, dificultando, assim, a penetração de microrganismos. Calcula-se que existam de 100 a 300 poros por milímetro quadrado de casca. Há uma relação inversa entre a espessura da casca e o tamanho do diâmetro dos poros, por isso é de extrema importância a qualidade dela nos ovos destinados à incubação. O próprio albúmen ou “clara” do ovo representa uma barreira à invasão de microrganismos já que dispõe de substâncias antimicrobianas, como é o caso da avidina e da lisozima.

## Qualidade interna e externa

O ovo incubável tem que ter uma casca sem defeitos, tais como rachaduras, trincas, rugosidades, deformações, além de ter uma boa calcificação. Internamente, não deve apresentar manchas, estrias de sangue ou corpos estranhos. A espessura da casca do ovo pode variar para menos ou para mais em função de alguns fatores.

- **Nutrição:** deficiência mineral na ração, principalmente em relação ao cálcio e fósforo.
- **Idade das reprodutoras:** aves mais velhas produzem ovos com casca mais delgada.
- **Enfermidades:** algumas doenças como a bronquite infecciosa, síndrome da queda de postura (EDS 76) e outras, podem interferir na calcificação da casca. Em geral, todas as enfermidades febris alteram a qualidade da casca, assim como alguns tóxicos, como os organoclorados, que podem interferir no mecanismo de calcificação da casca impedindo ou dificultando a síntese do  $\text{CaCO}_3$ , principal constituinte mineral da casca. Felizmente, a galinha doméstica, ao contrário de outras aves, é pouco suscetível à ação dos organoclorados sobre a produção de  $\text{CaCO}_3$  no oviduto.

## Coleta

Quanto menos tempo os ovos permanecerem no interior do galpão, menor será a contaminação de suas cascas. O número de coletas diárias não deve ser inferior a cinco. Como as aves põem uma porcentagem maior de ovos pela manhã, as coletas devem ser intensificadas nesse turno. Assim, se forem realizadas cinco coletas ao dia, que se façam três no turno da manhã e duas à tarde. É preferível que as coletas sejam feitas em bandejas de material plástico por serem mais apropriadas à desinfecção. As bandejas quando cheias são depositadas sobre carrinhos que se deslocam, sobre trilhos, ao longo do galpão. Não se deve empilhar as bandejas cheias de ovos sobre o piso dos galpões. No verão deve-se aumentar o número de coletas diárias.

## Ninhos

Recomenda-se um ninho para cada quatro aves. Eles são dispostos nas laterais e ao longo dos galpões. Podem ser metálicos ou de madeira. Devem ser forrados com algum material macio que suavize o impacto do ovo sobre a superfície dura do ninho no momento da postura e que o proteja da pressão do corpo da galinha. Os mesmos materiais que se utilizam como cama, podem ser empregados com esse fim. A maravalha de madeira, restos de cultura agrícola como palhas e casca de grãos ou, ainda, material sintético, especialmente produzido com essa finalidade. Seja

qual for o material escolhido, deve proporcionar conforto às aves, proteção aos ovos e não propiciar a multiplicação de microrganismos. Esses materiais devem ser substituídos periodicamente, a cada semana ou no máximo a cada quinze dias. Os ninhos sintéticos são desinfetados periodicamente e trocados a cada lote. Pode-se adicionar 20 a 25g de paraformaldeído à cama dos ninhos. A quebra total e a trincagem de ovos nos ninhos pode ser minimizada quando se intensifica as coletas, não deixando que eles se acumulem. A revisão periódica dos ninhos, com reposição do material que serve como cama, ajuda a diminuir a quebra total do ovo, o que favorece a multiplicação de bactérias, assim como ajuda a diminuir a porcentagem de ovos trincados.

Não se pode permitir que as aves pernoitem nos ninhos porque elas defecam, durante a noite, no interior deles. Por isso, é recomendado que os ninhos sejam fechados à tarde e novamente abertos pela manhã.

Para que a higiene do ninho seja mantida e, por conseqüência, a contaminação dos ovos seja menor, é indispensável que a cama dos galpões seja mantida seca. Caso contrário, as aves transportarão, em seus pés e penas, detritos orgânicos provenientes da cama umedecida, que acabam contaminando os ninhos e os ovos aí depositados. Os galpões de reprodutoras parcialmente ripados, recurso muito utilizado em granjas avícolas norte-americanas, ajudam a manter os ninhos limpos.

## Ovos de piso ou de chão

São assim denominados aqueles ovos que as aves põem sobre a cama do galpão e não nos ninhos. Várias são as causas dessa anomalia. Em aves jovens, em início de postura, geralmente se observa um percentual maior desse tipo de ovo. Paulatinamente elas vão adquirindo o hábito correto de efetuarem a postura nos ninhos. Entretanto, umas poucas permanecerão colocando seus ovos no piso do galpão. A quantidade insuficiente de ninhos, para o número de aves alojadas contribui para que o percentual de ovos de piso aumente. O excesso de claridade nos ninhos faz com que as aves busquem locais mais escuros para efetuarem a postura. É recomendável que as frangas possam estar em contato com os ninhos algum tempo antes do início da postura e que o acesso a eles seja facilitado pela colocação de poleiros na frente dos ninhos.

Os ovos de piso, por terem tido contato com dejetos das aves, são impróprios para incubação, pois a maioria deve estar intensamente contaminada por uma gama enorme de microrganismos, entre os quais os coliformes, os quais penetram ativamente através da casca e são responsáveis pela putrefação do ovo e produção do cheiro de gás sulfídrico, característico de ovo podre. Quando, além disso, houver produção de gás também, haverá aumento da pressão interna do ovo que poderá explodir no interior da incubadora e espalhar material contaminado sobre os demais ovos, provocando uma reação em cascata. Quando a decisão for de incubar esses ovos, que seja feita em separado, em máquinas de estágio único, após serem rigorosamente desinfetados. Deve-se descartar aqueles ovos que pernoitaram no chão.

## Seleção e desinfecção dos ovos

Durante a coleta dos ovos já se pode realizar uma pré-seleção, na qual separam-se os ovos

trincados, rachados, sujos, deformados e os que forem muito pequenos ou muito grandes. Os ovos colhidos no piso do galpão não devem ser misturados aos demais. É fundamental que os funcionários encarregados da coleta lavem e desinfetem as mãos, pelo menos, no início de cada coleta. Para isso, podem utilizar álcool ou álcool iodado. Imediatamente após as coletas, os ovos são transferidos dos galpões para a sala de ovos da unidade de matrizes, onde deverão ser fumigados com vapores de formol. Existe também a possibilidade de se realizar a desinfecção durante a coleta, nebulizando os ovos embandejados com uma solução desinfetante que pode ser amônia quaternária.

Em algumas empresas pode-se constatar a utilização de esponjas de aço para a retirada dos detritos orgânicos aderidos à casca, ou a lavagem dos ovos sujos antes da desinfecção. Ambas as práticas são perigosas. A primeira, porque destrói a cutícula da casca, o que facilita a penetração de bactérias e fungos; a segunda, porque a água de lavagem pode se transformar em veículo de transporte de microrganismos para o interior dos ovos. Se a lavagem dos ovos sujos for considerada indispensável que seja feita em água corrente, jamais em tanques com água parada. Esta prática de lavagem ou de raspagem da matéria orgânica aderida à casca do ovo é freqüentemente adotada para a limpeza dos ovos de piso, antes da desinfecção. A incubação desses ovos deve ser feita separadamente dos demais, em máquina especificamente destinada a esse fim. Independente da escolha do desinfetante e da forma de desinfecção: fumigação, vaporização ou spray, é importante para o êxito da operação que o tempo decorrido entre a postura do ovo pela galinha e a desinfecção, seja o menor possível.

## Transporte para o incubatório

Os ovos devem ser transportados da granja para o incubatório em veículos fechados, isotérmicos e desinfetados antes de cada carga.

## Controle sanitário da incubação

### Localização do incubatório

Em área isolada dos outros setores da integração como fábrica de ração, granjas de frangos de corte, postura ou de reprodutoras. Que esteja, preferencialmente distante de estradas movimentadas e de indústrias que poluam o ar. A área deve ser isolada por cerca industrial e o acesso ao incubatório deve dispor de rodolúvio e de equipamentos para desinfecção completa dos veículos.

### Fluxograma

O incubatório, normalmente, é um prédio retangular em que numa das extremidades está a sala de recepção dos ovos que vêm das granjas e no extremo oposto, a sala de expedição de pintos. No interior do incubatório os ovos percorrem um só sentido, de um extremo ao outro do prédio. A instalação de portas nos corredores, que abrem num só sentido, é um bom artifício para disciplinar o trânsito dos operários no interior do incubatório. O uso de diferentes pressões de ar, com pressão positiva em ambientes considerados limpos, como a sala de incubação e sala de ovos, evita a contaminação oriunda da zona suja do incubatório (sala de lavagem e limpeza de

equipamento, sala de nascimento e sala de pintos).

## **População microbiana no interior do incubatório**

A principal origem da contaminação microbiana no incubatório é o próprio ovo, trazido das granjas para ser incubado. Portanto, o controle da população de germes dentro do incubatório começa na coleta e higienização do ovo ainda na granja. Por ser o ovo um excelente meio de cultura bacteriano e pelas condições ambientais de temperatura, umidade e oxigenação, os microrganismos introduzidos no incubatório encontram condições propícias para se multiplicarem. Outras fontes de contaminação são o ar e a água que abastecem o incubatório, além de insetos, roedores e visitas.

É interessante ressaltar que as bactérias quando já atingiram o interior do ovo, por penetração ativa através da casca, ou quando aí estavam desde o início de sua formação, como é o caso de algumas salmonelas e micoplasmas, a desinfecção dos ovos não vai atingi-los. Haverá, então, condições para que esses microrganismos se difundam horizontalmente, durante a eclosão ou mesmo antes, se houver a explosão de ovos contaminados. As bandejas de incubação e de nascimento, caixas de pintos e as próprias incubadoras e nascedouros podem permanecer contaminados se não forem bem lavadas e desinfetadas. A sexagem e a vacinação dos pintainhos podem, também, constituir uma forma de transmissão de contaminantes.

As máquinas de incubação e nascimento devem ser lavadas e desinfetadas sempre que forem esvaziadas. Deve-se usar escova e detergente para remoção mecânica dos detritos e dos próprios microrganismos. Os equipamentos como bandejas de incubação e de nascimento são removidos para sala de lavagem e, preferencialmente, lavadas com água quente.

Os restos da incubação resultantes da eclosão, casca de ovos não eclodidos e embriões mortos, devem ser incinerados ou transportados em caminhões fechados, (*in natura*, ou moídos e compactados) para uma área onde possam ser enterrados. Algumas empresas utilizam essas sobras como alimento para suínos. Nesse caso é indispensável que esse material passe pela autoclave ou digestor, antes que seja incorporado à alimentação dos suínos. As cascas de ovos têm pouco valor nutricional, mas por serem constituídas quase que integralmente por carbonato de cálcio, podem ser incorporadas aos solos ácidos como corretivo. Podem, também, ser recicladas e utilizadas como fonte de cálcio na ração animal.

Todas as salas integrantes do incubatório, desde a recepção até a de expedição dos pintainhos devem ser lavadas e desinfetadas periodicamente. As da área suja, como as salas de nascimento e de lavagem, o controle deve ser mais rigoroso ainda.

## **Monitoramento da incubação**

### **Exame dos restos da incubação**

Tem por objetivo conhecer entre o percentual de ovos que não nasceu, as prováveis causas que determinaram a infertilidade dos ovos ou a morte dos embriões, ocorrida em diferentes períodos da incubação. É muito importante que se examine uma amostragem que seja representativa do lote de ovos. Em geral se recolhem cem ovos não nascidos por lote, e, a partir daí, estabelece-se e



quantificase as prováveis causas do insucesso da eclosão, em cada lote de ovos incubados.

## **Avaliação da qualidade sanitária do incubatório**

Quinzenalmente, pode-se avaliar a população microbiana no incubatório, em suas várias dependências e no interior das incubadoras e nascedouros. Isto pode ser feito pela exposição de placas de Petry com meios de cultura para bactérias e fungos. As placas são colocadas, por exemplo, no interior de uma incubadora e abertas por dez minutos. Decorrido esse tempo, são retiradas e enviadas ao laboratório, onde são incubadas. Posteriormente se faz a contagem das colônias que cresceram na superfície do meio de cultura. Como os ventiladores das máquinas testadas permanecem ligados durante o tempo de exposição das placas, o movimento do ar joga os microrganismos sobre o meio, gerando as futuras colônias. Isso permite que seja possível avaliar a intensidade da contaminação ambiental, e a eficácia dos processos de limpeza e desinfecção executados no incubatório.

A experiência que se tem com esse teste, realizado intensamente no Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), demonstra que dificilmente um incubatório apresentará um crescimento zero de colônias, quando submetido ao teste. Entretanto, os índices de produtividade do incubatório, serão a referência para a interpretação dos resultados, ao invés de buscar critérios baseados em tabelas que, necessariamente, não refletirão as circunstâncias do incubatório em questão. Outros testes, como o exame bacteriológico da penugem dos nascedouros, podem ser executados. Também é interessante que se faça exame bacteriológico da água que abastece o incubatório.

## **Sistema imunológico das aves**

As aves têm sido usadas para os estudos em imunologia porque apresentam uma dicotomia no seu sistema imune, a bolsa de Fabrício é a principal responsável pela imunidade humoral e o timo, pela imunidade celular.

A resposta imune celular é mediada pelos linfócitos T, derivados do timo, que produzem as citocinas ou linfocinas, que são ordens químicas inespecíficas. A resposta imune celular pode ser direta, através da ação efetora dos linfócitos T, ou indireta, utilizando a cooperação linfocitária que emprega os linfócitos T auxiliares e os linfócitos T supressores. Estes últimos poderão agir tanto nos linfócitos T quanto nos B, dependendo do tipo de antígeno presente.

Na resposta imune humoral, intervém as imunoglobulinas, ou anticorpos, produzidos pelos linfócitos B, originados na bolsa de Fabrício. As imunoglobulinas são de cinco classes ou tipos: IgM, IgG, IgA, IgD e IgE. As três primeiras são as que mais interessam na defesa imunológica da ave. As IgM e IgG são encontradas no soro e defenderão o animal quando o antígeno atingir a corrente sanguínea para provocar viremia ou bacteremia e a IgA é a responsável pela proteção das mucosas e demais vias de acesso ao organismo animal. Os métodos de monitorizações sorológicas, usualmente empregados na avicultura, em geral, medem as IgM e IgG.

O conhecimento das bases do sistema imunológico é fundamental para que o médico veterinário planeje, ou reformule, seus programas de vacinações e avalie os resultados das monitorizações

sorológicas.

## Vacinações e monitorizações

### Vacinas

Vacinas são suspensões de grandes quantidades de organismos, causadores de doenças, em um diluente. Estes microrganismos são atenuados ou inativados, natural ou artificialmente, para que só conservem as características de induzir proteção sem causar danos maiores à saúde dos animais. As vacinas virais são produzidas nos laboratórios usando como substratos ovos embrionados SPF (livre de patógenos específicos ou Specific Pathogen Free) ou cultivos celulares. Também são produzidas vacinas bacterianas fazendo-se com que as bactérias cresçam em meios artificiais para, posteriormente serem, ou não, inativadas. Outro produto utilizado rotineiramente é a vacina contra a coccidiose.

As vacinas aviárias são de dois tipos principais: as vivas e as inativadas. Elas são produzidas contra uma grande variedade de doenças, sejam elas virais, bacterianas ou parasitárias (coccidiose). Sua aplicação pode ser maciça (água de beber, aerossóis) ou individualizada (instilação ocular, nasal, injeção subcutânea ou intramuscular). Atualmente já estão disponíveis equipamentos para a vacinação no ovo embrionado.

O delineamento dos programas de vacinações determinará a duração da imunidade induzida. Assim sendo, deverá ser curta para os frangos de corte e longa para os plantéis de poedeiras comerciais e de reprodutoras. Para estas últimas, ainda se buscará sempre que necessário, a produção de imunidade materna para a proteção da progênie. Geralmente, quando se deseja imunidade por período longo, recomenda-se a injeção de vacinas ou bacterinas em adjuvante oleoso, precedidas de imunizações com vacinas vivas.

Já está disponível no mercado uma segunda geração de vacinas chamadas recombinantes. Estas são produtos da engenharia genética e oferecem melhor proteção contra a doença alvo sem os inconvenientes das reações pós-vacinais. Estas vacinas são elaboradas com porções, ou partes, dos agentes etiológicos (epítomos) ao invés dos antígenos completos dos produtos tradicionais.

O principal objetivo de um programa de vacinação é o de evitar que as aves adoeçam ou morram e minimizar as perdas na produção e na produtividade dos plantéis. É praticamente impossível traçar um programa de vacinação eficaz para uso continental ou mesmo nacional. Isto porque existem muitas variáveis que interferem na resposta imunológica e entre elas se destacam a prevalência da enfermidade, doenças imunodepressoras intercorrentes, cepas variantes locais, linhagem genética dos animais, ambiente onde as aves são criadas, qualidade da mão de obra, entre outros. O desconhecimento ou a desconsideração de um ou mais destes fatores levará a uma falha na resposta imunológica.

Muitas vacinas vivas, principalmente as virais, provocam reações após sua aplicação. Estas reações vacinais serão menores se:

- As aves estiverem sadias no momento da vacinação.

- Os incubatórios ou aviários estiverem limpos e secos.
- Não ocorram mudanças bruscas no clima no período pós-vacinal.
- As aves tenham a idade adequada à vacinação.
- A patogenicidade da amostra vacinal seja adequada à idade e imunidade das aves.
- O conforto térmico for adequado.
- As instruções para o uso da vacina forem seguidas corretamente.

## Monitoramento de salmonelas e micoplasmas

O monitoramento de salmonelas e de micoplasmas é uma necessidade da indústria avícola brasileira. Existem normas oficiais para orientar o médico veterinário nesta tarefa e estão descritas nas Instruções Normativas do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Sua base é a identificação de lotes positivos para estas infecções propondo medidas de controle e erradicação. A observância das recomendações do PNSA fará com que o produto avícola brasileiro tenha qualidade sanitária ainda melhor e possa ser consumido nos mercados nacional e internacional.

## Monitorização sorológica

Um programa de vacinação não estará completo sem o monitoramento da resposta sorológica. Este procedimento deve ser considerado em aves com ciclo de produção longo, como as reprodutoras e poedeiras comerciais, embora nada impeça que os frangos de corte também sejam contemplados. Frequentemente, é necessário monitorar os anticorpos maternos com vistas ao grau de proteção conferida à progênie. As provas laboratoriais, idades, frequência e tamanho da amostra serão determinadas pelos médicos veterinários levando em conta, em relação a esta última, o número de aves do plantel e a taxa de risco de infecção esperadas. Assim sendo, quanto menor for a taxa de risco, maior será a amostragem.

Os objetivos de um programa de monitoramento são os de estabelecer as expectativas de títulos de anticorpos esperados como resposta ao programa utilizado, avaliar a qualidade do método de aplicação da vacina e os possíveis desafios por agentes patogênicos, presentes no campo, mais ainda, o monitoramento poderá vislumbrar as inter-relações entre os títulos de anticorpos e os parâmetros de produção.

Para atingir esses objetivos, é necessário que o planejamento do monitoramento seja bem feito, ou seja, que os dados obtidos permitam que se estabeleçam conclusões. Desta forma, não só os resultados do monitoramento deverão ser registrados em uma planilha eletrônica, mas todos os dados que puderem ser reunidos no momento da tomada da amostra. Isto permitirá que os resultados sorológicos sejam correlacionados com outros, como os parâmetros de produção. Recomenda-se a confecção de planilhas eletrônicas em Microsoft Excel®, ou similar, para maior facilidade das análises posteriores.

## Interpretação dos resultados da monitorização sorológica

A literatura consultada cita que é, usualmente, impossível diferenciar os anticorpos produzidos

pela vacinação, daqueles decorrentes do desafio por agentes patogênicos no campo. Ao mesmo tempo, recomenda que se conheça toda a história de vacinações do lote. Mas, em nenhum momento, oferece ao médico veterinário os critérios objetivos de interpretação dos resultados obtidos. Assim sendo, grande parte do conjunto de dados gerados pelos monitoramentos é perdido ou mal interpretado, fazendo com que a relação custo:benefício dos procedimentos seja prejudicada, trazendo frustração aos profissionais responsáveis por este assunto.

As mesmas fontes de consulta demonstram fartamente que há uma constante associação de doenças e seus reflexos na resposta imunitária. É comum o registro na literatura do papel negativo das doenças imunodepressoras sobre a produção de anticorpos. Enfermidades como doença infecciosa bursal, micotoxicoses e anemia infecciosa das galinhas são exemplos freqüentes da afirmação anterior e devem ser monitoradas. Por outro lado, é sabido que as linhagens genéticas, o estresse social, o meio ambiente, entre outros, também interferem nos resultados de um programa de vacinação, embora a intensidade da interferência não seja medida especificamente.

Frente aos fatores citados anteriormente, o médico veterinário se encontra numa situação desconfortável sempre que se depara com os resultados que tem de interpretar. Um programa de monitoramento só tem sentido quando é possível responder algumas questões do tipo:

- Qual o título esperado para uma reprodutora com 43 semanas de idade? Qual será o título para os animais com 56 semanas de idade, ou outra idade qualquer?
- Os animais foram vacinados de forma homogênea? Qual é a medida desta homogeneidade?
- O título obtido na idade examinada é produto da vacinação ou será doença?
- Qual a probabilidade de que os títulos esperados estejam certos?

Quando não for possível responder a estas perguntas com segurança, significa que a interpretação dos resultados foi prejudicada. Utilizando os métodos tradicionais, não é possível estabelecer a expectativa da resposta imunológica que ocorre nos animais por que se seguem com esses procedimentos? O objetivo de um programa de monitoria é a simples verificação do estado de proteção dos animais não seria melhor usar testes semiquantitativos, que seriam mais baratos? Como transformar critérios subjetivos de avaliação dos resultados em critérios objetivos, com significância estatística conhecida, para dar base às decisões e ajustes que afetem os programas de vacinação? Finalmente, se não se sabe ao certo para que se faz um programa de monitoria por que fazê-lo?

Na tentativa de responder a estas perguntas permanentemente presentes na rotina profissional, e criando uma sensação de desconforto diário, os professores e pesquisadores do CDPA-UFRGS realizaram trabalhos de pesquisa originais, nos quais transformaram a resposta imunológica de reprodutoras em modelos matemáticos com significância estatística conhecida. As equações obtidas servem unicamente para interpretar os resultados da empresa que os gerou. A razão desta especificidade são as características de cada companhia no que diz respeito à linhagens das aves, programas de vacinação empregado, doenças imunodepressoras presentes, ambiente, qualidade da mão de obra, etc. que são próprias de cada uma. Acrescente-se que ao aumentar a abrangência será diminuída a precisão do modelo. A seguir, apresentam-se exemplos de resultados de monitoria sorológica para reprodutoras com 36 semanas de idade, enfocando doença de Newcastle (DN), bronquite infecciosa (BI) e doença infecciosa bursal (DIB), realizados em um laboratório de diagnóstico.

Os laudos laboratoriais apresentam o resultado da média geométrica dos títulos (GMT) em números absolutos e transformados para  $\log_{10}$ , o coeficiente de variação (CV) em porcentagem e o tipo de teste efetuado. Neste exemplo, foram usados a inibição da hemoaglutinação (HI) e o ensaio imuno-enzimático (ELISA).

A simples vista dos resultados deixa o médico veterinário em uma situação difícil, pois ele desconhece, com objetividade e segurança, quais os títulos esperados para reprodutoras com 36 e com 43 semanas de idade. Desta forma, ele pode ter a opinião subjetiva de que os resultados dos lotes possam ser satisfatórios ou não. É muito arriscado tomar decisões baseadas na interpretação dos dados da forma usual como é feita atualmente.

<b>Universidade Federal do Rio Grande do Sul</b> <b>Faculdade de Veterinária</b> <b>Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA)</b>				
<b>Empresa:</b> Avícola Guahyba <b>Lote:</b> 9G <b>Localidade:</b> Taquari - RS				
Resultado de Exames Laboratoriais: <u>Núcleo Sant'Ana (Reprodutoras com 36 semanas)</u> Número de Soros: 30				
Especificação	Resultado		CV %	Teste
	GMT	GMT $\log_{10}$		
GMT ( $\log_{10}$ ) para DN	219	2,341	14	HI
GMT ( $\log_{10}$ ) para BI	988	2,995	21	ELISA
GMT ( $\log_{10}$ ) para DIB	64.120	4,807	20	ELISA

**Figura 2** - Laudo laboratorial para reprodutoras com 36 semanas de idade.

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA)**

**Empresa:** Avícola Guahyba

**Lote:** 7B

**Localidade:** Taquari - RS

Resultado de Exames Laboratoriais:

Núcleo Sant'Ana (Reprodutoras com 43 semanas)

Número de Soros: 28

Especificação	Resultado		CV %	Teste
	GMT	GMTlog <sub>(10)</sub>		
GMT (log <sub>10</sub> ) para DN	67	1,83	80	HI
GMT (log <sub>10</sub> ) para BI	212	2,33	74	ELISA
GMT (log <sub>10</sub> ) para DIB	5.888	3,77	95	ELISA

**Figura 3** - Laudo laboratorial para reprodutoras com 43 semanas de idade.

Quando são utilizados os modelos matemáticos, ou equações, já se sabe por antecipação que há significância estatística dos números obtidos na resolução dos cálculos porque os modelos só serão aceitos se tiverem um nível de significância igual, ou maior, do que 95%. Suponha-se que a **Tabela 1** contenha as equações para a interpretação dos resultados sorológicos da empresa em questão.

Y é o título esperado em log<sub>10</sub> e X, a idade da matriz no momento da coleta das amostras. Também é apresentado o CV que se espera para aquele momento. Ao serem resolvidas as equações para as aves com 36 semanas de idade temos que:

**Tabela 1** - Exemplos de equações para interpretar os resultados sobre os títulos de anticorpos contra doença de Newcastle (DN), bronquite infecciosa (BI) e doença infecciosa bursal (DIB) obtidos na monitorização sorológica de galinhas reprodutoras de uma empresa avícola brasileira.

<b>Doença</b>	<b>Equação</b>	<b>CV %</b>	<b>Teste</b>
Idade (semanas) x Anticorpos DN (Y)	$Y = 1,045 + 0,072X - 0,001X^2$	18	HI
Idade (semanas) x Anticorpos BI (Y)	$Y = 1,627 + 0,074X - 0,001X^2$	23	ELISA
Idade (semanas) x Anticorpos DIB (Y)	$Y = 1,927 + 0,116X - 0,001X^2$	21	ELISA

Y = título esperado. X = idade da ave no momento da coleta da amostra.

### **Para Doença de Newcastle (DN):**

$$Y = 1,045 + 0,072X - 0,001X^2$$

$$Y = 1,045 + 0,072 (36) - 0,001 (36)^2$$

$$Y = 1,045 + 2,592 - 1,296$$

$$Y = 2,341$$

### **Para bronquite infecciosa (BI):**

$$Y = 1,627 + 0,074X - 0,001X^2$$

$$Y = 1,627 + 0,074 (36) - 0,001 (36)^2$$

$$Y = 1,627 + 2,664 - 1,296$$

$$Y = 2,995$$

### **Para doença infecciosa bursal (DIB):**

$$Y = 1,927 + 0,116X - 0,001X^2$$

$$Y = 1,927 + 0,116 (36) - 0,001 (36)^2$$

$$Y = 1,927 + 4,176 - 1,296$$

$$Y = 4,807$$

Agora que se dispõem dos títulos esperados (Y), retorna-se ao laudo do laboratório e se pode observar que os resultados estão dentro da expectativa e não é necessária qualquer alteração no

programa de prevenção e controle. O mesmo raciocínio vale para os coeficientes de variações (CV).

Por outro lado, nas aves com 43 semanas de idade, e após serem resolvidas as equações de maneira similar aos animais com 36 semanas, tem-se:

**Para doença de Newcastle DN):**

$$Y = 2,292$$

**Para bronquite infecciosa (BI):**

$$Y = 2,960$$

**Para doença infecciosa bursal (DIB):**

$$Y = 5,066$$

Ao voltar aos resultados laboratoriais das aves com 43 semanas, ficam evidentes que os títulos para as três enfermidades estão aquém dos esperados e os coeficientes de variação muito altos. O CV muito mais alto do que se espera é indicador da resposta imune desuniforme causada, por exemplo, pela imperícia dos vacinadores e/ou presença de enfermidades que afetem os sistema imunológico ou infecção pelo vírus de campo antes da vacinação, entre outros fatores. Desta forma, o médico veterinário poderá modificar seu programa de vacinação, verificar a qualidade das vacinas empregadas, monitorizar outras doenças imunodepressoras e implantar um programa de treinamento para as equipes de vacinação.

Atualmente, todo o método está automatizado e não é mais necessário transformar os títulos em logaritmos. Assim sendo, basta digitar no computador a idade das matrizes das quais foram retiradas as amostras para que os títulos esperados sejam expressos na tela. Com estes critérios objetivos à disposição, o médico veterinário pode interpretar corretamente os resultados dos exames sorológicos, aplicar seus conhecimentos e tomar decisões com mais conforto e segurança. Na Tabela 2 é apresentado de forma resumida um exemplo para reprodutoras de 51 semanas com os títulos esperados, para Doença de Newcastle (DN), bronquite infecciosa (BI) e doença infecciosa bursal (DIB). Hoje, este procedimento já foi estendido para prever outros segmentos da avicultura como monitorização de micotoxinas, parâmetros de produção de granjas, incubatórios, entre outros, tornando-se um método de gerenciamento da especialidade.

**Tabela 2** - Títulos de anticorpos esperados para a doença de Newcastle (DNC), bronquite infecciosa (BI) e doença infecciosa bursal (IBD) em galinhas reprodutoras de uma empresa avícola brasileira.

<b>Entradas</b>			<b>Predições</b>
Idade (semanas)	20 C1	GMT DNC	1.333,48
	C2	GMT BI	2.092,84
	C3	GMT IBD	28.419,86



## Monitoria de micotoxinas

As barreiras sanitárias têm sido usadas constantemente no comércio internacional. Como já foi referido, o PNSA contempla as ações para erradicação ou controle das salmoneloses, micoplasmoses, doença de Newcastle e influenza aviária. Mas, até o momento, não tem sido dada a devida atenção a um tema importante como as micotoxinas. Por serem potentes cancerígenos, talvez elas sejam as próximas barreiras a serem usadas no comércio internacional.

A prevenção e controle das micotoxinas têm, historicamente, se baseado na detecção das micotoxinas nas rações e matérias-primas. Devido a forma heterogênea como são produzidas em determinado substrato, o cálculo do tamanho da amostragem é tão importante quanto a eleição do método de detecção. A principal preocupação na monitoria das micotoxinas é o conforto imerecido que trazem consigo os resultados falsos negativos. Mais ainda, quando os níveis são inexistentes ou muito altos é mais fácil interpretá-los. Os problemas começam quando o médico veterinário se depara com níveis que oscilam entre os 15 e 25 partes por bilhão (ppb), os quais se constituem na grande maioria dos resultados laboratoriais que são entregues à empresa, e o que eles representam para os animais. Com estas preocupações em mente, os pesquisadores do CDPA-UFRGS desenvolveram um método para detectar aflatoxina e ocratoxina em vísceras, avaliar a produção de micotoxinas durante o armazenamento do alimento nas granjas, bem como o reflexo dos níveis de micotoxinas encontrados sobre os parâmetros de produção. É uma proposta que faz a recomendação de usar o frango e a granja como iniciadores e orientadores do processo de monitoria, correlacionando os resultados com os parâmetros de produção e, assim, possibilitando medir a eficácia das medidas de prevenção e controle pertinentes. Para a análise dos resultados, os autores utilizaram técnicas estatísticas de correlações e regressões sintetizadas numa equação, ou modelo, matemático. Na Tabela 3 são exemplificadas as equações obtidas para uma determinada integração avícola brasileira. Deve-se atentar para o fato de que os modelos só são válidos para a empresa que os gerou e, neste caso, constitui-se simplesmente num exemplo ilustrativo.

**Tabela 3** - Exemplo de equações para interpretar os níveis de aflatoxina na ração e fígados de frangos de corte e seus reflexos nos parâmetros de produção de uma integração de aves no sul do Brasil.

<b>Doença</b>	<b>R</b>	<b>Equação</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
Aflatoxina (Ração) x Fator de Produção (Y)	-0,61	$Y = 249,6 - 2,007X$	0,37
Aflatoxina (Ração) x Conversão Alimentar (Y)	0,86	$Y = 1,95 + 0,011X$	0,74
Aflatoxina (fígado) x Mortalidade (Y)	0,64	$Y = 4,288 + 0,325X$	0,41
Aflatoxina (fígado) x Fator de Produção (Y)	-0,69	$Y = 249,6 - 3,46X$	0,47

X = nível de aflatoxina em ppb. R = coeficiente de correlação. R<sup>2</sup> = coeficiente de determina

No exemplo anterior, é possível visualizar que cada parte por bilhão (ppb) de aflatoxina na ração ocasionará uma redução de 2,007 pontos no fator de produção e uma aumento de 0,011 no índice de conversão alimentar. Quando a aflatoxina for detectada no fígado, cada ppb acarretará aumento de 0,325 na mortalidade e de 3,46 pontos no Fator de Produção. O R indica o grau de correlação entre a toxina e o parâmetro de produção e o R<sup>2</sup> dá a responsabilidade direta da presença da

toxina sobre o parâmetro medido no modelo apresentado. Ou seja, no caso do fator de produção em 61% das vezes em que houver presença de aflatoxina na ração e em 69%, se a toxina estiver no fígado, será sentido reflexo negativo neste parâmetro de produção. O R2 esclarece que, para este modelo, 37% e 69% dos resultados indesejados são atribuídos à presença da aflatoxina na ração e nos fígados, respectivamente. Assim sendo, basta ao médico veterinário, depois de elaborado o modelo para a sua empresa, substituir o X pela quantidade de micotoxina encontrada e obterá a medida do impacto nos parâmetros de produção estudados.

Ao dispor deste instrumento, o médico veterinário estará de posse de critérios objetivos para interpretação dos resultados e poderá, se assim o desejar, fazer simulações sobre diferentes níveis de toxina e os danos que causarão dentro da empresa pela qual é o responsável.

## Utilização de inteligência artificial na avicultura

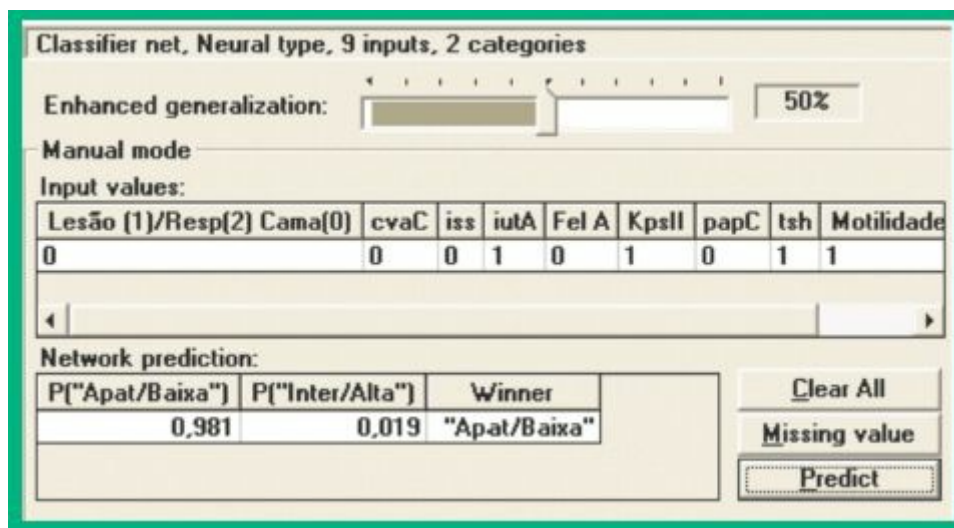
Outros métodos de interpretação de resultados, também denominados de ferramentas de suporte à decisão, podem ser empregados na avicultura. Esta metodologia está muito difundida em alguns segmentos, mas já existem alguns trabalhos na avicultura relacionados com ascite, com a síndrome da hipertensão pulmonar e com a curva de postura em galinhas poedeiras, entre outros. Há alguns anos são desenvolvidos trabalhos no CDPA-UFRGS nos quais é utilizada inteligência artificial, especificamente redes neurais artificiais, para explicar, simular e prever os resultados nos diferentes segmentos da avicultura. Os primeiros trabalhos enfocaram as reprodutoras e seguiram outros em produção de frangos de corte, em incubatório e em abatedouro. Todos resultaram em teses de doutorado ou dissertações de mestrado e os respectivos trabalhos estão sendo preparados para publicação em periódicos especializados. Mas, assuntos relacionados à sanidade avícola também mereceram a atenção no uso desta moderna metodologia, especificamente a colibacilose.

A *Escherichia coli* é uma bactéria facilmente isolada nos animais e nas camas avícolas. Sua presença é tão freqüente que, ao serem citadas nos laudos laboratoriais, os médicos veterinários têm dificuldades em avaliar o risco que representam. Por outro lado, a biologia molecular está sendo empregada em muitos laboratórios, é altamente sofisticada e útil na pesquisa avícola, mas parece não estar contribuindo no dia-a-dia dos profissionais como deveria. Ainda é vista como uma tecnologia da qual se espera muito, mas pouco usada nas monitorias sanitárias rotineiras. Baseados nesta observação os pesquisadores do CDPA iniciaram uma série de trabalhos destinados relacionarem a patogenicidade das amostras de *E. coli* isoladas com os genes que estas apresentavam.

Primeiramente, foram estudadas amostras isoladas de quadros respiratórios das aves que chegaram ao CDPA para diagnóstico. Nesta ocasião, procurou-se caracterizar os fatores de virulência das amostras para a habilidade em sintetizar hemolisina, motilidade, capacidade hemoaglutinante, presença do operon pap, produção de colicinas e resistência sérica.

As amostras de casos de celulite e camas de aviários, acrescidas das de origem respiratória, foram estudadas para o estabelecimento da patogenicidade de cada uma delas. No total, foram mais de 300 amostras que, hoje, constituem um robusto banco de dados no qual se dispõe da informação sobre o índice de patogenicidade de cada uma.

As mesmas amostras de *Escherichia coli* tiveram seu perfil genético, neste caso foram caracterizados sete genes, conhecido. Depois de analisadas as frequências dos genes presentes, procurou-se relacionar, através de modelos matemáticos que empregaram redes neurais artificiais, a patogenicidade da amostra com seu perfil genético. O resultado foi promissor, pois por meio das informações genéticas, foi possível prever a patogenicidade da amostra com acurácia de mais de 80%. Na Figura 4 está exemplificada a informação fornecida para uma amostra.



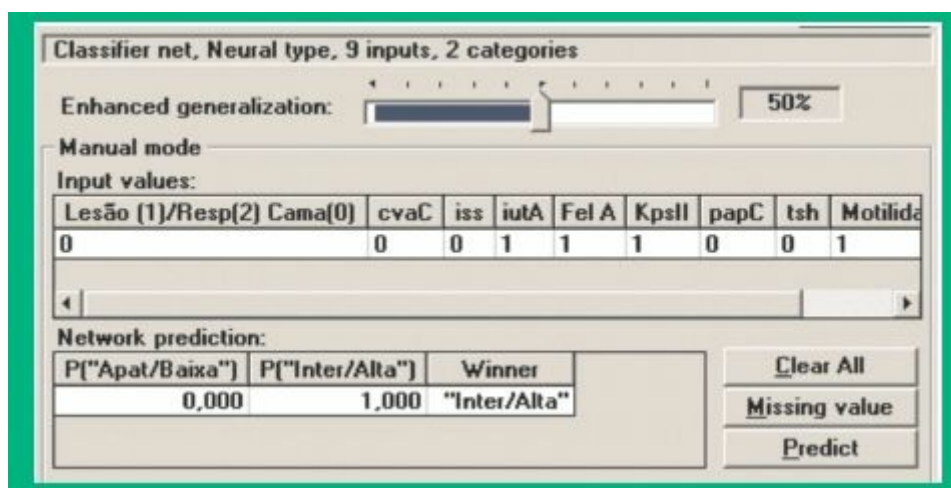
**Figura 4** - Predição da patogenicidade (Apat/Baixa) de amostras de *Escherichia coli* com base nas informações sobre origem da amostra, motilidade e genes associados à patogenicidade.

A Figura 4 revela que a amostra de cama (0) que tem presentes os genes *iutA*, *KpsII* e *tsh* e é móvel, tem probabilidade de 98,1% de ser uma amostra classificada como de baixa patogenicidade ou apatogênica.

O resultado oposto pode ser verificado na Figura 5.

Na Figura 5 é possível observar que uma amostra também originária de cama de aviários tem 100% de probabilidades de ter patogenicidade intermediária/alta, ao apresentar os genes *iss*, *KpsII*, *tsh* e ser móvel.

Esta informação será de grande utilidade para o médico veterinário planejar suas ações em termos de medidas preventivas ou curativas. Da mesma forma, oferece um recurso no qual o conhecimento do perfil genético, neste caso através de técnicas da reação em cadeia da polimerase (PCR), tem aplicação prática no campo permitindo o zoneamento das granjas. Esta divisão por zonas, ou áreas, baseada no potencial risco das *E. coli* presentes nas aves e nas camas através do conhecimento da patogenicidade das amostras isoladas. Assim sendo, a informação obtida através da monitorização bacteriológica poderá auxiliar no diagnóstico clínico, antecipar o percentual de condenações esperado e orientar na compra de medicamentos, entre outras decisões a serem tomadas.



**Figura 5** - Predição da patogenicidade (Inter/Alta) de amostras de *Escherichia coli* com base nas informações sobre origem da amostra, motilidade e genes associados à patogenicidade.

## Bibliografia

American Association of Avian Pathologists. *Biossecurity in the poultry industry*. Pennsylvania; 1995.

Block S. **Disinfection, sterilization, and preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Malvern (PA): Lea & Febiger; 1991.

Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. **Diseases of poultry**. 10<sup>th</sup> ed. Ames: Iowa State University Press; 1997.

Fialho FB, Ledur MC. Segmented polynomial model for estimation of egg production curves in laying hens. **British Poultry Science** 1997; 38(1):66-73.

Macguire D, Sheideler S. **Biosecurity and the poultry flock**. Lincoln (NE): University of Nebraska, Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources; 2004. [cited 2007 sept. 10]. Available from: <http://www.ianrpubs.unl.edu/epublic/pages/index.jsp?what=publicationD&publicationId=126>.

Marques D. **Fundamentos básicos de incubação industrial**. Amparo (SP); 1994.

Mauldin JM. **Breakout analyses guide for hatcheries**. Athens(GA): Cooperative Extension Service, College of Agricultural and Environmental Sciences; 1998. [cited 2007 sept. 10]. Available from: <http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubcd/b1166-w.html>.

Moraes HLS, Salle CTP, Padilha AP, Nascimento VP, Souza GF, Pereira RA *et al*. Infectious bursal disease: evaluation of pathogenicity of commercial vaccines from Brazil in specific pathogens free chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science** 2004; 6(4):243-247.

Moraes HLS, Salle CTP, Nascimento VP, Salle FO, Rocha ACGP, Souza GF *et al*. Infectious bursal disease: evaluation of maternal immunity and protection by vaccination of one-day old chicks against challenge with a very virulent virus isolate. **Brazilian Journal of Poultry Science** 2005; 7(1):51-57.

Pinto PR. **Uso de redes neurais artificiais no gerenciamento de matadouros-frigoríficos de aves e suínos no sul do Brasil** [dissertação]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006.

Reali EH. **Utilização de inteligência artificial (redes neurais artificiais) no gerenciamento da produção de frangos de corte**. 2004 [dissertação]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2004.

Rocha AC, Silva AB, Brito AB, Moraes HL, Pontes AP, Ce MC, Nascimento VP, Salle CTP. Virulence factors of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from broilers from the south of Brazil. **Avian Diseases** 2002; 46(3):749-753.

Rocha ACGP. **Utilização de inteligência artificial para a classificação de patogenicidade de amostras de *Escherichia coli* isoladas de frangos de corte** 2006 [tese]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006.

Roush WB, Wideman Jr RF, Cahaner A, Deeb N, Cravener TL. Minimal number of chicken daily growth velocities for artificial neural network detection of pulmonary hypertension syndrome (PHS). **Poultry Science** 2001; 80(3):254-259.

Roush WB, Kirb YYK, Cravener TL, Wideman Jr RF. Artificial neural network prediction of ascites in broilers. **Poultry Science** 1996; 75(12):1479-1487.

Salle CTP, Ce MC, Wald VB, Santos CHC, Nascimento VP, Canal CW, Moraes HLS, Oliveira S. Estabelecimento de critérios de interpretação de resultados sorológicos de matrizes de corte através de modelos matemáticos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola** 1999; 1(1):61-65.

Salle CTP, Cé MC, Lorenzini G, Sfoggia MVB, Guahyba AS, Moraes HLS, Nascimento VP. **Correlation between aflatoxin and ocratoxin levels with production parameters in a poultry company**. In: 48th Western Poultry Disease Conference; 1999; Vancouver, BC. Canada. p.130.

Salle CTP, Cé MC, Santos, CHC, Guahyba AS, NascimentoVP, Moraes HLS. **Use of statistical techniques on the interpretation of routine serological data produced by a poultry industry**. In: 48th Western Poultry Disease Conference; 1999; Vancouver, BC. Canada. p.130.

Salle CTP, Guahyba AS, Wald VB, Silva AB, Salle FO, Nascimento VP. Use of artificial neural networks to estimate production variables of broilers breeders in the production phase. **British Poultry Science** 2003; 44(2):211-217.

Salle CTP, Soares RCB, Ce MC, Moraes HLS, Nascimento VP, Guahyba AS. **Immune response assessment in turkey breeders vaccinated against Newcastle disease using mathematical models**. In: 48th Western Poultry Disease Conference; 1999; Vancouver, BC. Canada. p.129.

Smith TW. **Sanitation: cleaning and disinfectant**. Mississippi: Mississippi State University Extension Service;1997. [cited 2007 sept. 10]. Available from: <http://www.msstate.edu/dept/poultry/dissanit.htm>.

Souza GF. **Estabelecimento de uma nova metodologia para o cálculo do índice de**

**patogenicidade em amostras de *Escherichia coli* provenientes de lesões de pele, de cama de aviários e de quadros respiratórios, através da inoculação em pintos de 1 dia** [dissertação].  
Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006.

# Limpeza e desinfecção de instalações avícolas

<b>Introdução</b>	<b>21</b>
<b>Amplitude de aplicação de um plano de L&amp;D</b>	<b>21</b>
<b>Isolamento das instalações</b>	<b>22</b>
<b>Modelos de criação avícola e condições sanitárias</b>	<b>22</b>
<b>Alguns conceitos e definições para a aplicação de um plano de L&amp;D</b>	<b>22</b>
<b>Aplicação de um plano de L&amp;D</b>	<b>23</b>
<b>Atividades básicas para execução de procedimentos de L&amp;D em instalações avícolas</b>	<b>24</b>
<i>Limpeza a seco</i>	24
<i>Limpeza úmida ou lavagem dos aviários</i>	26
<i>Limpeza e desinfecção dos sistemas de ventilação (placas de resfriamento evaporativo ou pad cooling)</i>	26
<i>Serviços e reparos e manutenção geral do aviário e do ambiente</i>	26
<i>Limpeza, sanitização e desinfecção dos equipamentos móveis</i>	27
<i>Limpeza e desinfecção do silo</i>	28
<i>Limpeza e desinfecção de armadilhas</i>	28
<i>Procedimentos gerais de desinfecção das instalações</i>	28
<i>Primeira desinfecção</i>	28

<i>Segunda desinfecção</i>	28
<i>Coleta de amostras</i>	28
<i>Reposição e desinfecção dos equipamentos móveis</i>	29
<i>Terceira desinfecção</i>	29
<i>Vazio das instalações ou desinfecção física</i>	29
<i>Quarta desinfecção</i>	29
<i>Avaliação e inspeção</i>	29
<i>Implicações ou falhas na execução do plano de L&amp;D</i>	30
<i>Material e métodos para controle da efetividade da desinfecção</i>	30
<i>Utilização de produtos nas operações de limpeza, sanitização, desinfecção e de ação tóxica para o controle de pragas e aspectos da legislação</i>	32
<i>Recomendações gerais para a escolha e uso de detergentes</i>	32
<i>Recomendações gerais para a escolha e uso de desinfetantes</i>	32
<i>Principais desinfetantes usados em instalações avícolas</i>	33
<i>Regras para o cálculo das taxas de diluição dos desinfetantes</i>	34
<i>Destino de resíduos biológicos e das aves mortas</i>	34
	35



*Métodos e equipamentos auxiliares para aplicação em um programa de limpeza e desinfecção (L&D)*

<b>Considerações finais</b>	<b>36</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>37</b>

# Capítulo 1.2 - Limpeza e desinfecção de instalações avícolas

Suzete Lora Kuana

## Introdução

Os requerimentos atuais para a garantia de produção de alta qualidade e segurança alimentar são objetivos primordiais dos profissionais vinculados à indústria avícola e, principalmente, os da produção primária. Os problemas de saúde que afetam as aves podem chegar ao consumidor por meio da carne inadequadamente cozida. Isto significa que o manejo da saúde dos plantéis avícolas é um fator extremamente importante, não somente por razões econômicas de um país, mas também, para a melhor aceitabilidade dos produtos de aves em qualquer lugar do mundo.

As medidas higiênicas e de profilaxia ambiental da instalação avícola representam um aspecto essencial na economia e permitem a inocuidade dos alimentos (ausência de contaminação por *Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter* etc.) ao mesmo tempo em que previnem a difusão de surtos de doenças exóticas (influenza aviária e doença de Newcastle).

Um dos requerimentos mais importantes para facilitar a higiene e desinfecção é a adoção do sistema “todos-dentro/todos-fora” ao invés da produção em ciclo contínuo ou em granjas de múltiplas idades, junto com a restrição de uma única espécie de aves para cada tipo de empreendimento. Entre outros fatores, a limpeza requer conhecimento técnico minucioso e específico para sua boa performance, já que as etapas que precedem a desinfecção são as mais importantes para a sua eficácia.

A recomendação é estabelecer um plano de limpeza e desinfecção (L&D) com objetivos claros e um programa de ação detalhado na ordem em que estes devem ser realizados para limpar, desinfetar e preparar as instalações, incluindo os procedimentos de pós-desinfecção, que vão avaliar a eficácia de todo o processo. Progressivamente para a garantia do produto avícola, faz-se necessário o respeito das normas de biossegurança existentes e o uso de produtos registrados e validados que colaborem com a proteção ao meio ambiente, dos animais, dos equipamentos, da saúde pública e com as exigências dos órgãos reguladores e de certificação.

## Amplitude de aplicação de um plano de L&D

Os procedimentos de higiene e desinfecção têm como objetivo prevenir os efeitos adversos das doenças na produtividade das aves e, entre outros, é um dos itens dependentes do sucesso do plano Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) na cadeia da indústria avícola, extremamente relacionado aos programas de biossegurança aplicados na agropecuária (Lister, 2001). Esta tem a sua preconização descrita de forma excepcional por Sesti (2005), a qual deve ser por meio de normas envolvendo um conjunto de ações de prevenção e boas práticas de manejo para possibilitar o máximo controle e disseminação dos agentes infecciosos.

A efetividade de um processo de limpeza e desinfecção nas instalações avícolas depende dos seus objetivos (microrganismos alvos), produtos detergentes e desinfetantes a serem utilizados e controles direcionados na identificação de pontos críticos para manter o nível de biossegurança através das práticas de higiene, limpeza e desinfecção, controle de roedores, insetos e barreiras sanitárias.

De acordo com Lister (2001), tais objetivos podem ser:

- Doenças altamente contagiosas (por exemplo: Influenza Aviária, Newcastle, Gumboro).
- Redução de microrganismos comuns e que podem reduzir a produtividade (por exemplo: coccidiose, *E. coli*, etc.).
- Redução ou eliminação de doenças imunossupressoras (por exemplo: Marek, Gumboro, Anemia Infecciosa, etc.)
- Redução ou eliminação da contaminação de agentes de interesse da saúde pública (por exemplo: *Salmonella*, *Campylobacter*).

## Isolamento das instalações

O isolamento das instalações é uma premissa básica para a avicultura comercial, as quais devem ter localização geográfica adequada e respeitar as distâncias mínimas. O Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) estabelece que as unidades avícolas requerem isolamento entre outras unidades devendo possuir localização geográfica adequada e respeitar as distâncias mínimas entre os estabelecimentos avícolas com objetivos de produção diferentes (Portarias 136 de 5 de junho de 2006 e Portaria 138 de 8 de junho de 2006 – Normas técnicas para registro, fiscalização e controle de estabelecimento avícola de aves comerciais de corte, com exceção à criação comercial de ratitas; Normas para o registro e fiscalização dos estabelecimentos avícolas produtores de ovos e aves livres de patógenos específicos - SPF e de ovos controlados e de estabelecimentos avícolas de aves de reprodução. O perímetro da granja deve ser cercado e o ponto de entrada com acesso controlado, identificado e especificado, ao mesmo tempo, que restrito. Segundo Sesti (2005), outros dois fatores muito importantes a serem levados em conta quando se determinam as distâncias mínimas, são os ventos prevalecentes na área para as diferentes estações do ano e os aspectos epidemiológicos que estejam presentes ou não na região.

## Modelos de criação avícola e condições sanitárias

O sistema mais eficaz de criação é o sistema “todos-dentro/todos-fora”, que antecede qualquer manejo preventivo efetivo da criação avícola, pois as drogas, antibióticos ou vacinas usados não resolverão permanentemente os problemas de saúde na granja. Ao passo que o manejo contínuo das instalações de frango de corte já é um conceito bastante evoluído e inclusive tecnicamente questionável, como a substituição das camas das aves com frequência insustentável do ponto de vista ecológico (França, 2007). Em condições especiais, o intervalo mínimo de 12 dias entre os lotes na produção de corte, permite a convivência de agentes de baixa patogenicidade e comensais sem afetar a performance do lote ou causar danos observáveis à saúde das aves.

## Alguns conceitos e definições para a aplicação de um plano de L&D

No tocante ao entendimento das ações e uso de produtos químicos nas atividades de limpeza e desinfecção destacam-se alguns conceitos e definições (Brasil, 1978; 2007).

- **Desinfetante:** é um produto que mata ou inibe os microrganismos patogênicos (formas vegetativas), mas não necessariamente todas as formas microbianas esporuladas em objetos e superfícies inanimadas.
- **Sanitizante:** é um produto que reduz o número de bactérias a níveis seguros de acordo com as normas de saúde.
- **Sanitização:** pelo processo de sanitização a contaminação pode ser reduzida de bilhões a milhões de microrganismos por centímetro quadrado (cm<sup>2</sup>).
- **Higienização:** procedimentos de limpeza e desinfecção de instalações e correta eliminação de resíduos de produção.
- **Limpeza úmida:** limpeza realizada em meio aquoso para remoção de substâncias indesejáveis.
- **Limpeza a seco:** limpeza realizada substancialmente num meio não aquoso para remoção de substâncias indesejáveis (como terra e pó).
- **Fumigação:** dispersão de agente desinfetante (gás, líquido ou sólido), sob a forma de partículas, no ambiente.
- **Detergente:** é um produto destinado à limpeza de superfícies e tecidos por meio da diminuição da tensão superficial compreendendo um composto básico ativo (agente tensoativo) e componentes complementares (coadjuvantes, sinergistas, aditivos e produtos auxiliares).
- **Ação de detergência:** é o processo de remoção de uma substância indesejável (sujeira) de uma superfície sólida, geralmente com a aplicação de uma força mecânica na presença de uma substância química (tensoativo) com poder de diminuir a adesão da sujeira ao substrato. O processo se completa quando a sujeira é mantida em suspensão e removida por enxágüe.
- **Ação de dispersão:** propriedade do detergente caracterizada pela degradação de resíduos depositados na superfície de objetos e ambientes inanimados, em partículas minúsculas, favorecendo a sua suspensão e facilitando a sua remoção.
- **Ação de limpeza e higienização:** remoção de substâncias indesejáveis por processos químicos.
- **Agente tensoativo de um detergente:** qualquer substância ou composto que participe da formulação de um detergente, que seja capaz de reduzir a tensão superficial, quando dissolvido em água ou solução aquosa, ou que reduza a tensão interfacial entre dois líquidos ou entre um líquido e um sólido.
- **Detergente anfótero:** agente tensoativo contendo em sua estrutura tanto o radical ácido como o básico. Esses compostos quando em solução aquosa exigem características aniônicas ou catiônicas dependendo das condições de pH da solução.
- **Detergente aniônico:** possui um ou mais grupamentos funcionais que, ao se ionizar em solução aquosa, fornecem íons orgânicos carregados negativamente e que são responsáveis pela tensoatividade.
- **Detergente catiônico:** possui um ou mais grupamentos funcionais que, ao se ionizar em solução aquosa, fornecem íons orgânicos carregados positivamente e que são responsáveis pela tensoatividade.
- **Detergente não iônico:** agente tensoativo que não fornece íons em solução aquosa e cuja solubilidade em água se deve à presença, nas suas moléculas, de grupamentos funcionais

com forte afinidade pela água.

- **Tensão superficial:** é a medida do trabalho necessário para distender uma superfície, expressa em unidades de força por unidade de área.

## Aplicação de um plano de L&D

É necessário ter um plano de limpeza e desinfecção (L&D) com objetivos claros e um protocolo de ação detalhado (Sesti,2005). Entretanto, a diversidade dos sistemas avícolas (reprodução, produção de ovos, engorda, etc) e as diferentes regiões geográficas onde estão localizados, não permitem um plano único de L&D (Manté, 2006), o que, ao longo deste contexto será separado, tanto quanto possível.

Para o desenvolvimento do plano é recomendável identificar o passo a passo da realização das operações de L&D. A adoção de um checklist permite o acompanhamento dos procedimentos operacionais e à medida que são executados podem ser registrados, do mesmo modo que, se necessário, o checklist pode facilitar a alteração da ordem de cada item a ser seguido para a melhoria do processo. Para a sua implementação pode-se usar algumas questões básicas e específicas, a citar:

- O que deve ser limpo e desinfetado?
- Onde está localizado?
- Quais são as considerações ou precauções necessárias para cada item ou superfície?
- O que necessita ser feito primeiro, segundo, terceiro, etc? Por quê?
- Como cada tarefa deve ser realizada?
- Quando deve ser feito?
- Quem deve fazer cada tarefa?
- Qual o tempo de duração?

Em síntese, cada passo do plano de ação deve ser considerado: avaliação do risco, limpeza, sanitização, desinfecção e finalmente a avaliação do plano de L&D.

Da limpeza de superfícies à desinfecção em instalações de criação de aves, uma preparação básica que exige uma descrição e avaliação preliminar dos procedimentos.

Após a saída das aves do aviário, as instalações e equipamentos devem ser limpos e desinfetados apropriadamente, seja para o patógeno presente ou suspeito, ou como norma de manejo de rotina quando não há especificamente um agente alvo.

Situações únicas devem ser estudadas e analisadas e nomeadas para tal finalidade. Em geral, considera-se os seguintes fatores:

- Condição ambiental.
- Suscetibilidade do agente patogênico.
- Tipo de construção.
- Superfícies a serem limpas e desinfetadas.
- Equipamentos necessários para realização das tarefas.
- Recursos.

- Pessoas (normalmente em um núcleo de reprodução de 30.000 aves e 6 aviários são necessárias 8 pessoas).
- Tempo disponível, incluir o tempo de vazio das instalações após a limpeza e desinfecção.
- Custos.

Em algumas situações, a limpeza e sanitização podem ser suficientes para eliminar muito dos microrganismos presentes. Esta é a fase que o maior número de microrganismos pode ser removidos. A limpeza consiste em:

- **Remoção de resíduos:** consiste na limpeza grosseira (retirada mecânica) dos resíduos em contato com a superfície, com auxílio de abrasivos físicos.
- **Pré-lavagem:** remoção dos resíduos através da água.
- **Lavagem:** remoção dos resíduos pelo uso de soluções detergentes, com ou sem auxílio de abrasivos.
- **Enxágüe:** remoção de resíduos de detergentes da superfície por meio da água.
- **Sanitização:** aplicação de solução sanitizante para redução dos microrganismos ainda presentes na superfície.
- **Enxágüe:** remoção dos resíduos da solução sanitizante, quando necessário.

O uso de detergente sanitizante permite reunir o enxágüe e sanitização em uma única etapa, conferindo ação bactericida à água de lavagem.

A remoção de sujidades (limpeza) e a ação dos sanitizantes sobre os microrganismos, na sanitização, vão depender de alguns fatores que devem ser rigorosamente observados durante as operações, como:

- **Tempo de contato:** o tempo de atuação do produto sobre a superfície, indicado pelo fabricante ou pelo procedimento operacional, deve ser respeitado.
- **Temperatura:** deve-se, neste caso, levar em conta o tipo de detergente utilizado, bem como os resíduos a serem removidos.
- **Ação mecânica:** é fundamental para a perfeita remoção das sujidades, juntamente com a ação química, garantir a remoção de resíduos.
- **Ação química:** ação detergente sobre os resíduos encontrados, facilitando a remoção dos mesmos. É importante, portanto, utilizar detergentes apropriados para os resíduos a serem removidos e seguir as instruções do fabricante quanto à concentração de uso e tempo de vida da solução em uso.

Adicionalmente, a desinfecção tem uma importância considerável por matar agentes específicos, nas instalações, materiais e equipamentos, etc.

A escolha do desinfetante pode variar de acordo com a natureza do sistema de produção e doenças ou microrganismos a serem combatidos. Deve-se eleger produtos apropriados e validados por testes laboratoriais em taxas de diluição adequadas e tomar as medidas necessárias para garantir a proteção e segurança das pessoas, dos animais, dos equipamentos e do meio ambiente.

**Atividades básicas para execução de procedimentos de L&D em**

# instalações avícolas

## Limpeza a seco

### Controle de roedores

Os roedores devem ser controlados rotineiramente por meio de limpeza dos arredores dos galpões com a retirada de entulhos, manutenção da vegetação rasteira a altura de aproximadamente 3 a 4cm e pela organização constante do ambiente, em especial da área de manutenção da ração, além do uso de raticidas com acompanhamento técnico.

Verificar e repor as iscas dias antes das aves saírem.

### Controle de insetos

Imediatamente depois da saída das aves realizar o programa para controle de insetos, especificamente para o *Alphitobius diaperinus* (cascudinho). Iniciar no máximo até 12 horas após a retirada da cama. Preparar a solução de inseticida e aplicar com baixa pressão e *spray* com gota grossa nas paredes e pilares em uma faixa larga (altura de 1,5m) a partir do piso. As larvas e adultos que ficarem na cama podem ser controlados, mas estes podem procurar proteção fazendo buracos no solo ou piso e eventualmente serem destruídos. Ao mesmo tempo em que se protegerão do inseticida. Esperar 24 horas para o passo seguinte.

Não menos importante, é o controle de moscas. Deve-se aplicar continuamente as normas de biosseguridade retirando diariamente as aves mortas e resíduos e manter no exterior do galpão em tambores fechados para depois levá-las a composteira. É de grande ajuda qualquer outra prática que limite a umidade (ideal <30%) como a inspeção diária dos bebedouros na procura de um vazamento e manter a vegetação baixa no exterior do galpão para evitar áreas de descanso de moscas adultas e promover uma melhor circulação de ar ao redor das instalações. Considerar o uso de produtos aprovados quando as boas práticas de manejo não forem suficientes (Wright,2004; Berry, 2007).

### Remover os equipamentos móveis

Remover todos os equipamentos desmontáveis (comedouros, bebedouros, ninhos, ventiladores) para uma limpeza melhor e colocá-los em local adequado e separado fora do aviário.

### Cama

Após a retirada das aves a cama deve, preferencialmente, ser fermentada e somente após remover a cama do aviário e da propriedade. No caso de problemas sanitários causados por patógenos virais, é recomendada antes da sua remoção do aviário proceder a pulverização de desinfetante para a redução da sua pressão de infecção. Os fenóis são amplamente recomendados para a utilização durante a limpeza do aviário, pois a sua aplicação nesta fase é favorecida por terem alguma atuação em superfícies com matéria orgânica.

Quando a cama tem de permanecer na propriedade e deve ser movida a curtas distâncias não

precisa, necessariamente, ser transportada coberta. Para a estocagem da cama velha, quando não incorporada ao solo imediatamente, esta deve permanecer amontoada e coberta com lona plástica e ficar a uma distância mínima de 500 metros do aviário, evitando ficar próxima de vizinhanças. Quando transportar a cama para fora da propriedade ou a longas distâncias é imprescindível utilizar caminhões adequados e cobrir a cama com lona plástica ou material impermeável.

### **Equipamentos não desmontáveis**

Limpar os equipamentos (painéis, motores, etc), que não podem ser lavados, com compressor de ar e protegê-los cobrindo com plástico.

### **Teto, piso, telas, cortinas e piso**

Varrer o teto, telas, cortinas e piso para retirar todo o material orgânico e facilitar a limpeza antes de usar água para a lavagem. Passar vassoura de fogo no piso e muretas com o equipamento lança-chamas para a eliminação de penas, fezes e insetos mortos dentro e fora do aviário.

A substituição do piso de chão batido por pisos de concreto ou de asfalto tem sido uma das exigências pelas certificadoras internacionais para a continuidade das exportações de carne de frango. Pillotto e Nascimento (2004) avaliaram a eficácia de soluções de desinfetantes comerciais (1L/m<sup>2</sup>) na redução de coliformes em piso de chão batido (camada de solo de 0,5cm de espessura) em galpões de matrizes de corte. As soluções da cal hidratada a 20% (pH 12,8), fenol (1:256), fenol (1:40) e soda cáustica a 2,2% (pH 13,6) apresentaram, respectivamente, os melhores resultados. Já os produtos à base de iodo e amônia quaternária com glutaraldeído não foram eficazes na redução de coliformes fecais.

### **Limpeza do silo**

Primeiramente, deve-se esvaziar o silo. Em seguida, para limpar pode-se utilizar a abertura lateral para atingir o seu interior ou utilizar a abertura do topo superior. Antes e durante a produção do lote deve ser feita a limpeza periódica seca para evitar crostas e mofos, utilizando cabo de madeira com lâmina na ponta.

## **Limpeza úmida ou lavagem dos aviários**

### **Requerimentos principais**

#### *Pessoal*

A equipe de limpeza e desinfecção deve usar capas de chuva, botas de borracha e máscaras faciais protetoras de pó ou respiratórias com filtro adequado ao tipo de gás. É recomendável um tempo prévio de 72 horas para a equipe de limpeza e desinfecção durante o qual não devem ter contato com qualquer espécie de ave, abatedouros ou outro segmento avícola. Ter se banhado e realizado a troca de roupa de pelo menos uma vez nas 72 horas anteriores.

#### *Máquinas de limpeza e desinfecção*



Deve ser fornecida detalhadamente a instrução do procedimento correto de uso da máquina (por exemplo: bomba de alta pressão, máquina *spray*). Desligar todos os equipamentos elétricos antes de lavar a instalação.

### *Pré-lavagem*

Na pré-lavagem da instalação consta o processo de lavagem com água (1-1,5 L/m<sup>2</sup>) uma a duas vezes, dependendo da superfície, para amolecer e facilitar o máximo a remoção de matéria orgânica. Em um primeiro tempo, limpar o teto, as paredes e outras superfícies com máquina de alta pressão e deixar escorrer por 3 a 16 horas. Jogar uma solução alcalina (soda cáustica de 2 a 4%) no piso e deixar atuar, no mínimo, por 2 horas. Durante este tempo, deixar fechada as aberturas laterais, entre a mureta e o piso, próprias para o esgotamento da água, assim o piso ficará ensopado e a sujeira sairá mais facilmente.

Fendas e rachaduras no chão não podem ser limpas apropriadamente, mas somente, com o uso de escovas. É necessária uma grande quantidade de água e trabalho para remover adequadamente todos os resíduos das aves, de cama e partículas de solo.

### Lavagem

Após, para a lavagem, deve-se utilizar um detergente alcalino e aplicar com máquina de alta pressão para superfícies e deixar na superfície por 15 a 30 minutos para facilitar a remoção das incrustações e biofilme. Para a remoção de depósitos ou precipitados minerais é aconselhável o uso de detergentes ácidos. Os depósitos mais comuns são de carbonatos de cálcio e magnésio. Porém, proteínas podem provocar a formação de precipitados. Estes passos reduzem em torno de 60% da contaminação, além de economizar água e tempo.

A água da lavagem, por razões ambientais, deve ser drenada para o solo para sua absorção ou canalizada adequadamente. Para facilitar isso, o piso deve ser liso com uma inclinação de 5 a 10mm por metro. Isto minimizará o risco de resíduos de detergentes ou dispersão da água fora do aviário.

### Enxágue

Após, lavar ou enxaguar até remover todos os resíduos de sujidades com detergente que ainda se encontrem sobre a superfície, frestas ou reentrâncias. Utilizar 0,3L/m<sup>2</sup> e, se possível, enxaguar com água quente (65°C). Lavar com máquina de alta pressão e jatos de movimento de cima para baixo, no teto, vigas, pilares, telas, cortinas e piso. É importante que todo detergente seja removido, uma vez que este pode reduzir a eficácia da desinfecção no passo seguinte.

Deixar secar e iniciar a desinfecção com o desinfetante escolhido.

## **Limpeza e desinfecção dos sistemas de ventilação (placas de resfriamento evaporativo ou pad cooling)**

Durante a criação do lote, limpar o sistema de filtros de água para evitar o desenvolvimento de algas. A drenagem e a troca de água no manejo semanal auxiliam o controle dos precipitados de

minerais, pois estes não evaporam na recirculação do sistema. Para o controle de algas, pode-se utilizar um produto algicida, aproveitando o manejo semanal. Para evitar contaminações, desinfetar com um produto adequado e drenar. Seguir rigorosamente as orientações do fabricante para não danificar o equipamento.

## Serviços e reparos e manutenção geral do aviário e do ambiente

Cortar e manter a grama ou vegetação rasteira aos arredores do aviário a uma altura de aproximadamente 3 a 4 cm e um raio 20 a 25 m do galpão. Este é um bom momento para consertar as telas, cercas e portões. Preencher ou cimentar as fendas e rachaduras no piso, paredes e cantos. Consertar os vazamentos de bebedouros e junções de canos para não molhar a cama e esterco, evitando a infestação de moscas no próximo lote. Também devem ser feitos os reparos com tinta nas cores padrão da empresa na pintura nos aviários, barreira do núcleo, quadros de sinalização e pintar as telhas e composteira com cal.

Cuidados básicos com o sistema de bebedouros *nipples* para aves

Limpar e lavar toda a rede de água, caixa central e caixas de distribuição, tubulações e filtro. A limpeza do filtro deve ser feita sempre que necessária e as tubulações podem ser limpas com ácido acético, caso a água seja alcalina, ou amônia, caso a água seja ácida ([Tabela 1](#)). Igualmente, pode-se usar uma solução de desinfetante que deve ser deixada nas linhas por um período de até 24 horas e depois através da drenagem remover o desinfetante. Utilizar um detergente ácido para a remoção de compostos inorgânicos (sais de cálcio ou manganês) e depois realizar uma nova drenagem para remover os resíduos.

**Tabela 1** - Limpeza dos bebedouros tipo nipple.

<b>Tipo de água</b>	<b>Solução</b>	<b>Concentração</b>	<b>Dosificação</b>	<b>Frequências</b>
Alcalina	Vinagre	0,2%	200 mL vinagre 800 mL água	Depois da vacinação ou medicação
Alcalina	Vinagre	0,4%	400 mL vinagre 600 mL água	Entre lotes
Ácida	Amoníaco	0,025%	25 mL amoníaco 975 ml água	Depois da vacinação ou medicação
Ácida	Amoníaco	0,05%	50 mL amoníaco 975 mL água	Entre lotes

1. As dosagens serão feitas com o dosificador a 1%. 2. O vinagre a 10% (se for vinagre puro diminuir um decimal). 3. Não permitir a permanência de água clorada nos canos durante o período entre lotes (pode danificar as membranas do regulador). Fonte: Pey, J. (2001).

Deve-se tomar cuidados para a prevenção da presença de microrganismos nos sistemas de água de bebida através da cloração adequada da água de bebida das aves.

O cloro é efetivo quando usado na dosagem certa e em acordo com o pH da água a ser desinfetada (Sesti, 2005). A avaliação dos níveis de cloro deve ser diária. Ao lado da possível contaminação microbiológica da água e durante o ciclo de produção com aves no aviário, a adição de alguns produtos aditivos ou medicamentos que, por exemplo, têm açúcar em sua composição, podem sedimentar e tornar-se um excelente substrato para os microrganismos crescerem e formarem o biofilme. Portanto, em sequência a cada medicação, a água deve ser acidificada por um período de 24 horas para limpar o sistema. Contudo, somente a redução do pH, por si só não é suficiente, já que alguns microrganismos, como leveduras, fungos e algas podem crescer em um pH ácido igual a 4,0.

### **Dosador de medicamentos**

É aconselhável desmontar a parte de dosagem completa e lave-a abundantemente com água limpa. Para a eliminação de resíduos e incrustações deixar o conjunto de regulagem em imersão em água morna e detergente ácido ou solução com vinagre durante algumas horas. A limpeza periódica de

suas partes internas (filtro, pistão de dosagem, junta de fechamento) pode ser feita sempre que utilizar produtos em pó solúvel, fazendo sua montagem e desmontagem manualmente, evitando a formação de biofilmes e problemas de funcionamento.

## Limpeza, sanitização e desinfecção dos equipamentos móveis

Os equipamentos são pontos críticos para a limpeza e controle da limpeza e desinfecção.

Em aviários com metas de combater microorganismos alvos, como *Salmonella* spp., faz-se necessário a desmontagem de tacinhas dos bebedouros e todos os comedouros para uma melhor sanitização. Recomenda-se após a sanitização do aviário, limpar todos os equipamentos móveis (comedouros, bebedouros, campânulas, etc) e que foram colocados previamente para fora do aviário e proceder a lavagem destes em local adequado para a canalização ou absorção da água.

Limpar separadamente, pela imersão na água quente (80°C), ou solução em detergente alcalino, para amolecer e remover as sujeiras e incrustações. Escovar e lavar com água sob pressão. A escovação facilita a limpeza e reduz o consumo de água. Enxaguar com água limpa abundante. A desinfecção pode ser por *spray* e, também, por imersão. Descartar qualquer resto de solução com desinfetante usada no dia. Guardar os equipamentos em local adequado para enxaguar e finalmente desinfetar.

Deixar secar. Não colocar os equipamentos lavados no chão, porque o piso não foi desinfetado.

A limpeza de ninhos e tapetes dos ninhos, também, deve ser feita separadamente. Desinfetar pela imersão na água quente (80 °C), ou solução com detergente alcalino, enxaguar e por fim o uso de desinfetante.

Os controles microbiológicos devem ser negativos antes de proceder a montagem dos equipamentos no aviário.

## Barreiras de higiene e pedilúvios

Como o aviário, as barreiras de higiene (lavador de botas, vestuário, sanitários, lavatórios de mão), também, devem ser sanitizadas, havendo a necessidade de seguir a ordem do fluxo e depois do aviário. Recomenda-se a escovação e limpeza manual.

A partir deste momento deve-se usar os pedilúvios do núcleo para a entrada em todos os aviários do núcleo. Proceder primeiramente a escovação rigorosa e lavagem toda a matéria orgânica visível nas botas e, somente, após imergir as botas em solução desinfetante limpa. A **Tabela 2** ilustra alguns exemplos de tempo de imersão em protocolos experimentais de biossegurança, conforme o desinfetante utilizado. É bom lembrar que métodos inadequados serão uma perda de dinheiro, de tempo e causa de difusão do patógeno (Amass *et al.*, 2000).

**Tabela 2** - Contagem total de bactérias (UFC – Unidades Formadoras de Colônias) da superfície de uma bota (75 mm<sup>2</sup>) para a determinação da eficácia do desinfetante e tempo de contato.

<b>Após tratamento</b>	<b>Fenol</b>	<b>Amônia Quaternária</b>
Contaminação inicial	232.000.000	111.000.000
Escovação com água	532	536
1 minuto	186	2
5 minutos	14	0
10 minutos	2	0

Fonte: Amass *et al.* (2000). Resultado da eficácia de desinfetantes após a escovação da bota e imersão por 1, 5 e 10 minutos. Não houve diferença estatística entre os dois produtos e os tempos testados.

## Limpeza e desinfecção do silo

No período de vazio das instalações, proceder a lavagem dos silos com detergente e desinfecção úmida para remover as gorduras e depósitos de proteínas. Pode-se complementar a desinfecção com a fumigação com formol.

## Limpeza e desinfecção de armadilhas

Lavar com detergente e desinfetar os compartimentos das iscas de roedores. Deixar secar e repor com as iscas raticidas nos locais pré-determinados.

## Procedimentos gerais de desinfecção das instalações

É recomendável proceder sempre mais que uma simples desinfecção devido aos movimentos de entrada e saída das instalações e o pátio para evitar uma contaminação cruzada entre os ambientes.

## Primeira desinfecção

Fechar todas as aberturas para não haver perdas do desinfetante.

Preparar a solução do desinfetante em um compartimento adequado e utilizar uma máquina de baixa pressão e aspersão. A máquina deve ser regulada para ser capaz de aspergir 0,25 a 0,4L/m<sup>2</sup>.

Desinfetar por aspersão e com baixa pressão e de forma ordenada no sentido de cima para baixo. Passar no teto, paredes, nas saídas de ventilação e piso, trabalhando no sentido em direção da porta principal da entrada das aves.

Desinfetar, também, os arredores dos aviários.

## Segunda desinfecção

Preparar a solução para a desinfecção por aerossóis, utilizando 1,5 a 1,7 litros por 100m<sup>3</sup>. A desinfecção por aerossol é feita através de um atomizador puxando-o no sentido da porta principal para não inalar o desinfetante.

Fechar todas as aberturas e deixar o aviário fechado por 24 horas quando utilizar formaldeído (dose dupla, 14g de permanganato de potássio mais 28mL de formaldeído a 37 a 40% - adicionar o formol ao permanganato, nunca o inverso) e 8 horas, se for utilizado aldeídos ou compostos de amônia quaternária (CAQ's).

Desinfetar através de aerossóis, novamente, os arredores dos aviários.

## Coleta de amostras

Coletar amostras para monitoramento microbiológico (*Salmonella* spp., *E. coli*) dos pontos críticos da limpeza e desinfecção. Seguem alguns exemplos:

- Suabes algodoados estéreis para rachaduras e fendas embalados em *pool*.
- Esponjas (4 x 8cm) umedecidas com água peptonada e esterilizadas em *pool* de 5 para superfícies, tacinhas e comedouros. Podem-se usar panos macios e absorventes em tamanho maior (40 x 40cm).
- Pro-pés (suabes de arrasto para os pés) para pisos e a área envolta do aviário.
- É recomendável uma análise bacteriológica prévia da maravalha.

Aguardar o resultado laboratorial e somente depois do resultado completar as preparações para o próximo lote.

## Reposição e desinfecção dos equipamentos móveis

Antes de repor todos os equipamentos no aviário, desinfetar por aerossol, novamente, todos os equipamentos removidos, assim eles serão duplamente desinfetados.

Preparação da instalação para o próximo lote

Após o aviário estar seco, deve ser colocada a maravalha, tomando os cuidado para não recontaminar a instalação.

Colocação da cama nova, previamente fumigada com dose tripla, para reduzir a contaminação. Em geral camas tratadas apresentam a chance de menor contaminação do que camas não tratadas. Especialmente, na contaminação pelo fungo *Aspergillus fumigatus*, o qual tem uma grande afinidade por madeira quando a mesma tenha sido exposta a um alto teor de umidade, persistindo a difusão de seus esporos, mesmo após a maravalha ter sido secada adequadamente. É importante conhecer as condições de fabricação, armazenagem e transporte da maravalha adquirida de terceiros.

## Terceira desinfecção

Desinfetar novamente a cama e o ambiente através de aerossóis para evitar que alguma recontaminação externa da granja, ou do último lote, ou entre o processo de estocagem, transporte e colocação da maravalha possa persistir nas instalações e contaminar o próximo alojamento de aves. Repor as iscas e armadilhas do controle de roedores.

## Vazio das instalações ou desinfecção física

Considerar o vazio das instalações para destruição dos microorganismos por ação física a partir da instalação limpa e desinfetada de no mínimo 15 dias até o próximo alojamento. O vazio das instalações é diretamente proporcional à saúde do lote.

Manter fechada as instalações para a prevenção da entrada de qualquer vetor biológico de patógenos relevantes.

## Quarta desinfecção

Dois dias antes do alojamento é recomendável fazer uma nova aplicação de desinfetante por aerossóis.

## Avaliação e inspeção

O vazio das instalações mínimo deve ser determinado previamente e seguido após a limpeza e desinfecção. O técnico responsável deve examinar todos os procedimentos para garantir que todos os passos foram realizados e, dependendo do patógeno específico sendo combatido, pode ser necessária a introdução de animais sentinelas para garantir a integridade do processo. A avaliação final inclui o monitoramento microbiológico através de exames laboratoriais.

Controle da limpeza e desinfecção:

- **Verificação visual:** direcionada às superfícies da instalação (teto, paredes, piso e dos equipamentos, juntas, válvulas, etc). Qualquer presença de resíduo significa que a etapa de limpeza não foi bem executada e que deve ser refeita.
- **Verificação de contato:** usada para locais onde a vista não alcança. Pode ser feita com papel branco, ou mesmo com a mão limpa e sanitizada. Se houver a sensação de gordura nas mãos, ou sujidades no papel, o processo deve ser refeito.
- **Verificação da carga microbiológica:** aplicada nas superfícies dos pontos críticos do processo. A área da superfície deve ser mensurável em centímetro quadrado para que a carga de microorganismos possa ser mensurada. É feita a coleta de amostras através de suabes, placas de contato, águas do último enxágüe, esponjas ou tecidos absorventes esterilizados. Só deve ser realizada se as superfícies passaram pelas duas primeiras verificações. Portanto, torna-se imprescindível verificar a redução da contaminação microbiana ou a ausência do microrganismo que está sendo focado (**Tabelas 3 e 4**). Fatores tais como uma higiene e desinfecção mal feitas, tipo do microrganismo e sua concentração podem determinar o tempo

de sobrevivência fora da ave.

- **Verificação dos procedimentos e operações:** verificar se foram cumpridos os procedimentos descritos. Verificar a concentração de soluções desinfetantes e os aspectos complementares da limpeza e desinfecção (temperatura das soluções, tempo de contato, pressão de linha, etc).

**Tabela 3** - Comparação da contagem média total (CMT) de microrganismos antes (após a saída das aves) e após a limpeza com água sob pressão (antes da desinfecção) em unidades formadoras de colônias (ufc - Resultados da média de 5 suabes tomados individualmente em superfícies de 100 cm<sup>2</sup>. Total de 50 suabes).

Local (suabe)	Após remoção das aves			Após limpeza mecânica		
	CMT	Coliformes	Fungos	CMT	Coliformes	Fungos
Piso	4.136.000	345.000	3.822.000	565.000	35.000	704.000
Paredes	1.764.000	29.000	2545.000	316.000	4.000	565.000
Teto	1.432.000	32.000	1.288.000	350.000	12.000	530.000
Bebedouros	1.870.000	92.000	720.000	175.000	11.000	173.000
Ventiladores	915.000	75.000	954.000	135.000	10.000	419.000

Fonte: Kasová A. *et al.* (2006).



**Tabela 4** - Média da contagem (ufc) total de microrganismos (CT), coliformes e fungos após a desinfecção com ácido peracético (concentração de ácido peracético foi de 4mL/L na temperatura ambiente de 18°C. Resultados da média de 5 suabes tomados individualmente em superfícies de 100 cm<sup>2</sup>.).

Local (suabe)	CT	Coliformes	Fungos
Piso	586	0	180
Paredes	147	0	197
Teto	100	0	200
Bebedouros	190	0	160
Ventiladores	200	0	200

Fonte: Kasová A. *et al.* (2006).

O **Quadro 1** contempla de forma sucinta um exemplo de um fluxo das atividades que devem ser realizadas e acompanhadas com registro de dados, como data, executor da atividade e visto do responsável pela inspeção final.

**Quadro 1** - Exemplo de um fluxo de Limpeza e Desinfecção (L&D) em um aviário de reprodução.

Atividade	Data	Responsável	Visto
<b>Limpeza a seco</b>			
1. Controle de roedores			
2. Carregamento das aves			

3. Primeira aplicação de inseticida contra cascudinhos			
4. Retirar a maravalha dos ninhos			
5. Remover os equipamentos móveis			
6. Pulverizar desinfetante em cima da cama			
7. Amontoar cama com trator			
8. Fermentar a maravalha ou retirar			
9. Varrer telas e cortinas			
10. Varrer o piso			
11. Carregamento da cama e compostagem			
12. Queimar com lança chamas no piso e muretas os restos de materiais penas, fezes, insetos mortos dentro e fora do aviário			
13. Retirada da terra com restos de cama			
14. Limpeza do silo e linhas de ração			
15. Roçada da vegetação rasteira			
<b>Limpeza úmida</b>			
16. Pré-lavagem dos aviários e compostagem			
17. Primeira lavagem do aviário da barreira do núcleo			

18. Aplicar desinfetante na tubulação do nipple e caixas d'água			
19. Lavagem do dosador de medicamentos			
20. Lavagem e drenagem das caixas de água e linhas de tubulação de água			
21. Lavagem dos equipamentos móveis (ninhos, calhas, tapetes de ninho, bebedouros, taças do nipple, ventiladores, etc.)			
22. Lavagem nos aviários, silos e salas dos aviários			
23. Lavagem da composteira			
24. Lavagem do trator e carretas			
25. Deixar secar			
26. Reparo dos aviários, barreira do núcleo, cercas			
27. Pintura dos aviários com cal (telhados, paredes, piso, etc)			
28. Colocação de pedilúvios			
<b>Desinfecção química</b>			
29. Desinfecção do silo			
30. Limpeza e desinfecção das linhas primária de ração			

31. Limpeza e desinfecção de armadilhas de pragas			
32. Primeira desinfecção dos aviários, seu exterior e barreira do núcleo			
33. Primeira desinfecção dos equipamentos móveis			
34. Segunda desinfecção do aviário, seu exterior e da barreira do núcleo			
35. Coleta de material para análise laboratorial dos equipamentos. Os controles devem ser negativos antes de proceder ao passo seguinte			
36. 2ª desinfecção dos equipamentos móveis e reposição			
37. Preparo da instalação e colocação da maravalha			
38. 3ª desinfecção dos aviários e da barreira do núcleo			
39. Fumigação do silo c/ permanganato e formol			
40. Segunda aplicação de inseticidas contra cascudinhos			
41. Controle de moscas			
<b>Desinfecção física - vazio sanitário</b>			
42. Início do vazio sanitário físico			
43. Realizar a monitoria de coletas dos pontos críticos da limpeza e desinfecção no vazio sanitário			

44. Inspeção dos aviários e do núcleo em geral			
45. Avaliação dos resultados laboratoriais			
46. Quarta desinfecção dos aviários, 48 horas antes do novo alojamento			

## Implicações ou falhas na execução do plano de L&D

Há diferentes razões para um mau desempenho do plano de L&D, as mais importantes são:

- O procedimento de limpeza aplicado é insuficiente, incompleto ou está desatualizado.
- Os desinfetantes não têm um bom desempenho (procedimento de validação insuficiente).
- Cobertura da superfície não satisfatória pela má aplicação do desinfetante.
- Taxa de diluição excessiva do produto.
- Tempo de contato insuficiente.
- Temperatura e umidade inadequada durante a aplicação do produto.
- Inativação do desinfetante pelo enxágüe insuficiente do detergente.
- Eleição de produto errado em relação ao microrganismo presente ou suspeito.
- O modelo das edificações ou equipamentos inadequados.
- Invalidação do processo total de desinfecção pela reintrodução da doença através de animais infectados.

Os procedimentos podem ser ineficientes devido às etapas de limpeza, à pré-lavagem e lavagem antes da desinfecção, temperaturas ambientais muito baixas, quantidade insuficiente de desinfetante, baixa umidade ambiental. Outras medidas que podem contribuir é a não inclusão nos procedimentos de limpeza e desinfecção dos pontos críticos, como bebedouros, ninhos, poleiros, comedouros e silos ou sistema de ventilação entre outros.

Soma-se a isso um outro ponto relativo ao produto desinfetante, cuja validação pode não cobrir os requerimentos presentes nas condições práticas. Por exemplo, o tipo de construção (superfícies rugosas) e materiais empregados (madeira, metal e plástico).

Por último, a causa aparente da invalidação do processo total de desinfecção, quando há reintrodução da doença através de animais infectados presentes no novo lote alojado.

## Material e métodos para controle da efetividade da desinfecção

A avaliação da efetividade do processo da desinfecção deve ser feita após o desinfetante ter tempo de agir completamente nas áreas desinfetadas, sendo recomendado um contato mínimo de 30 minutos, porém o ideal é de 3 a 12 horas. São recomendados diferentes métodos para detecção da bactéria indicador, a citar:

- Método do suabe (controle da presença de *E. coli* ou contagem total de microrganismos viáveis)
- Placa rodac (contagem do número de microrganismos)
- Esponjas (controle da presença de *Salmonella* spp.)

## Utilização de produtos nas operações de limpeza, sanitização, desinfecção e de ação tóxica para o controle de pragas e aspectos da Legislação

É muito importante acompanhar a legislação sobre a permissão do uso destes produtos. A Instrução Normativa nº 49 de 14 de setembro de

2006, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Instruções para permitir a entrada e o uso de produtos nos estabelecimentos registrados ou relacionados no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal) informa que está revogada o uso da AUP (Autorização de uso de produtos). Portanto, os produtos inseticidas, raticidas, detergentes e desinfetantes, somente, precisam ter o registro do órgão responsável competente. No tocante aos praguicidas temos a resolução RDC 326/05 emitida pela ANVISA (Aprova o regulamento técnico para produtos desinfestantes domissanitários harmonizado no âmbito do mercosul através da resolução gmc nº 49/99) que tem como objetivo estabelecer definições, características gerais, substâncias ativas e coadjuvantes de formulação permitidos, forma de apresentação, advertências e cuidados a serem mencionados na rotulagem de produtos desinfestantes domissanitários de forma a minimizar o risco à saúde do usuário. Com relação a fiscalização de produtos veterinários o Decreto Nº 5053, de 22 de abril de 2004, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Aprova o Regulamento de Fiscalização de Produtos de Uso Veterinário e dos Estabelecimentos que os Fabriquem ou Comerciem, e dá outras providências) determina entre outras regras que o comprador ou usuário receba orientação adequada quanto à conservação, ao manuseio e uso correto do produto. E todo produto deverá cumprir com as mais exigentes normas de qualidade, matérias-primas, processos de produção e de produtos terminados, para o qual se tomarão por referência as reconhecidas internacionalmente. Para a aprovação de desinfetantes, a Portaria 15 de 23/08/1988, do Ministério da Saúde (Determinar que o registro de produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana seja procedido de acordo com as normas regulamentares anexas à presente), estabelece o uso de método oficial padrão definido pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), possibilitando a comparação de resultados quando obtidos em diferentes laboratórios.

Entre os aspectos que envolvem o uso desses produtos merecem cuidados especiais, aqueles relativos à limpeza, desinfecção e contaminação pela diversidade dos agentes microbianos, e que neste contexto muita informação da eficácia do produto pode ser obtida pela empresa ou fornecedor deste.

## Recomendações gerais para a escolha e uso de detergentes

Os compostos mais usados são:

- Detergentes alcalinos com ou sem compostos de cloro (soda cáustica, carbonato de sódio, metassilicato de sódio, fosfato trissódico, mais polifosfatos e tensoativo aniônico). As substâncias alcalinas têm a função de quebrar e dissolver as moléculas de gordura e podem ser seguramente misturadas com cloro, o qual atua na degradação de proteínas, diminuindo a sua concentração e inibindo a sua ação antimicrobiana. Já os polifosfatos atuam para diminuir a dureza de águas duras como substâncias quelantes de cátions.
- Detergentes alcalinos com compostos de amônia quaternária e agente tensoativo não iônico.
- Detergentes ácidos (formulados com ácido fosfórico ou ácido orgânico, mais tensoativo não-iônico, mais inibidor de corrosão).
- Detergentes neutros (trifosfato de sódio, pirofosfato de sódio, sulfonato de alquil e aril, mais tensoativo anfotérico).

## Recomendações gerais para a escolha e uso de desinfetantes

A eleição do desinfetante deve priorizar um produto de amplo espectro de ação e satisfazer não somente atividade contra infecções nas aves, mas também respeitar os requerimentos legais e de segurança. Muitas vezes, a seleção de um desinfetante pode ser um procedimento complicado e torna-se essencial considerar todos os fatores, como a superfície a ser desinfetada, quantidade de matéria orgânica, temperatura, qualidade da água, tempo de contato, espectro de atividade e poder residual, bem como avaliar o fator custo:benefício para o uso de cada produto ([Tabelas 5 e 6](#)).

**Tabela 5** - Atividade dos princípios ativos dos desinfetantes mais comuns utilizados nas instalações avícolas.

Propriedades/ações	Aldeídos	Compostos de Amônia Quaternária (CAQ's)	Clorexidina	Iodo/Iodofor	Agentes oxidantes	Fenol	Cloro	Álcool
Víricida - vírus sem envelopes	+++	Não	Não	++	++	Não	+++	Não
Viricida - vírus com envelope	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	++
Bactericida	+++	++	++	++	++	++	++	++
Esporicida	++	Não	Não	+	+	+	+	Não
Fungicida	+++	++	++	++	+	+	+++	+
Atividade em presença de matéria orgânica	+++	++	++	++	+	+	+	+
Atividade na presença de sabões	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Atividade residual	Fraca	Fraca	Boa	Pobre	Pobre	Pobre	Pobre	Fraca

+++ = Atividade alta/muito boa; ++ = atividade moderada/boa; + = atividade discreta/fraca. Dutta, M. Poultry International (2006).



**Tabela 6** - Vírus envelopados e não envelopados mais comuns em doenças de aves.

<b>Com envelope</b>	<b>Sem envelope</b>
Vírus da influenza aviária	Vírus de Gumboro
Vírus da doença de Marek	<i>Reovírus</i>
Vírus da doença de Newcastle	Vírus da anemia infecciosa
Vírus da bouba aviária	Vírus da hepatite por corpúsculo de inclusão
Vírus da bronquite infecciosa	Vírus da encefalomielite Rotavírus Vírus da síndrome da queda de postura (EDS76)

Definido o desinfetante a ser utilizado nos programas de desinfecção ou rotinas de desinfecção em sistemas de produção animal ou aplicações objetivando segurança alimentar, é necessário que os protocolos de testes de eficácia tenham sido previamente validados por meio de um protocolo de análise onde os regulamentos e requerimentos sejam respeitados, tais como:

- Nome do produto.
- Fabricante.
- Registro ou laudo de aprovação.
- Ingredientes ativos e concentração.
- Rótulo ou bula indicadora de aplicação para usuários e supervisores.
- Microrganismos alvos.
- Ficha de segurança do produto (EPI's - Equipamentos de Proteção Individual, como roupas, botas, capas, luvas, chapéus).
- Precauções com os resíduos (aprovação e canalização evitando danos ambientais).
- Outros produtos que podem ser utilizados em combinação ou misturados.
- Taxa de diluição.
- Concentração final.
- Temperatura do diluente.
- Toxicidade do produto (oral e em contato com a pele e olhos).
- Ação carcinogênica.
- Corrosivo para metais, pintura, concreto, borracha, plástico.

- Tempo de contato com a superfície tratada.
- Outros.

## Principais desinfetantes usados em instalações avícolas

### Aldeídos

Os aldeídos têm amplo espectro de ação. O glutaraldeído e o formaldeído são os desinfetantes mais utilizados neste grupo. O formaldeído é usado na forma líquida ou gasosa por muitos anos no controle de agentes de doenças de animais ou programas preventivos. É pouco afetado pelo pH ambiente e presença de matéria orgânica, além de ser considerado não corrosivo. Entretanto, devido às suas características indesejáveis (cancerígeno) as alternativas são produtos a base de cloro, glutaraldeído, ácido peracético e peróxido de hidrogênio. O glutaraldeído é um potente virucida, bactericida, fungicida e esporicida e sua ação é favorecida pelo pH alcalino. Tem uma fraca atividade residual, mas é efetivo na presença de matéria orgânica.

### Cloro

Geralmente, o efeito bactericida do cloro é assegurado em faixas de pH neutro a ácido (pH 5 a 7). Como regra tem uma ação rápida na eliminação de vírus, bactérias, leveduras, algas e fungos, mas é relativamente ineficiente contra esporos. Entre as desvantagens inclui-se a característica de ser corrosivo e a liberação do odor muito forte. Ambas as formas de apresentação, concentrado ou diluído, são instáveis e são afetados pelo calor e luminosidade, havendo necessidade de usar soluções frescas diárias. O risco ambiental é pequeno para o solo e plantas, não persistindo muito tempo por ser neutralizado pela matéria orgânica.

### Agentes oxidantes

Este grupo de desinfetantes inclui o peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio e ácido peracético. São efetivos em vírus, bactérias, micobactéria e fungos e caracterizam-se por terem uma ação antimicrobiana rápida, mas uma pobre ação residual.

O peróxido de hidrogênio é corrosivo para metais e é instável quando exposto ao calor e luminosidade. Não é poluente, dissociando-se em água e oxigênio, o qual torna-se inativo em contato com matéria orgânica.

O ácido peracético tem amplo espectro de ação e agrega neste grupo químico, também, a sua ação em leveduras e bactérias esporuladas. Pode ser utilizado com detergentes ácidos. É corrosivo, mas o seu impacto ambiental é pequeno, dissociando-se em água e ácido acético.

### Fenóis

São efetivos contra bactérias (especialmente as gram-positivas) e vírus com envelopes, ao passo que muitos compostos fenólicos não atuam em vírus não envelopados ou esporos bacterianos. São bacteriostáticos em concentrações menores e bactericidas e fungicidas em concentrações maiores. Os fenóis são efetivos na presença de matéria orgânica e por isso são recomendados para uso em pedilúvios e pisos, mas têm pouca atividade residual (Dutta, 2006). Embora, novos compostos de

fenóis sintéticos preconizam um efeito residual de aproximadamente sete dias. São tóxicos para o meio ambiente, difíceis de dissociação e neutralização pela matéria orgânica. Podem provocar irritação de pele e despigmentação.

### **Compostos de amônia quaternária**

Os produtos comerciais contêm várias formas de cloreto de amônia, como alquil, benzil, didecil, dimetil, ethil-benzil, octil ou uma combinação de diferentes compostos de amônia. Têm boa habilidade na redução da tensão superficial da água. São efetivos contra bactérias, vírus com envelopes e alguns fungos. Sua atividade é rapidamente reduzida por águas duras, materiais fibrosos e resíduos de sabões e detergentes aniônicos, assim como matéria orgânica. Estes compostos se degradam rapidamente no meio ambiente. Não são corrosivos para metais e tem ampla faixa de atuação de pH.

### **Soda cáustica (hidróxido de sódio)**

É um desinfetante forte que tem seu uso em muitas situações de granjas. Em concentração alta (pH 13 ou maior) pode matar todos os microrganismos incluindo esporos bacterianos. É corrosivo e irritante para a pele e olhos, podendo o seu contato resultar em queimaduras severas, os quais podem ser evitados tomando cuidados extremos. O seu uso é recomendado somente quando o mesmo não afetar o meio ambiente (águas e plantas).

## **Regras para o cálculo das taxas de diluição dos desinfetantes**

É recomendável transformar a apresentação do produto e sua indicação de uso em partes por milhão (ppm) para avaliação e monitoramento microbiológico entre os produtos que estão sendo usados. Os passos básicos e fórmulas são exemplificados no [Quadro 2](#). Da mesma forma, que possibilita a comparação de custo e benefício frente aos produtos disponíveis comercialmente.

**Quadro 2** - Exemplos de cálculo para transformar em ppm (parte por milhão), proporção e taxa de diluição para uma solução de 1500L de água a partir da apresentação de um produto comercial.

a. Apresentação do desinfetante (AD): embalagem de 1L, com 50% de princípio ativo

b. Indicação de uso do produto em ppm (dose ppm): 500ppm, ou, pela taxa da diluição v/v (TD): 0,1%, ou, pela proporção da diluição 1:1000, ou 1/1000

c. Volume da solução necessária com desinfetante (VS): 1500L

d. Fórmula para achar a dose em ppm da TD:  $(AD \times 10.000 \times TD) = (50 \times 10.000 \times 0,1\%) = 500\text{ppm}$

e. Fórmula para achar a proporção da diluição (PD):  $(AD \times 10.000) / \text{dose ppm} = (50 \times 10.000) / 500 = 1000$ , ou 1:1000, ou 0,1%

f. Fórmula para achar a quantidade de embalagens:  $(VS \times TD) = (1500 \times 0,1\%) = 1,5 \text{ L}$

g. Resultado: 1,5L do produto comercial (750g) devem ser diluídos em 1500L (1,5m<sup>3</sup>) de água, ou, usar 1mL para cada litro de água

m<sup>3</sup>: metro cúbico (1m<sup>3</sup>=1000L; g/m<sup>3</sup>=ppm). v/v: (é igual ao percentual do volume do produto diluído pelo volume total da solução).

## Raticidas

Os raticidas ([Tabela 8](#)) devem ser colocados em iscas devidamente protegidas. Os anticoagulantes atuam de forma cumulativa e têm a habilidade de produzir hemorragias internas progressivas até causar a morte dos roedores, por isso há a necessidade de reposição contínua. Os anticoagulantes bromadiolona e brodifacume atuam de forma mais rápida que a warfarina e podem matar com uma só ingestão. Igualmente, muitos dos não anticoagulantes podem matar com uma única dose ou pequenas quantidades ao longo do tempo (Leeson, 2000).

**Tabela 8** - Principais princípios ativos raticidas.

Princípio ativo	%	Camundongo	Ratazana	Rato do telhado
_____LD50 (mg/kg)_____				
<b>Anticoagulantes</b>				
Warfarina	0,025	0,6; (3-5 dias)	(1,5 dias)	Não testado (NT)
Pindona	0,025		280	NT
Difacinona	0,005	141-340	3-17	NT
Clorofacinona	0,005	1,06	2,1-20,5	NT
Brodifacume	0,005	0,4-0,86	0,27	0,65-0,73
<b>Não anticoagulantes</b>				
Brometalina	0,01	5,25-8,13	2,01-2,46	6,6
Colecalciferol	0,075	42,5	10-50	NT
Fosfato de zinco	1,0-2,040	27-40	2,9-40,5	NT
Fonte: Wilson, D. (Poultry fact sheet nº23 UCD apud Manté, 2006).				

**Inseticidas**

Os inseticidas devem apresentar amplo espectro da ação, poder residual, ser inócuo para o homem e animais, ausência de resíduos para a carne e ovos, ser biodegradáveis e possuir uma baixa relação custo:benefício. Diante das proibições dos organoclorados e organofosforados têm-se ainda os piretróides. Contudo, pelas restrições existentes deve-se desenvolver alternativas.

## Destino de resíduos biológicos e das aves mortas

O manejo adequado e responsável de dejetos orgânicos e de animais mortos por criadores ajuda a evitar contaminações das fontes subterrâneas e de superfícies. Por responsabilidade e compromisso com a sociedade que também utiliza desta água, os produtores avícolas devem garantir a eliminação dos riscos de que o contato de animais mortos e de restos de cama de revestimento dos aviários possa contaminar os lençóis freáticos. Os resíduos de produção (carcaças de aves mortas, esterco), dependendo da contaminação, podem ser descartados por diferentes métodos aceitáveis nas condições comerciais. Embora cada um tenha alguma desvantagem, em algum momento pode ser necessário direcionar de um para outro método. Todos dependem de um ponto de coleta no perímetro da cerca do núcleo ou fora da zona de biosseguridade para evitar a disseminação da doença ou proteger o meio ambiente da poluição e contaminações microbiológicas causadas por estes dejetos e carcaças de aves mortas. São eles:

- **Compostagem:** processo contínuo e não serve para mortalidades catastróficas.
- **Incineração:** custo (umidade de carcaças) e poluição ambiental
- **Fossa séptica ou enterramento:** local inadequado e contaminação ambiental

Métodos e equipamentos auxiliares para aplicação em um programa de limpeza e desinfecção (L&D)

Na indústria avícola há diferentes maneiras de aplicar os desinfetantes. Utilizar métodos adequados significa ganhar tempo, dinheiro e evitar a difusão do patógeno.

- **Sistemas de alta pressão:** para remover matéria orgânica, utiliza-se água quente, para remover sujidade grossa, usa-se água fria. Por outro lado, face às dificuldades encontradas na prática, especificamente à disponibilidade de equipamentos com produção de água quente, é oportuno mencionar que a água fria mais detergente tem o mesmo efeito removedor de sujidades que o da utilização de água quente.
- **Sistemas de aplicação de espumas:** lavagem de paredes, pisos.
- **Sistemas de aplicação de desinfetantes:** eliminação de microrganismos de uma área, equipamentos e de materiais, etc.

Os desinfetantes podem ser aplicados pelos métodos que seguem.

- **Nebulização (aerossol):** as gotas são muito pequenas (tamanho médio  $\leq 50\mu\text{m}$ ) e alcançam facilmente os locais a serem desinfetados. Este método tem a vantagem de usar pouco desinfetante e ainda ser efetivo. O aviário não fica ensopado e seca rapidamente após a desinfecção.
- **Spray:** com o equipamento de alta pressão as gotas são intermediárias a grandes (tamanho entre 50 e 100  $\mu\text{m}$ ), mas também é importante usar baixa pressão para cobrir todas as superfícies que se queira desinfetar. Pode-se fazer uma solução de desinfetante em um reservatório maior e usá-lo a partir deste.
- **Coarse spray:** produzem gotas grandes (tamanho médio e  $\geq 100\mu\text{m}$ ).
- **Fumigação:** este método é usado com o formaldeído.

Recomenda-se o uso de pulverizadores devido às vantagens econômicas, tanto de produto como

de água e ainda assim são muito eficazes. Eles foram originalmente desenvolvidos para utilização na indústria agrícola para a aplicação de inseticidas e herbicidas.

- **Atomizadores:** bastante leves e populares, são utilizados para a geração de aerossóis para aplicação espacial (no ar) ou residual (no local).
- **Pulverizadores manuais:** o bocal é a extensão de uma lança de pulverização curta.
- **Pulverizadores costais:** reservatórios de tamanhos variados que são carregados nas costas do operador. O padrão do *spray* é determinado pelo tipo de bocal utilizado.
- **Motopulverizadores:** os pulverizadores motorizados podem ser elétricos (alimentados por bateria recarregável ou corrente direta) ou à combustão.

Não existem equipamentos 100% *spray* ou 100% aerossol e as especificações devem ser fornecidas pelos fabricantes através do volume mediano do diâmetro (VMD) da gota produzida. Por exemplo:

- VMD 0,1 = 50mm, isto significa que 10% das gotículas têm tamanho < 50mm.
- VMD 0,5 = 100mm, isto significa que 50% das gotículas têm tamanho <100mm.

## Considerações finais

*“O que vale a pena ser feito, também vale a pena ser bem feito”.*

Concluí-se que a limpeza e desinfecção são processos que se complementam juntamente com a promoção de um nível alto e consistente de higiene na granja para se obter os resultados finais desejados. Para a descrição de um plano de L&D é necessária uma avaliação preliminar de todos os procedimentos com as direções de como devem ser feitos

Nunca é demasiado educar e orientar os colaboradores e a equipe de L&D, sendo um bom momento para a revisão do plano e se necessário a adição de mais uma ou outra medida, ou alteração da sua ordem.

É necessário considerar todos os riscos, na segurança alimentar, econômica ou de performance na avicultura. Assumir que os custos e os benefícios são valores separados que podem resultar na melhoria do desempenho e produtividade, redução de doenças, redução de animais refugos e, sobretudo, redução de gastos.

## Bibliografia

Agromarau. Dosatron di 16, dosador de medicamentos. In: MANUAL de instalação, utilização e manejo. 3rd ed. Marau; 1998. p.19.

Amass SF, Vyerberg BD, Ragland D. *et al.* Evaluating the efficacy of boot baths in biosecurity protocols. **Swine Health and Production** 2000; 8(4):169-173.

Böhm R. **Hygiene and disinfection in turkey houses – Lessons from the past and future aspects.** In: Hafez, HM. Proceeding of the 3rd International Symposium on Turkey Production:

Prospects on future developments; 2005; Berlin. Germany. p.32.

Berry JG. **Fly control in the poultry house**. Oklahoma: Oklahoma University, Division of Agricultural Sciences and natural resources. [cited 2007 jul. 10]. Available from: <http://osueextra.okstate.edu/pdfs/F-8206web.pdf>

Brasil. ANVISA Resolução Normativa nº 1, de 25 de outubro de 1978. Aprova as normas a serem obedecidas pelos detergentes e seus congêneres. [cited 2006 set.18]. Available from: [http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?mode=print\\_version&id=353](http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?mode=print_version&id=353).

Brasil. ANVISA. RDC nº 13 de 28 de fevereiro de 2007. Aprova o regulamento técnico para produtos de limpeza e afins harmonizado no âmbito do mercosul através da resolução GMC nº 10/04, que consta em anexo à presente resolução. [cited: 2007 jul. 30]. Available: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=25958&word=detergentes>

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e eAbastecimento. Portaria nº 136, de 02 de junho de 2006. Diário oficial da união. 05 jun, 2006, p.4-6. [cited 2007 jul. 05]. Available from: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16866>

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e eAbastecimento. Portaria nº 138, de 05 de junho de 2006. Diário oficial da união. 08 jun, 2006, p.15-17. [cited 2007 jul. 05]. Available from: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16872>

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 49 de 14 de setembro de 2006. Instruções para permitir a entrada e o uso de produtos nos estabelecimentos registrados ou relacionados no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. [cited 2007 jul 30]. Available from: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17275>

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 5053, de 22 de abril de 2004. Aprova o Regulamento de Fiscalização de Produtos de Uso Veterinário e dos Estabelecimentos que os Fabriquem ou Comerciem, e dá outras providências. [cited 2007 jul 30]. Available from: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7276>

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 15 de 23 de agosto de 1988. Determinar que o registro de produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana seja procedido de acordo com as normas regulamentares anexas à presente. [cited 2007 jul 30]. Available from: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18661&word=saneantes>

Bruins G, Dyer JA. Enviromental considerations of disinfectants used in agriculture. **Scientific and Technical Review** 1995; 14(1):81-94.

Broek GVD, Bergh MVD, Ebbinge B, Selko BV. Clean drinking water during production by use of



organic acids. **World Poultry** 2003; 19:34–35.

Dutta M. **Farm disinfection rises to a new dimension**. *Poultry International* 2006; p.26-27.

Fabri THF. **Sanitation and disinfection in broiler houses, hatcheries and slaughterhouses**. Deventer, Netherlands: Poultry Health Course. Deventer, Netherlands; 2004.

Filho RLA, Patrício IS. Biossegurança da granja de frangos de corte. In: Mendes AA, Nääs IA, Macari M. **Produção de frango de corte**. Campinas, SP:FACTA; 2004. cap. 11, p.167-177.

Fort Dodge Saúde Animal. **Avaliação técnica de vacinação spray** [manual técnico]. Campinas, SP; 2004. p. 1-7.

França JM. A competitividade da avicultura de corte e a certificação de qualidade para o mercado externo. **Avicultura Industrial** 2007; 98(1157):20-25.

Grow AG. Writing guidelines to require disinfection. **Scientific and Technical Review** 1995; 14(2):469-477.

Ito DS. **Pontos críticos de manejo de poedeiras durante a fase de cria e recria**. In: Anais Conferência APINCO 2004, Santos, SP. Brasil. v. 2, p.77-84.

Jaenisch FRF. Biossegurança em plantéis de matrizes de corte. [cited 2004 nov. 24]. Available from: <http://www.bichoonline.com.br/artigos/embrapave0004.htm>

Jeffrey DJ. Chemicals used as disinfectants: active ingredients and enhancing additives. **Scientific and Technical Review** 1995; 14(1):57-74.

Kahrs RF. General disinfection guidelines. *Scientific and Technical Review* 1995; 14(1):105-122.

Kasová A. *et al.* Efficiency of sanitary treatment in poultry breeding and poultry meat processing plant. [cited 2007 jun. 16]. Available from: <http://vfu.cz/acta-vet/archives/volume75/pdf/20067504611.pdf>

Lesson S, Summers JD. **Broiler breeder production**. Ontário, CA: University books; 2000.

Lister SA. Hygiene and disinfection in poultry management. In: Jordan JTW *et al.* **Poultry diseases**. 5th ed. Hong Kong: WB Saunders; 2001. cap.3. p.43-54.

Manté AP. Higiene e profilaxia ambiental. In: Bianés MM. Higiene y patologia aviar. 2nd ed. Barcelona, ES: Real Escuela de

Avicultura; 2006. cap. 21, p. 489-517.

Paiva DP. **Controle de moscas em avicultura intensiva**. Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves; 2001. 1 folder. McMullin P. A pocket guide: to poultry health and disease. United Kingdom: 5M Enterprises; 2004. cap. 2, p. 11-27.

Pey J. Nipples bem conservados. Dicas de manejo e cuidados básicos de sistemas de bebedouros

nipples para aves. **Avicultura Industrial** 2001; (1093). [cited 2007 jun. 24]. Available from: <http://aviculturaindustrial.com.br>

Pilloto F, Nascimento VP. **Avaliação da eficácia de desinfetantes comerciais no piso de chão batido em galpão de aves matrizes de corte** [dissertação]. Porto Alegre (BR): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2004.

Saran A. Disinfection in the dairy parlour. **Scientific and Technical Review** 1995; 14(1):207-224.

Sesti LAC. Biosseguridade em granjas de reprodutores. In: Mendes AA, Macari M. **Manejo de matrizes de corte**. Campinas, SP: FACTA; 2005. cap. 12, p. 243-321.

Wright C. Control de la mosca domestica menor. Conselhos de los programas de extensión universitaria de cómo controlar esta plaga común. **Indústria Avícola** 2004; 51(10):18-21.

**Coleta e envio de material para laboratório**

<b>Introdução</b>	<b>41</b>
<b>Embalagem e envio do material ao laboratório</b>	<b>41</b>
<b>Amostragem</b>	<b>42</b>
<b>Colheita de material e seus conservantes</b>	<b>43</b>
<b>Guia rápido de coleta e envio de material para laboratório</b>	<b>45</b>
<b>Escolha do material para envio ao laboratório, conforme a suspeita do agente etiológico</b>	<b>46</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>50</b>

# Capítulo 1.3 - Coleta e envio de material para laboratório

José Di Fábio; Lavinia Lervolino Rossini

## Introdução

O laboratório de patologia aviária é de suma importância para o diagnóstico enfermidades aviárias visto muitas delas apresentarem uma sintomatologia, lesões macroscópicas vistas à necropsia semelhantes. O resultado laboratorial obtido a partir da análise de amostras colhidas no campo quando aliado aos dados epidemiológicos e dados da sintomatologia apresentada permite uma aproximação objetiva das causas etiológicas, auxiliando na adoção de medidas sanitárias corretas em um lote.

Diversas análises laboratoriais podem ser efetuadas a partir de amostras coletadas no campo:

- a) **Hematologia** - avaliação do número de células sanguíneas, tamanho, morfologia, presença de hematozoários.
- b) **Parasitologia** – detectar a presença de endo e exoparasitas.
- c) **Isolamento bacteriano** – detectar, tipificar e quantificar agentes bacterianos.
- d) **Isolamento fúngico** - detectar, tipificar e quantificar agentes bacterianos.
- e) **Isolamento viral** – detectar a presença de agentes virais, titular vacinas.
- f) **Anatomopatológico** – análise microscópica da morfologia tecidual, com a avaliação da presença e extensão de lesões.
- g) **Sorologia** – determinação dos níveis de anticorpos específicos contra determinados agentes infecciosos, monitorando-se esquemas vacinais ou determinação a presença de desafios de campo.

Para cada análise laboratorial mencionada acima, procedimentos específicos devem ser adotados quanto à coleta (tipo de material), acondicionamento (refrigeração, modo de fixação), tempo de envio ao laboratório, por exemplo. Tais cuidados, quando observados, colaboram em muito para a obtenção de um resultado confiável do resultado.

## Embalagem e envio do material ao laboratório

Todo material encaminhado ao laboratório deve vir acompanhado de informações mais precisas possíveis, que ajudem na identificação do cliente e na identificação do material recebido pelo laboratorista.

## **a) Embalagem**

Quanto às embalagens, deve-se obedecer as regras especificadas pelas empresas transportadoras (aéreas, rodoviárias ou correio) no que diz respeito à dimensão da embalagem, do material empregado (isopor, caixas de papelão), peso e identificando ser ou não material perecível.

O material também deve ser embalado de modo que não ofereça riscos de quebra com vazamento do seu conteúdo e, como consequência, contaminação de quem o está transportando. A embalagem deve ser resistente e ser bem vedada.

## **b) Identificação do material**

Deve-se descrever qual o tipo de material encaminhado (soros, fragmentos de órgãos, ração), acompanhado de informações do cliente, ou seja, nome da granja, endereço, telefone, profissional técnico responsável pela granja e pela coleta do material. Identificação do lote, idade das aves, número de aves do lote e esquema vacinal empregado na empresa.

Dados mais específicos como sintomatologia apresentada, início dos sintomas, número de aves ou porcentagem do lote acometido, mortalidade ocorrida até aquele momento, se fora efetuado algum tipo de tratamento e especificando-o. Estes se tornam muito importantes, pois são de grande auxílio no diagnóstico.

Todas estas informações devem ser registradas em uma carta, escrita de preferência por computador, para não correr o risco de ser ilegível. Ainda, cuidar para que seja acondicionada separada do material, de preferência envolta em saco plástico, protegida assim de possíveis extravasamentos de líquidos (água, sangue, formol), os quais dificultariam ou impediriam sua leitura.

## **c) Tempo de envio e chegada ao laboratório**

É importante que o material chegue ao laboratório o mais breve possível, principalmente quando se tratar de órgãos frescos, acondicionados sob refrigeração, não submetidos a conservantes químicos. Quanto mais se retardar a sua chegada ao laboratório, maiores serão as chances de o material tornar-se inviável para análise, principalmente quando se tratar de análises microbiológicas.

Portanto, sendo possível, o material deve ser encaminhado ao laboratório no mesmo dia em que for coletado. Não sendo possível, principalmente quando se tratar de granjas distantes, deverá ser encaminhado no dia seguinte, sempre optando-se pelo meio de transporte mais rápido.

## **Amostragem**

A amostragem de material coletado deve ser a suficiente para que permita uma correta interpretação dos resultados obtidos. O tipo de material a ser coletado também irá depender da suspeita clínica observada no campo. Por vezes, será necessário somente o envio de soros, outros fragmentos de órgãos para isolamento do agente ou análise de lesões teciduais. Amostras de ração ou matéria-prima, água também podem ser necessárias.

Havendo a possibilidade, o envio de aves vivas é interessante ao patologista, assim poderá constatar o alegado pelo cliente, além do que terá a certeza da qualidade do material colhido quanto à assepsia e correta conservação.

Não sendo possível enviar aves vivas, poderá o técnico do campo enviar aves mortas, contanto que tenham morrido recentemente ou, preferencialmente, que tenham sido sacrificadas para tal finalidade, e que estivessem manifestando sintomatologia característica.

Aves mortas devem ser embaladas uma a uma em sacos plástico, acondicionadas em caixas de isopor contendo bastante gelo. As caixas devem ser bem fechadas, com fita isolante, para que não se corra o risco de exalar odor durante o seu transporte, nem possa ocorrer o risco de a caixa ser violada.

Animais mortos, que já se encontram em estado de putrefação, não são adequados nem para realização de necrópsia nem para coleta de órgãos para exame laboratorial, visto já apresentarem alterações *post mortem*. Estas alterações são evidentes no tecido animal tanto ao exame macroscópico como no microscópico, devendo ser diferenciadas das lesões *ante-mortem*.

As alterações *post-mortem* variam de acordo com a causa da morte, com a temperatura corporal do animal no momento da sua morte, do tempo decorrido entre a sua morte e a realização da necrópsia e da presença de bactérias nos tecidos que aceleram o processo de putrefação. Estas alterações são caracterizadas por mudanças na coloração dos tecidos bem como na consistência e deslocamento dos órgãos. Todas estas situações, quando presentes, irão mascarar ou confundir o diagnóstico final.

## Colheita de material e seus conservantes

### a) Exame anatomopatológico

Deverão ser coletados todos os tecidos que estiverem relacionados à suspeita clínica, com ou sem lesão macroscópica. Os fragmentos de tecido devem ser coletados tão cedo quanto possível após a morte do animal. Cada fragmento não deve ter mais de um centímetro de espessura. Em fragmentos muito maiores há um retardo na penetração do fixador no parênquima tecidual o que prejudica sua fixação.

Dos órgãos a serem analisados, se possível, deverão ser coletados três fragmentos: um do seio da lesão, um do limite da lesão com tecido normal e de regiões circunvizinhas normais. Isto permite que o patologista analise uma zona de transição do bordo da lesão, situação importante em lesões tumorais.

Outro aspecto a ser considerado é a manipulação dos órgãos e os instrumentos utilizados. Devem ser manipulados o mínimo possível e não podem ser comprimidos ou dobrados. Superfícies mucosas não podem ser manipuladas. Deve-se evitar o uso de pinças ou tesouras que danifiquem a estrutura do tecido.

A fixação deve ser imediata, pois interrompe todos os processos enzimáticos que ocorrem nos

tecidos e que são responsáveis pelas alterações postmortem. Com a fixação há um endurecimento do tecido e morte de agentes bacterianos presentes.

É importante que se obedeça a relação entre o volume do fixador utilizado e o tamanho do órgão a ser fixado, que deverá ser de 10 vezes. O fixador mais conhecido para o exame anatomopatológico é o formaldeído, adquirido na concentração de 37 a 40%. Esta solução deverá ser diluída na proporção de nove partes de água para uma de formaldeído, resultando em uma solução a 10%. Um cuidado a ser tomado pode ser o preparo de uma solução tamponada e isotônica que previne a formação de pigmentos de formol durante a coloração do corte histológico (900ml de água, 100ml de formaldeído, 4g de monofosfato de sódio, 6,5g de difosfato de sódio).

No caso de não ser possível o preparo desta solução fixadora, pode-se optar pelo envio dos fragmentos de órgãos ao laboratório, apenas atentando-se para nunca congelar os órgãos. Mantê-los sob refrigeração, enviando-os o mais rápido possível ao laboratório.

O frasco utilizado para o acondicionamento do material deve ter a boca larga a fim de permitir a fácil colocação e retirada do material, evitando-se a compressão do tecido. É recomendável que o frasco utilizado seja de material que não quebre. Deve ser identificado com os dados do cliente, órgãos coletados e data de coleta, devendo ser vedado para que não haja extravasamento do fixador durante o transporte.

Para tecidos que flutuam no fixador, tais como pulmão normal, medula óssea normal e tecido adiposo, recomenda-se também colocar um chumaço de algodão sobre os órgãos para que estes fiquem submersos no fixador.

O tempo ótimo de fixação do material é de 6 a 24 horas, com a completa fixação em aproximadamente 48 horas após sua imersão na solução fixadora.

## **b) Exame bacteriológico**

O exame bacteriológico é muito importante para a detecção e identificação de agentes bacterianos que estejam causando doenças nas aves, ou simplesmente como teste de monitoria para avaliar a presença ou não de determinada bactéria no lote (por exemplo, *Salmonella* spp).

O material coletado para o isolamento bacteriano deve ser cautelosamente manipulado e conservado, a fim de resguardar as características morfológicas e bioquímicas da bactéria. O exame bacteriológico pode ser realizado em fragmentos de órgãos, secreções, sangue, fezes, medula óssea, amostras de água, matérias primas utilizadas em rações e ração acabada.

Quando a coleta for feita em necrópsia é imprescindível que a manipulação dos órgãos seja realizada em condições assépticas, observando-se cuidados técnicos, que o instrumental cirúrgico esteja esterilizado evitando a contaminação do órgão com agentes bacterianos secundários presentes no meio ambiente.

O material assim que colhido durante a necrópsia deverá ser depositado em recipientes também esterilizados, de preferência separando-se os órgãos, identificando-os (nome a granja, lote, órgão, data de coleta). O material deverá ser imediatamente submetido a condições de refrigeração e

encaminhado ao laboratório o mais breve possível. À semelhança do exame anatomopatológico as amostras não devem ser congeladas. Alguns meios de transporte podem ser utilizados, devendo ser previamente solicitados ao laboratório.

Juntamente com o material deverá ser encaminhado um histórico clínico do lote o qual auxiliará na avaliação da importância do resultado obtido, para saber se trata-se de um agente bacteriano primário ou complicante na doença em curso. Informações quanto ao tratamento empregado também são muito importantes no exame bacteriológico. Neste caso ainda, o isolamento bacteriano é importante, pois permite a realização de testes de sensibilidade a antibióticos, informação que poderá ser empregada para o tratamento das aves.

### c) Exame sorológico

A sorologia é importante ferramenta a ser utilizada em programas de medicina preventiva, monitorando a eficácia dos programas de vacinação, avaliando a presença de anticorpos maternos, e detectando enfermidades em uma determinada população de aves.

Os resultados obtidos nas provas sorológicas, bem como sua interpretação, dependem de diversos fatores, tais como momento da coleta do sangue em um plantel, técnicas adequadas de coleta, manipulação e conservação do soro até a chegada ao laboratório.

Em relação à amostragem recomenda-se no mínimo a coleta de 10 a 15 sangues, colhidos individualmente, com seringas e agulhas novas e esterilizadas e acondicionados em frascos limpos e esterilizados. Após a coleta os frascos deverão permanecer em repouso, na posição inclinada a 45°, permitindo a completa coagulação do sangue, que se dá por um período de quatro horas. Importante que durante este período o sangue fique à temperatura ambiente e sob o abrigo do sol.

Após a obtenção do soro este deverá ser transferido para outro frasco, igualmente limpo e esterilizado, e estocado a temperatura de 4°C. As amostras deverão ser identificadas (nome da granja, lote, idade das aves, prova sorológica solicitada) e colocadas em uma caixa de isopor e enviadas ao laboratório sob refrigeração. Amostras hemolisadas ou contaminadas não deverão ser encaminhadas ao laboratório, pois podem interferir nos resultados obtidos.

Como vias de coleta de sangue tem-se:

**Punção da veia ulnar** – uso de uma agulha de calibre pequeno, 0,7x25 mm. Para sua coleta o profissional deverá ser auxiliado por outra pessoa que conterà a ave. Deve-se retirar as penas que cobrem o local, permitindo a visualização da veia, situada entre os músculos bíceps e tríceps. Após a coleta o ponto de coleta deverá ser pressionado para conter o extravasamento de sangue. Realizada em aves de grande porte ou adultas.

**Punção cardíaca** – técnica recomendada quando a ave pode ser sacrificada. Requer que o profissional seja bem treinado, pois há o risco de perfuração de órgãos como traquéia, pulmão ou fígado. Permite a coleta de um volume maior de sangue.

**Punção da veia jugular** – técnica empregada para a coleta de sangue em aves silvestres, Permite a coleta de grande quantidade de sangue, seja para sorologia e hematologia.



Dentre as provas sorológicas solicitadas tem-se:

- **Teste de inibição de hemaglutinação (HI)** – técnica sorológica quantitativa e qualitativa, sensível e específica, que mede principalmente imuno- globulina do tipo IgG. Consiste na inibição da hemaglutinação por anticorpos específicos. Prova específica e sensível que permite avaliar os níveis de anticorpos de animais vacinados na presença de infecção. Serve para o vírus da Doença de Newcastle (NDV), Influenza, Bronquite Infecciosa e Adenovirus. Ainda, Mycoplasma e o agente da Coriza.

- **Prova de soroaglutinação rápida (SAR)** – prova qualitativa que detecta a presença de aglutininas específicas que estão presentes no sangue bruto ou no soro. Caracteriza-se pela formação de “grumos” que representam a formação do complexo antígeno-anticorpo. Detecta principalmente imunoglobulina do tipo IgM. Técnica empregada para o diagnóstico da Pulorose e Micoplasmose.

- **ELISA** – procedimento laboratorial empregado para monitoria de anticorpos e antígenos em populações avícolas. Teste sensível, específico e rápido. Detecta imunoglobulina do tipo IgG e IgM, permitindo detectar níveis muito baixos de anticorpos. Empregada para Doença de Gumboro, Bronquite Infecciosa, Reovirus Aviário, Anemia Aviária, Peneumovirus Aviário, Leucose Aviária, Micoplasmas, dentre outras.

## Guia rápido de coleta e envio de material para laboratório

### 1. Necrópsia

Enviar aves vivas ou conservadas em gelo envoltas em saco plástico, hermeticamente fechado.

### 2. Bacteriológico

Aves ou órgãos conservados em gelo coletados assepticamente, acondicionados em sacos plásticos ou recipiente estéril, *Swabs* de órgãos colhidos assepticamente.

### 3. Viroológico

Órgãos ou tecidos conservados em gelo ou glicerina a 50% (50% glicerina + 50% de água destilada).

### 4. Histopatológico

Fragmentos de órgãos ou tecidos conservados em formol a 10% (ideal fragmentos de pouca espessura). Para se obter 100ml de formol a 10%; mistura-se 25ml de formol a 40% (comercial) com 75ml de água.

### 5. Sorológico

Soro conservado em gelo. Coletar sangue por punção cardíaca ou da veia braquial com auxílio de agulha, em frasco, de preferência estéril, individualmente. Deixar o frasco deitado até coagular

para depois colocá-lo de pé a fim de dessorar. Ideal enviar o soro já separado do coágulo.

## 6. Penugem

*Fluff-test* – contagem e identificação de bactérias e fungos. Enviar em saco plástico ou de papel com identificação de cada máquina.

## 7. Água

Análise microbiológica e físico-química

Enviar conservada em gelo, com identificação de cada amostra, dentro do prazo máximo de 24 horas entre a coleta e entrega do material ao Laboratório.

Solicitar o envio de recipiente específico para a coleta da amostra.

## 8. Ovos

Bacteriológico, acondicionados em saco plástico e conservados em gelo (5 a 10 ovos de cada lote).

## 9. Ovos bicados não eclodidos

Bacteriológico e *Pipped embryos*. Enviar acondicionados em saco plástico e conservados em gelo (uma bandeja de cada lote).

## 10. Palha de ninho ou cama

Bacteriológico, micológico, oocistograma. Enviar material em sacos plásticos com identificação do lote e galpão.

## 11. Placas para controle microbiológico de incubação

Pesquisa para bactérias e fungos. Solicitar com antecedência de 3 dias úteis, e remeter após exposição (15 min.) ao laboratório num prazo máximo de 2 dias, sob refrigeração, com a identificação do local exposto.

## 12. Matérias-primas e rações

Micológico (contagem e presença), bacterio-lógico (coliformes totais coliformes fecais, pesquisa de *Salmonella*, *Clostridium*), micoto-xinas (aflatoxina, ochratoxina, fumonisina, zearalenona), análise bromatológica. Enviar em sacos plásticos (mínimo 300 g) com identificação.

## 13. Desinfetantes

Teste de eficiência. Enviar em frasco estéril de 200ml, mencionando diluição recomendada pelo fabricante e microorganismos a serem testados. Por exemplo: diluição solicitada de 1:2000  
Bactérias Gram positivas = *Staphylococcus* sp, etc. Bactérias Gram negativas = *E.coli*, *Pseudomonas* sp, etc.

Fungos = *Aspergillus* sp, etc.

## 14. Vacinas

Titulação em ovos embrionados para as doenças de Gumboro, Newcastle, Bronquite Infecciosa, Bouba aviária. Enviar em gelo e no mínimo dois frascos por partida.

## 15. Vacinas e Diluentes

Teste de esterilidade. Vacinas vivas e mortas. Enviar em temperatura ambiente ou, de preferência, em gelo. Para as doenças de Gumboro, Bronquite Infecciosa e Newcastle. Enviar órgãos conservados em gelo, colhidos assepticamente em recipientes estéreis ou enviar aves vivas.

## 16. Cultivo celular

Titulação de vacina de Marek (congelada e liofilizada), Gumboro e outras produzidas em cultivo celular.

Diagnóstico virulógico para Bronquite Infecciosa, Gumboro e Reovirus.

## 17. Elisa Teste

Teste em soros para as doenças de Gumboro, Bronquite Infecciosa, Newcastle, MG, MS, Reovirus, Reticuloendoteliose, Encefalomielite, Laringotraqueíte, *Pasteurella multocida*, SHS, Leucose, *Salmonella enteritidis*. Enviar no mínimo 12 soros por lote.

## 18. PCR

Reação em cadeia da Polimerase – diagnóstico molecular microbiológico. Detecção e tipagem de *M.gallisepticum*, *M.synoviae*, vírus de Gumboro, Bronquite Infecciosa, Leucose aviária: envio de fragmentos de órgãos em gelo, sangue e *Swab* cloacal.

## Escolha do material para envio ao laboratório, conforme a suspeita do agente etiológico

### 1. Adenovirus (EDS):

- Soros individuais.

### 2. Bronquite infecciosa:

- Soros individuais.

- Traquéia, tonsilas cecais, rim, oviduto, pulmão em gelo ou glicerina a 50% ou aves vivas.

- Traquéia, rim e oviduto em formol a 10%.

### 3. Coriza infecciosa:

- Aves vivas ou cabeça congelada.

#### 4. Coccidiose:

- Aves vivas ou intestinos em gelo.

#### 5. Doença crônica respiratória:

- Soros individuais (Refrigerados para SAR MG).
- Aves vivas ou em gelo.
- Ovos bicados (matrizeiro).

#### 6. Doença de Newcastle:

- Soros individuais.

#### 7. Doença de Gumboro:

- Soros individuais.
- Bolsa de Fabricius em gelo e em formol a 10%.

#### 8. Doença de Marek e Leucose:

- Órgãos (fígado, proventriculo, baço, sistema nervoso central (cérebro e cerebelo) e nervo ciático em formol a 10%).
- Aves vivas ou em gelo (ultimo caso).

#### 9. Salmonella:

- Soros individuais.
- Aves vivas ou vísceras (fígado, vesícula biliar, intestino, ovário, articulação afetada, coração).
- Ovos bicados não eclodidos.
- Pintos de um dia
- *Swab* de cloaca (solicitar o envio de *Swabs* estéreis com água peptonada para acondicionamento).
- *Swab* de arrasto de galpão (solicitar o envio de *Swab* estéril).
- Forro de caixa de incubatório.

OBS: todo material deve ser enviado ao laboratório sob refrigeração.

#### 10. Verminose:

- Aves vivas ou intestinos em gelo.

#### 11. Cryptosporidiose:

- Traquéia e Bolsa de Fabricius em gelo.

#### 12. Artrite viral:

- Soros individuais.
- Órgãos em formol a 10% (principalmente tendão).

- Tendão em gelo ou glicerina 50%.

### **13. Bouba aviária:**

- Aves vivas ou em gelo.
- Órgãos em formol a 10% ou em glicerina 50%.

### **14. Colibacilose:**

- *Swabs* de corrimento nasal, sacos aéreos, fígado e coração.
- Aves vivas em gelo.

### **15. Cólera:**

- *Swabs* de fígado, baço, pulmões e medula óssea.
- Soros individuais.
- Aves vivas ou em gelo.

### **16. Pneumovírus aviário:**

- Soros individuais.
- Aves vivas ou em gelo.
- Fragmentos de traquéia em gelo.

### **17. Micotoxicose:**

- Amostras de ração ou matéria-prima.
- Aves vivas ou em gelo.
- Fragmentos de órgãos em formol (fígado, rim, coração, intestino, baço, proventriculo).

### **18. Aspergilose:**

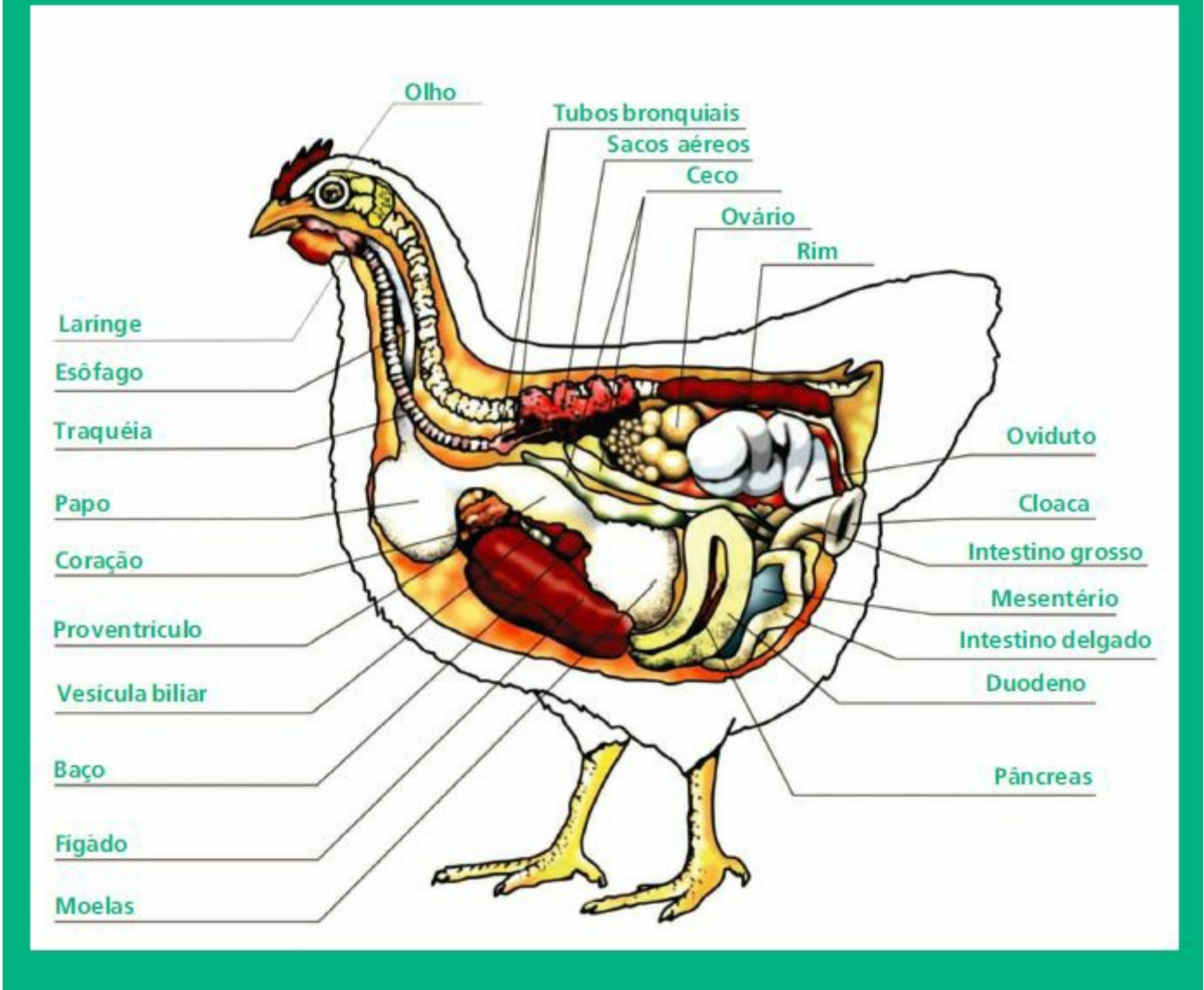
- Pintos apresentando sintomas respiratórios.
- Exposição de placas em incubatório.
- Micológico de palha de ninho ou cama.

### **19. clostridiose:**

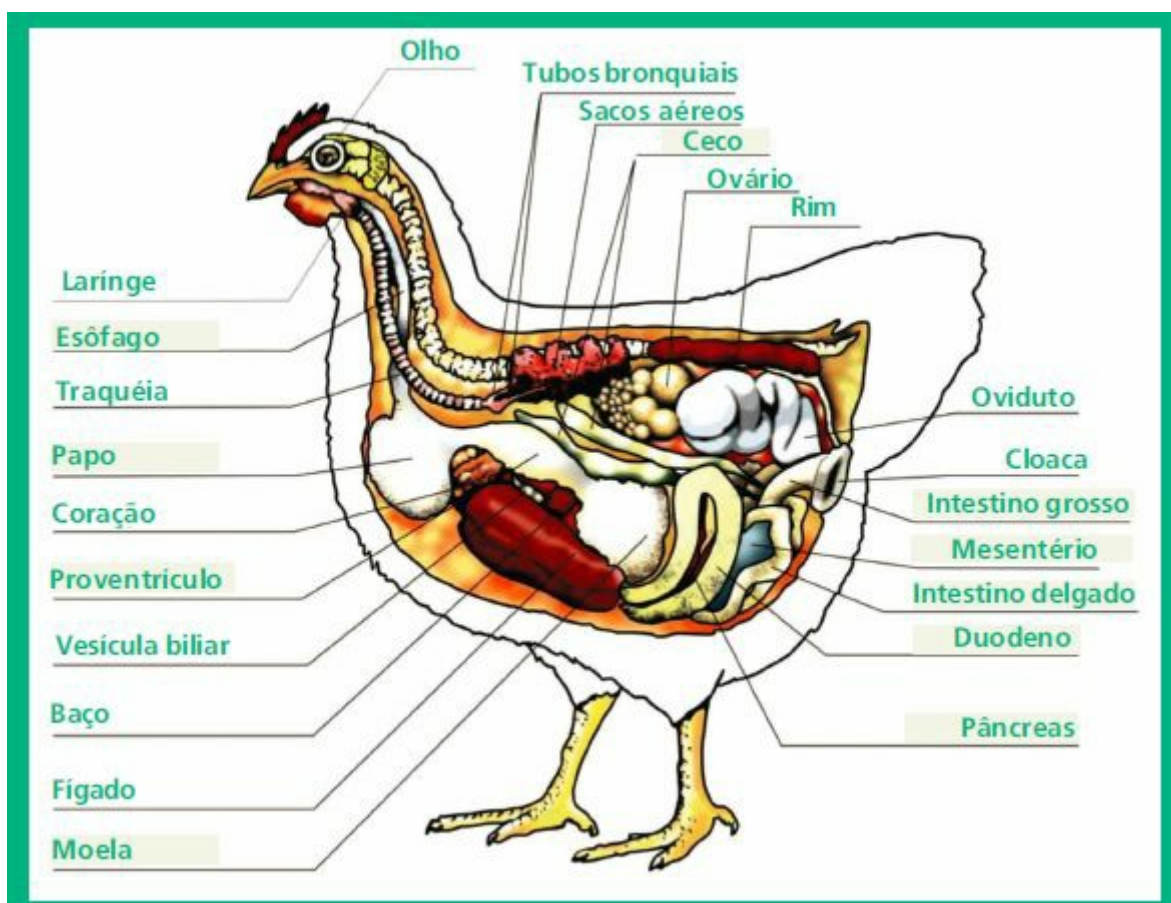
- Ração ou matéria-prima.
- Aves vivas ou em gelo.
- Alça intestinal, amarrada nas extremidades, em gelo.

OBS: enviar sempre o histórico das aves com o tipo (corte, postura), idade, linhagem, mortalidade, sintomas, vacinações e métodos, quedas de postura, alterações nos ovos, tratamento efetuado com as dosagens e resultados, para que o laboratório possa ter subsídios suficientes para a escolha dos testes mais indicados para a rápida e precisa elucidação do caso.

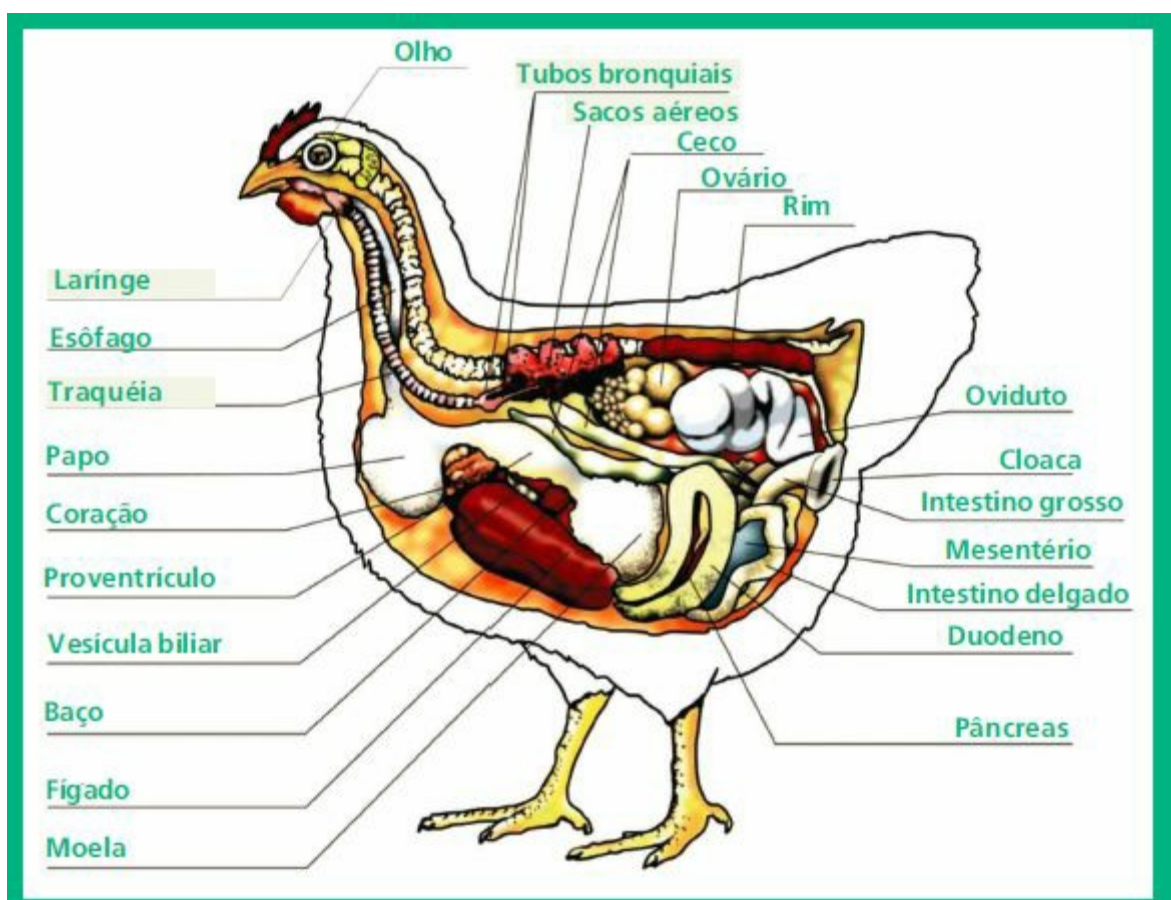
**Figuras: Anatomia dos diferentes sistemas**



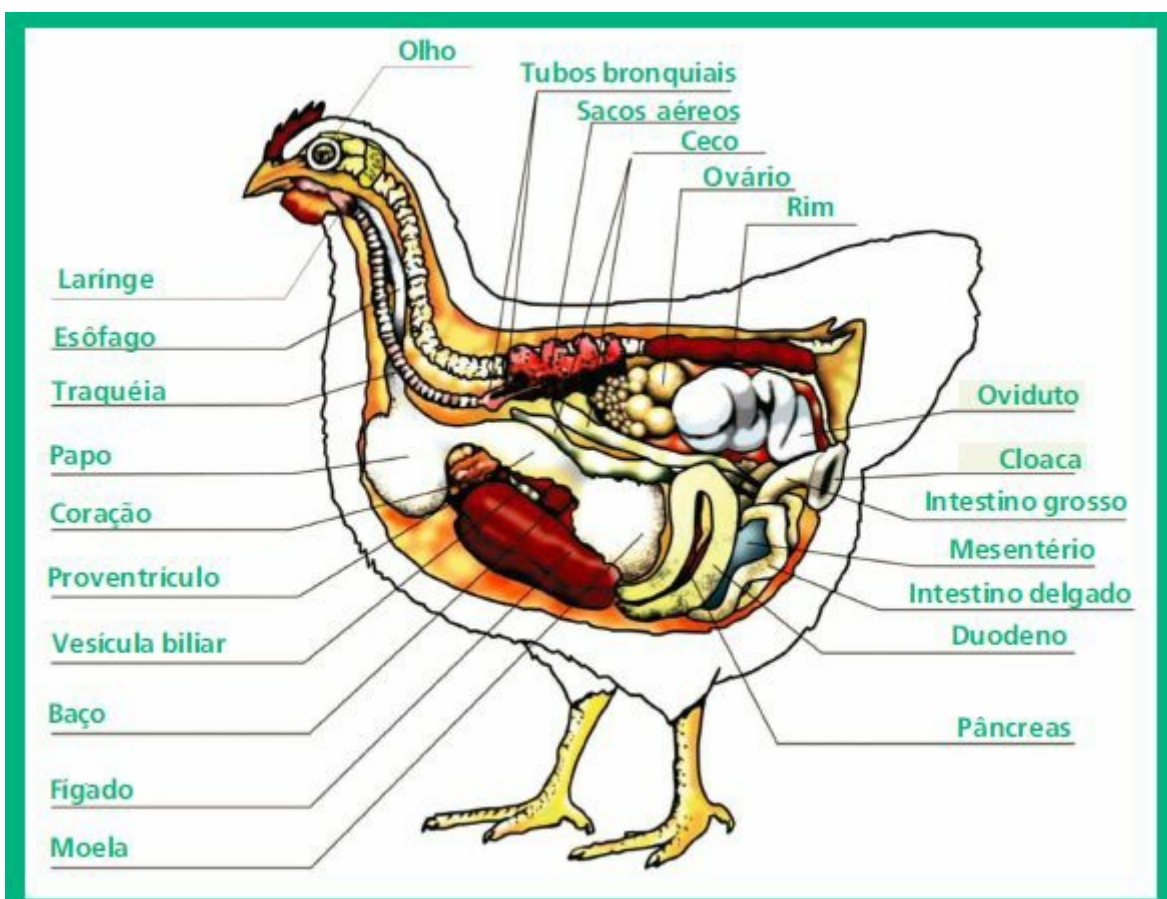
**Figura 1** - Anatomia geral das aves.



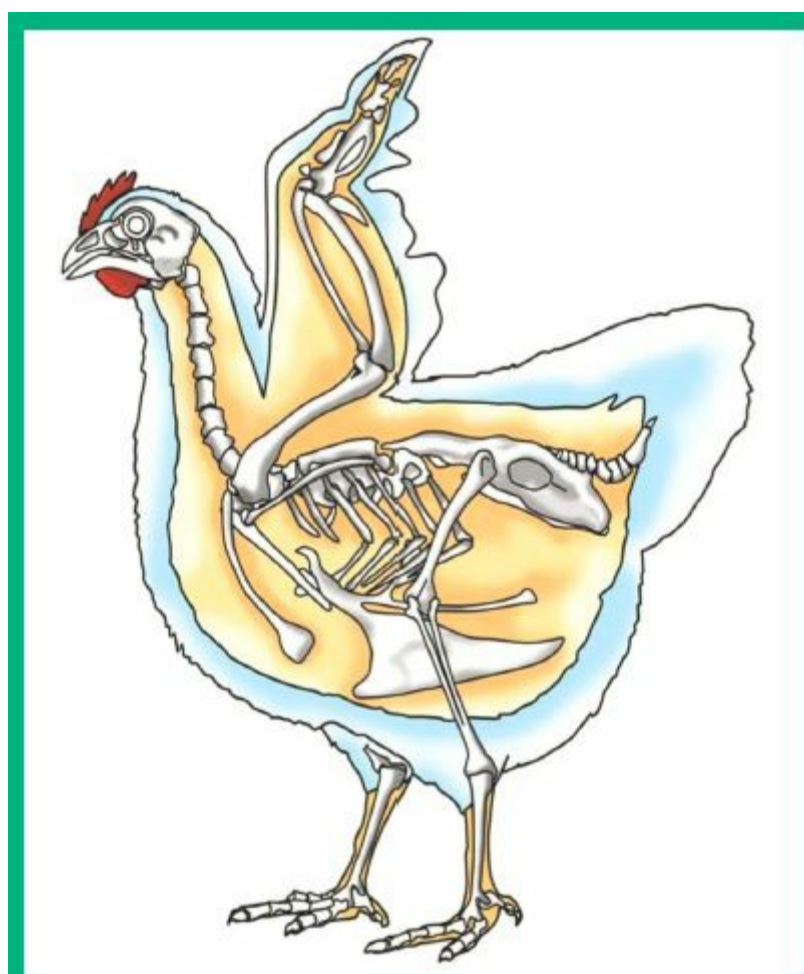
**Figura 2** - Sistema digestório. Fonte: Farmabase/Di Fabio 2006.



**Figura 3** - Sistema respiratório. Fonte: Farmabase/Di Fabio 2006.



**Figura 4** - Sistema reprodutivo. Fonte: Farmabase/Di Fabio 2006.



**Figura 5** - Esquelético.





**Figura 6** - Corte histológico de Bursa.

## Bibliografia

Fischer G. *et al.* **Necropsia de aves: técnica e procedimentos de coleta e remessa de material para diagnóstico.** Pelotas: Editora e Gráfica Universitária; 2006.

Manual para utilização dos serviços do laboratório de anatomia patológica do HC/UNICAMP. Campinas: UNICAMP.

Pontes M. *et al.* **Higiene y patologia aviares.** Barcelona: Real Escuela de Avicultura; 1991.

Santos JA dos. *et al.* **Diagnóstico médico-veterinário: colheita de material.** 7th ed. Rio de Janeiro: Livraria Nobel; 1983.

Thomson RG. **Patologia geral veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1983.

## Programa de qualidade higiênica na produção avícola

<b>Introdução</b>	<b>53</b>
<b>A evolução da qualidade higiênica na cadeia avícola</b>	<b>53</b>
<b>Requerimentos higiênico-sanitários do mercado</b>	<b>55</b>
<b>Requerimentos higiênico-sanitários para fornecedores</b>	<b>56</b>
<b>Requerimentos higiênico-sanitários na agropecuária</b>	<b>56</b>
<i>Pontos chaves que promovem a resistência orgânica</i>	56
<i>Pontos chaves que minimizam os desafios às aves</i>	56
<b>Pontos chaves que promovem a resistência orgânica</b>	<b>57</b>
<b>Pontos chave que minimizam os desafios às aves</b>	<b>60</b>
<b>Integrando a granja à mesa pela rastreabilidade</b>	<b>62</b>
<b>Integrando a granja à mesa pelo controle de inocuidade</b>	<b>62</b>
<b>Requerimento higiênico-sanitário no abate e processamento</b>	<b>65</b>
<b>Principais programas de qualidade no abate e processamento</b>	<b>67</b>
<b>Procedimento higiênico-sanitário na comercialização</b>	<b>69</b>
<b>Procedimento higiênico-sanitário no consumo</b>	<b>69</b>
<b>Validação dos programas de qualidade</b>	<b>71</b>
<b>Certificações</b>	<b>71</b>
<b>Conclusão</b>	<b>73</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>73</b>

# Capítulo 1.4 - Programa de qualidade higiênica na produção avícola

**Marisete Cerutti**

## Introdução

A gestão avícola permeia estrategicamente pela sanidade e qualidade, porque o padrão higiênica sanitário de produtos derivados de frango é uma tarefa complexa pelos desafios a que essas aves estão submetidos desde sua criação ao processamento. O status sanitário e a inocuidade são também importantes barreiras às políticas sanitárias e públicas respectivamente, razões também pelas quais os governos mantêm contínua vigilância. Ainda, é inequívoca a necessidade do produtor rastrear e demonstrar ao consumidor de onde provém a carne, como foi criado o frango, o que consumiu e o que nele contém. A partir de animais saudáveis pode-se obter carnes seguras. Em sendo a saúde das aves, o resultado positivo entre a resistência orgânica e o nível de desafio a qual está submetida, pode-se promover a saúde pela melhoria das suas capacidades orgânicas através do bem-estar animal, da alimentação, da redução do stress, do manejo e ou pela minimização e ou impedimento aos agentes toxi- infecciosos pela adoção de práticas de higiene e biossegurança. A inocuidade é assegurada pelas boas práticas de fabricação, análise de riscos, controle dos perigos e dos auto-controles no processamento. Na comercialização e consumo, a apropriada preservação e cozimento se faz necessário. Este capítulo prioriza procedimento e sistemas de qualidade higiênico-sanitário da granja à mesa, com alternativas de certificações independentes, as quais provém um alto nível de confiança aos produtores, clientes e governos. Gerenciar a saúde das aves e a inocuidade dos derivados de carne de frango é uma arte que exige sensibilidade, conhecimento e investimentos, integrando os processos da cadeia produtiva agroindustrial.

## A evolução da qualidade higiênica na cadeia avícola

O potencial do frango e as demandas do mercado consumidor exigiram dos fornecedores, produtores e processadores, a necessidade do senso comum ao atendimento em tempo real dos requisitos higiênico sanitários. Um exemplo dessa evolução são os controles de resíduos medicamentosos e químicos feitos por amostragem de carcaças nos anos 60-70, que foram gradativamente suplantados por procedimentos e controles mais assertivos na agropecuária, como o uso responsável de medicamentos e químicos, na qual o antigo controle passou de simples diagnóstico para ser validação aos procedimentos planejados e executados à nível de campo. O procedimento de uso responsável de medicamento (RUMA - Responsible Use Medicine Animal), inicialmente proposto pela comunidade europeia, seguido do Japão e hoje aplicado a outros países, integra-se aos fornecedores de medicamentos e químicos na provisão das garantias de que o uso correto não acarreta resíduos. Ao produtor e organizações compete a responsabilidade de definir a lista dos medicamentos de uso permitido em lei, cujo receita é feita por responsável técnico pelo diagnóstico, bem como sua aplicação, dosagem e carência e registros pré

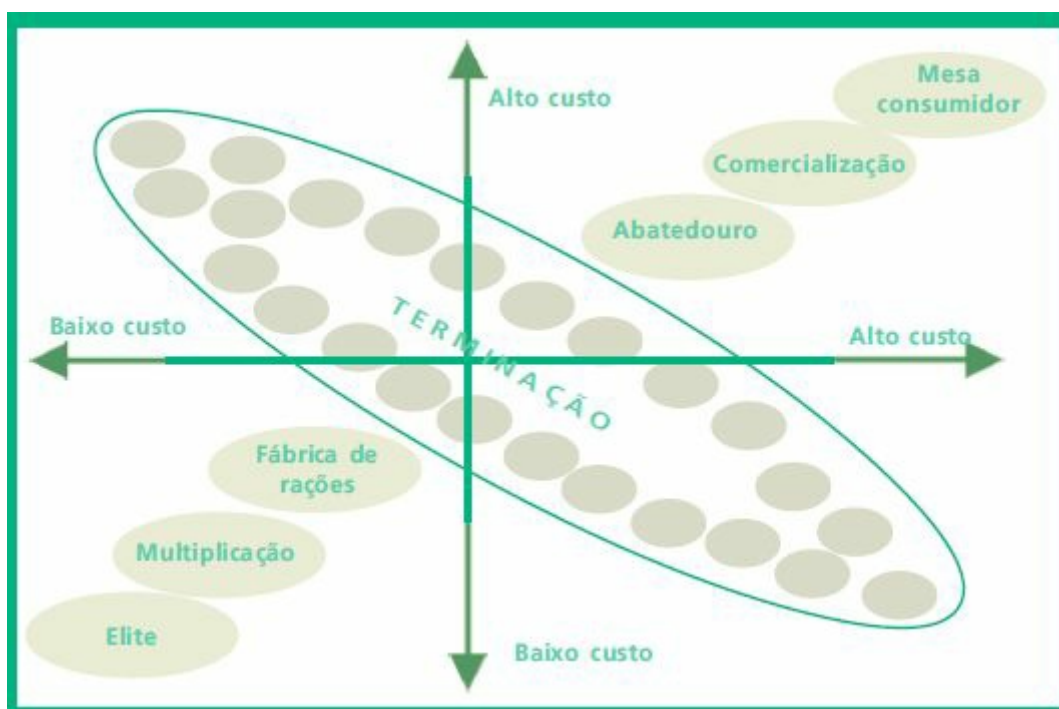
estabelecidos.

Outra importante evolução ocorreu com programa de Salmonela, onde as ações de controles do agente nas carcaças passou a ser priorizado por controles preventivos na agropecuária. Os procedimentos do programa de biosseguridade (Sesti, 2001; 2005) tais como, limpeza, desinfecção e vazios das instalações, tratamento térmico e ou de anti salmonela nos insumos e rações, a eliminação de matrizes contaminadas, o uso de antibiótico seguido de reposição de flora saprófita para minimizar a re- infecção e o compromisso dos fornecedores de matrizes e pintos de um dia com este objetivo, foram todos decisórios para reduzir a contaminação de salmonela de 40% para menos de 8% de incidência em carcaças.

Nos anos 90, os progressos em biosseguridade, bem estar animal, alimentação vegetal, suspensão de uso de promotores e a rastreabilidade de insumos, rações e dos lotes se fortaleceram e sustentaram as demandas do mercado europeu por um produto mais seguro, marcando a era da qualidade integrada da granja à mesa. Esse novo tempo foi consolidado quando da publicação do Livro Branco (2000) pela União Européia, que passou a exigir dos produtores de alimentos animais e humanos, controles rastreáveis na cadeia de produção, delegando ao segmento, completa responsabilidade pelo mais alto nível de proteção ao consumidor. A consciência da qualidade do campo à mesa, impulsionou a qualidade assegurada na avicultura, que passou de reativa para preventiva.

A rastreabilidade avícola, especialmente demandada pelo comércio internacional, é hoje a mais bem montada e rica cadeia de informações entre todas as espécies animais criadas em lotes. Integrando fornecedores, produção de ovos férteis, pintos de 1 dia, rações, produtores de frango, abatedouro, processamento, transporte, comercialização e consumidores, a rastreabilidade permite a pronta recuperação das informações na cadeia produtiva, provendo a confiança em qualquer tempo e local a todos que nela quiserem verificar o processo planejado e realizado. As Verificações e auditorias independentes passaram a validar os processos.

A padronização internacional ISO 9001:1994 a qual norteava os sistemas produtivos para atividades na provisão da confiança à organização, governo e clientes, foi revisada e substituída pela nova norma ISO 9001:2000, que passou a nortear a qualidade pela gestão dos processos para resultados, agregando objetivos de **comunicação, a satisfação dos clientes e o lucro**, que são vitais à saúde das organizações. Esse modelo representa a qualidade total, porque ela deixa de ser centralizada e passa a ser responsabilidade de todos os que participam direta e indiretamente dos processos da organização, em tudo o que fazem e como fazem.



**Figura 1** - Custo da prevenção higiênico sanitária na cadeia avícola.

As organizações passam a incluir nos seus objetivos, a qualidade como estratégica, uma vez que os indicadores de gestão passam a permear desdobrados em todos os níveis organizacionais. Este sistema, na sua evolução, permite maior visibilidade dos fatos e riscos, de forma que ações preventivas e corretivas sejam implementadas em tempo real, minimizando as perdas na cadeia produtiva, antes mesmo que o produto chegue ao abatedouro ou ao mercado.

As ações de caráter preventivo passam atualmente por novas transformações, cedendo espaço para a gestão preditiva que, aplicando a inteligência obtida da gestão preventiva validada, aplica procedimentos certos para os objetivos específicos, fazendo os processos mais assertivos e econômicos, criando valor às organizações pela redução dos riscos higiênico-sanitários.

## Requerimentos higiênico- sanitários do mercado

Os objetivos higiênico sanitários requeridos legalmente e por necessidade bem como os advindos de expectativa dos clientes devem ser entendidos para nortear as decisões das organizações nas estratégias e na provisão de recursos. Os requerimentos do mercado são historicamente crescentes como mostra o desenho abaixo, e a vantagem competitiva está na flexibilidade em se adaptar às demandas identificando os diferentes nichos de mercado, com diferenciação e objetivo de valor. É importante o estabelecimento de políticas de diferenciação e de longevidade para os produtos diferenciados, evitando que caiam na linha de commodities, que se restringem a mercados altamente sensíveis a preços.

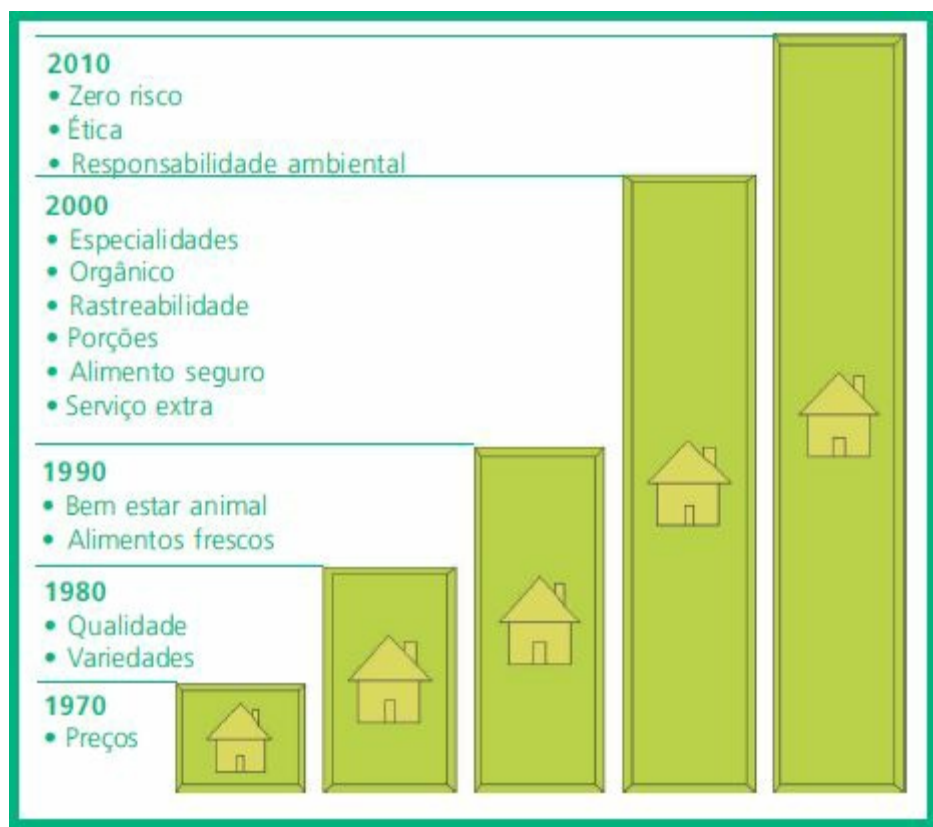
A cultura do zero risco, prevista para 2010, já dá sinais de sua importância, quando alguns países como Singapura, Itália, Alemanha Espanha, Ilhas Canárias, Argentina rejeitam produtos crus, que não passaram por nenhum processo tecnológico de eliminação quando da produção cuja inspeção para entrada no país importador resulte em positivo para *Salmonella* spp em amostra única. As performances sanitárias têm evoluído ao mesmo tempo que as restrições legais têm aumentado, o que torna o presente ainda de muitos desafios.

As evoluções nas metodologias laboratoriais com maior sensibilidade e especificidade contribuem para o alcance do objetivo zero risco e para o aumento das restrições. Faz-se necessário a constante atualização tecnológica para se manter no mercado global. Os testes convencionais de isolamento de *Salmonella* spp cederam lugar para testes rápidos de DNA bacteriano, através da PCR. Resíduos químicos, a exemplo de nitrofuranos passaram a dar lugar a testes de seus meta-bólitos. Os Limite Máximo de Resíduo (LMR) passa, a cada ano, a limites menores de tolerância.

Países na eminência de riscos de impacto ambiental como o Japão e a Europa têm requerimentos de embalagens para que sejam de material menos poluente e em menor quantidade. Os fornecedores se adaptam a este novo conceito, porque é uma questão de sustentabilidade sócio-ambiental.

A ética cresce de importância no mercado competitivo porque os valores morais de conduta de uma organização, feitas pelas atitudes de seus próprios membros, representa confiança e sustentabilidade para o futuro.

O governo através dos Serviços de Inspeções Federais (SIF's), localizadas nas plantas produtoras e dos serviços da Defesa Agropecuária e da Defesa Sanitária Animal (DDA e SDSA) desempenham papel vital e preponderante na vigilância higiênico-sanitária e nas certificações de origem, provendo a confiança requerida no país e entre países.



**Figura 2** - Evolução das demandas do mercado consumidor. Cerutti M. (2007).

## Requerimentos higiênico-sanitários para fornecedores

Os fornecedores são selecionados e avaliados por suas capacidades de atendimento higiênico-sanitária dos seus processos, produtos e serviços entregues. Programas de auditoria periódicas

são realizados nas instalações do fornecedor que tem sua performance avaliada quanto à sua capacidade em fazer a melhoria contínua. Critérios de aquisição, planos e padrões de produção, planos de controles para liberação e de disposição acordados entre o fornecedor e o cliente norteiam o fornecedor aos objetivos requeridos pela cadeia e asseguram a entrada na gestão da cadeia agroindustrial. Os insumos e ingredientes para rações, os serviços de criação de frangos, embalagens, ingredientes, insumos, serviços de transporte de animais vivos, matéria-prima, têm sido os elegíveis na gestão de fornecedores, porque sua qualidade tem um impacto significativo no produto final. É de responsabilidade dos fornecedores, adotarem regras de higiene e de boas práticas de produção para a proteção e promoção da saúde animal e humana, bem como aplicar estas políticas sanitárias na aquisição de seus insumos, importação, produção e comercialização, responsabilizando-se pela qualidade e inocuidade dos alimentos fornecidos, quer sejam monitorados por princípios de detectabilidade ou rastreabilidade.

## Requerimentos higiênico- sanitários na agropecuária

As doenças quer de origem metabólicas, tóxicas, parasitárias ou infecciosa decorrem do desequilíbrio entre resistência orgânica e desafios aos animais. Os fatores que promovem a resistência orgânica dos plantéis e os fatores que minimizam os riscos de desafios nas criações podem ser resumidos em:

### Pontos-chaves que promovem a resistência orgânica:

- Níveis nutricionais adequados a cada fase em qualidade e quantidade;
- Bem-estar animal, maximizando o conforto e a redução do stress das aves;
- Água fresca, de qualidade e em quantidade suficiente ao ad libitum;
- Fomentar a imunidade das aves através de imunógenos naturais e vacinas;
- Uso responsável de medicamentos mantendo equilíbrio na flora natural das aves.

### Pontos-chaves que minimizam os desafios às aves:

- Biossegurança;
- Limpeza, desinfecção e vazios sanitários;
- Seleção de aves, com eliminação das aves fracas e doentes;
- Gestão ambiental;
- Ação pró-ativa de comunicação em caso de ocorrências sanitárias.

O planejamento dos procedimentos padrão (PP), dos autocontroles e de garantia assegurada, disciplinam e ajudam a identificar as necessidades de recursos tecnológicos, operacionais e de infra estrutura requerido à produção de aves.



**Figura 3** - Biossegurança para acesso em granjas e incubatórios.



**Figura 4** - Organização e higiene na sala de ovos férteis no incubatório.





**Figura 5** - Organização, saúde e bem estar na produção de frangos de corte.

## Pontos-chaves que promovem a resistência orgânica

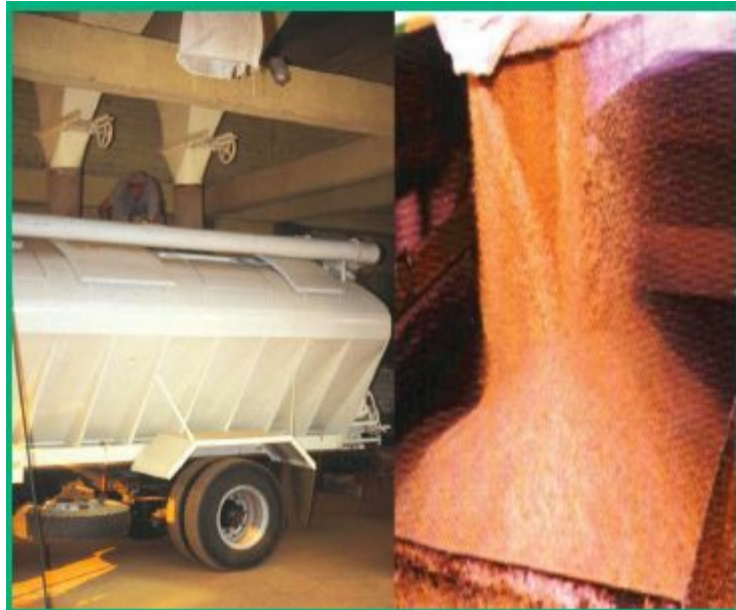
### BPA – Boas práticas agropecuárias

É o conjunto de medidas que visam proteger a resistência orgânica animal, controlar a introdução e disseminação de microorganismos de transmissão horizontal e vertical, assegurando o bem estar animal, a produtividade e a segurança alimentar do consumidor.

**Nutrição:** os avanços genéticos e nutricionais contribuíram de forma decisória ao alcance da mais alta performance das aves, porém se tornam críticos e podem desenvolver carências, quando os níveis nutricionais de micro-elementos como vitaminas e minerais margeiam. o limite mínimo requerido por otimizações de custos. Embora exista uma base teórica e de referência para nortear os nutricionistas nas formulações, a especialização, a variabilidade e os limiares de otimizações de custos chegaram ao nível de mapear os perfis das matérias-primas e insumos por tipo e por fornecedor, com acompanhamento dos perfis físico-químicos das fontes de nutrientes e das rações. A formulação justa tem custos otimizados, porém podem falhar quando ocorrem problemas operacionais no fabrico destas. Essa é uma das razões de se manter um plano de verificação de rações comparando se o planejado nas formulações foi obtido. O gerenciamento das causas de desvios devem ser identificadas e corrigidas e incluem a abertura correta dos silos de matérias-primas e insumos, pesagens corretas e aferidas, controle dos ingredientes por bateladas e a capacidade de mistura entre outros. A análise dos inventários (em estoque e processo) aliada aos monitoramentos dos perfis físico-químicos das rações permitem identificar oportunidades de melhoria e determinar a confiabilidade do processo produtivo das rações. O planejamento de rações com segregação de linhas de produção são importantes fatores. Linhas específicas de rações de frango são desejadas importantes e em caso de uso de promotores de crescimento e ou farinhas animais, limpezas são requeridas entre as trocas de fabrico das rações. Avaliação visual e microbiológica da linha de produção, armazenagem e transporte e a microbiologia das principais fontes de matérias primas, como as farinhas animais, farelo de soja e das rações são sugeridas. Ainda, na fábrica de rações, as boas práticas de produção, o seu fluxo de produção, a peletização, o tratamento térmico, o uso de anti-salmonela, o controle de umidade das rações, são

condições mínimas para assegurar uma ração de qualidade que não veicule contaminações às aves, a exemplo de salmonela. A biosseguridade incluindo controle de entrada com desinfecção dos veículos que acessam a fábrica de rações, o isolamento e a proteção contra a entrada de insetos, pássaros, roedores e animais é requerido. Fornecedores de farelo de soja e farinhas animais devem demonstrar capacidades de fluxo que evitem a contaminação cruzada, após o tratamento térmico do farelo de soja e das farinhas.

Para estas matérias-primas a qualidade microbiológica deve ser priorizada, em especial *Salmonella* spp. O manejo de armazenagem de rações, na granja, deve assegurar separação entre as rações de crescimento e final para evitar o risco de resíduos de anticocidiano e ou promotores em caso de uso deste último.



**Figura 6** - Cuidados higiênico-sanitários na fabricação de rações.

**Bem-estar animal:** mais do que um requisito legal e de demanda da sociedade civil e ativista de proteção aos animais, esta ciência vem crescendo de importância pela sua real capacidade de obtenção de animais, naturalmente mais saudáveis e produtivos dentro da criação intensiva (**Tabela 1**). O stress, fator de queda de resistência das aves, contribui para o aumento dos riscos de doença e de necessidade de uso de antibióticos.

<b>Tabela 1</b> - Aspectos principais no controle do bem estar animal na produção avícola.		
<b>Parâmetro de Controle</b>	<b>Descrição</b>	<b>Referência</b>
Densidade	De 1,8 a 3kg peso vivo	Maximo 30 kg/m <sup>2</sup> , podendo atingir até 38 kg/m <sup>2</sup> dependendo

		das condições do galpão
	Menor 1,8kg	Densidades menores
Cama	Seca e fofa	Mínimo 12 cm de altura
Iluminação		Mínimo 20 lux
Espaço de comedouro e bebedouros/ave	Circulares Lineares Bebedouro Nípel	0,66cm/kg peso vivo 1,5cm/kg peso vivo 15 aves/bico
Localização Comedouro	Distancia com as aves	Máximo 3m
Localização bebedouros	Distancia do comedouro	Máximo 2m
Ventilação		Mínimo 4,5m <sup>3</sup> de ar/kg peso vivo
Nível de amônia		Menor que 10ppm (objetivo)
Registros	Temperaturas, injúria, eliminação de aves, mortalidade, dificuldade locomotora das aves	Para cada galpão e diário

Segundo Prestes (2005) e Edwards (2004), os animais devem ser fisicamente e psicologicamente saudáveis, sendo criados em harmonia com o ambiente, adaptando-se a ele sem sofrimentos, angústia ou medo. Também o Livro Branco sobre segurança dos alimentos (Bruxelas, 2000), descreve as cinco liberdades do bem-estar animal:

- **Liberdade psicológica:** o animal não deve sentir medo, estresse ou ansiedade;
- **Liberdade comportamental:** o animal deve expressar seu comportamento normal;
- **Liberdade fisiológica:** impedir que o animal sinta fome e sede;
- **Liberdade sanitária:** o animal não deve ser exposto a doenças, injúrias e dor;
- **Liberdade ambiental:** o animal deve viver em ambiente adequado, com conforto e

Os pontos-chave do bem-estar animal dos frangos se resumem:

- Na consciência e capacidade do produtor perceber o comportamento normal e anormal das aves. Altas densidades impedem a livre expressão do comportamento das aves. Marks *et al.* (2001), descreve que as aves se expressam de maneiras diferentes em situações sociais distintas, indicando que a vocalização pode ser uma forma de avaliação do bem-estar animal.
- No correto manejo de arração e fornecimento de água de bebida em quantidade e qualidade
- Na condição de correto funcionamento dos equipamentos e do ambiente de criação. Galpões devem ter alarmes para sinalizar eventual queda de energia e desabastecimento de ração, ventilação.
- Na qualidade e adaptação do manejo, condicionando as aves naturalmente a este;
- Na proteção às aves do contato ou proximidade com outros animais e pessoas que não as responsáveis pela criação;
- Na qualidade do manejo de apanha e de transporte dos animais ao abate. As lesões de fraturas, contusões, hematomas, principais causas de condenações parciais de abate, têm sua origem na falha dos procedimentos de bem-estar das aves da criação ao abate. Becker (2006) relata evidências de perturbações no bem-estar na avicultura comercial ao verificar condenações de carcaças por arranhões e celulite, mostrando que houve histeria e amontoamento no galpão. O acionamento de ventiladores no manejo de verão sem a devida adaptação às aves, propicia amontoamento e riscagem.

Com os avanços genéticos, nutricionais e de manejo, observa-se maior incidência de transtornos locomotores. O tempo requerido para a mineralização óssea e a resistência vascular não acompanha o rápido crescimento das aves, aumentando os riscos de transtornos locomotores. Lesões de coxim plantar, calos, artroses, rompimentos de tendão gastrocnêmio, coleções de sangue nas articulações e artrites de contato pelo decúbito têm sido freqüentes na avicultura industrial (**Figuras 7, 8 e 9**).



**Figura 7** - Arranhões na pele - falhas de bem estar animal e de manejo.



**Figura 8** - Lesão articular com coleção sanguinolenta.



**Figura 9** - Fratura de asa indicando falha de manipulação da ave.

A Universidade de Bristol desenvolveu um sistema de avaliação nas granjas, denominado Gait Score, que pontua de 0 a 5 entre imobilidade à locomoção normal. Nos Estados Unidos, Dawkins *et al.*, (2004) criaram um sistema de avaliação nas granjas e abatedouros que medem o bem-estar das aves, como segue:

Asas quebradas	$\leq = 1\%$
Pernas quebradas	$\leq = 1$ a cada 500 aves
Aves com escoriações	$\leq = 1\%$
Mortalidade de transporte	$\leq = 0,5\%$
Aves sujas pela cama	$\leq = 5\%$
Aves com problemas locomotores avaliadas nas granjas	$\leq = 5\%$
Avaliações de lesões e calos de pés	

**Água:** a qualidade e a quantidade de água é vital na criação das aves. A água fresca minimiza o stress térmico e contribui na distribuição dos nutrientes ao organismo através do sangue, melhorando a resistência orgânica. A água deve ser de fonte segura, protegida das varreduras de agrotóxicos das lavouras, do acesso de animais e do sol. A caixa d'água e tubulações devem ser fechadas e a limpeza e desinfecção realizada a cada saída de lote. Os bebedouros devem ser limpos diariamente e a água clorada, com níveis entre 0,5 ppm e 3 ppm de cloro residual no ponto de bebida, de maneira a assegurar a potabilidade

**Fomentar a imunidade:** as matrizes recebem uma bateria seqüencial de vacinações para proteger dos eventuais desafios e para conferir imunidade passiva a sua progênie. Os programas de vacinação são variáveis de região para região, sendo o básico a vacinação contra doença de Marek, Newcastle, Bronquite Infecciosa, Gumboro, Encefalomielite e Salmonella. Vacinações complementares como Anemia Infecciosa, Pneumovirus e EDS têm sido crescente no Brasil. Os programas seguem as orientações dos fornecedores e são acompanhados pelas monitorias sorológicas, podendo ser flexíveis de acordo com os resultados e a dinâmica de interesse de proteção das matrizes e sua progênie. Os anticorpos maternos são importantes na fase inicial da vida do frango. A vacinação no primeiro dia contra Marek é obrigatória e programas complementares com vacina contra Gumboro, Bronquite Infecciosa e ou Newcastle podem ser conduzidas, dependendo da situação sanitária da região. Também é viável fomentar a imunidade pelo uso de imunoestimulantes, nutrição e minimização do stress.

**Uso responsável de medicamento e químico:** o uso de medicamentos foi reduzido à medida que aumentaram as violações por resíduos em carnes e os casos de resistência bacteriana à antibióticos, ao mesmo tempo em que há um declínio no lançamento de novas moléculas antibacteriana. O uso de antibióticos deve limitar-se ao tratamento curativo e o seu uso seguido sempre que possível de reposição de flora para evitar a re-infecção e a resistência bacteriana com recidivas. Dados europeus mostram que pelo menos 40% das cepas de Salmonella spp. isoladas de casos humanos apresentavam resistência a pelo menos um antibiótico e 18% apresentavam multiresistência (Mead, 2004). A detecção de metabólitos de nitrofuranos, em meados de 2005, na Europa e Ásia, consolidou a importância do atendimento às leis vigentes e tratou como grave a violação do uso de antibióticos proibidos. Com os avanços nos sistemas de produção, biosseguridade, bem-estar animal, higiene, vacinação, reduziram-se as doenças e a necessidade de uso de antibióticos. A consciência, educação e novos lançamentos determinaram uma substituição gradativa do uso de antibióticos por produtos naturais como os probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos, manoligossacarídeo (Mos), enzimas, oligossacarídeos, extratos de ervas e óleos essenciais.

O uso de pesticidas na avicultura está sendo gradativamente reduzido pela adoção de alternativas naturais como fermentação de cama e as boas práticas agropecuária de higiene, limpeza. e organização dos criatórios de aves.

## Pontos-chaves que minimizam os desafios às aves



**Figura 10** - Principais pontos-chave do sistema Boas Práticas Agropecuárias.

**Biosseguridade:** é a ciência que reúne o conjunto de boas práticas que minimizam o risco de introdução e multiplicação de agentes infecciosos nos criatórios (Sesti, 2001; 2005). Isoladamente essas práticas não são plenamente efetivas, porém no seu conjunto, desempenham uma papel essencial em salvaguardar os lotes de aves do contato com agentes infecciosos. Este conjunto pode ser representado por:

- Localização e distancia entre núcleos e sítios;
- Isolamento – cerca de granja e de núcleo para evitar acesso de animais/outros;
- Construções com adequada drenagem e sistemas de esgoto;

- Barreira verde protetiva ao stress térmico e transmissão aerógena pelos ventos;
- Fluxo de processo distintos entre zonas de alto e baixo risco da granja;
- Fluxo de acesso intersítios com intervalos de tempo mínimo de 72 h para acesso a matrizes e incubatórios;
- Restrição de visitas aos criatórios e fluxo de menor para maior idade das aves;
- Banho para acesso à matrizes;
- Uso de roupa específica por granja, incubatório e rações;
- Instalações para lavagem de mãos ao entrar e sair das instalações;
- Uso de calçado específico para área externa e interna do aviário/ instalação;
- Vedação antipássaro com malha de tela 2x2 cm nos aviários e fábrica de rações;
- Veículo específico para rações por espécie, vegetal ou animal e rações de terminação;
- Silos específicos para rações de terminação de frangos/matrizes para o abate;
- Proteção externa aos aviários por pedregulhos grossos para dificultar a aproximação de roedores ao aviário;
- Calçada lateral ao aviário ou pátio que facilite a limpeza e coleta de resíduos;
- Proteção de fontes, caixas e redes de água de bebida;
- Cloração da água;
- Instrumentos e equipamentos específicos por aviários e ou núcleo. Na impossibilidade com disto, dispor de um sistema de desinfecção seguro;
- Sistema de incineração ou compostagem para as aves mortas e eliminadas;
- Fermentação de cama seguindo critérios específicos de condições e tempo;
- Transporte enlonado para cama nova e usada;
- Programa de controle de pragas, incluindo *Alphytobius diaperinus*, insetos e roedores;
- Evitar o uso de madeira pela dificuldade de desinfecção;
- Evitar visitar criatórios de vizinhos e festividades que reúnem animais;
- Evitar ter aves e suínos próximos devido ao risco da influenza aviária;
- Operadores de granjas de aves não devem ter animais de estimação como pássaros, papagaios, periquitos, entre outros;
- Equipe de apanha deve ter vestimenta específica por propriedade;
- Veículos e gaiolas de apanha devem estar limpos e desinfetados.

**Limpeza, desinfecção e vazio sanitário:** estes fatores estão detalhados em artigo específico do capítulo I deste livro. Vazio sanitário recomendado para matrizes é de 50 a 30 dias e para frangos de corte de 18 dias a 12 ias. Esse período é importante porque na ausência de aves e ração, no galpão, reduz-se de forma drástica as condições de perpetuação dos microrganismos, quebrando seu ciclo. Quando não respeitado o vazio sanitário, as condições sanitárias dos lotes subseqüentes tendem a piorar decorrente dos desafios acumulativos.

**Seleção de aves:** aves doentes e ou em sofrimento devem ser eliminadas pois representam riscos de infecção às aves saudáveis. Não se recomenda o uso de hospital de recuperação de aves devido à condição da ave ao bem estar animal e por ser este tipo de ave, alvo de menor resistência e maior risco de infecções.

**Gestão ambiental:** tem por objetivo a sustentabilidade, uma vez que os negócios avícolas devem ser economicamente viáveis, socialmente justo e ambientalmente correto. O senso de descartar o que inútil, ordenar o que é útil, limpeza e disciplina tornam o ambiente mais saudável e minimiza



os riscos de introdução de agentes indesejáveis à saúde das aves. A qualidade do ar e a ventilação adequada também desempenham um papel importante às aves. O correto destino do lixo sólido como frascos de medicamentos, pesticidas, desinfetantes e químicos contribuem para uma gestão ambiental mais sustentável por reduzir os riscos de contaminação cruzada do solo, água, ambiente e aves. O reaproveitamento de cama fermentada é um exemplo de atitude ecológica com preservação de matas e redução da poluição ambiental. A construção de cisternas de aproveitamento da água da chuva e a compostagem de aves mortas, são outros bons exemplos de boas práticas de responsabilidade sócio-ambiental adotadas na avicultura brasileira.

**Atualização e comunicação sobre ocorrências sanitárias:** deve-se assegurar que os produtores estejam treinados e com competências para reconhecer sinais de enfermidades com pronto acionamento das autoridades e responsáveis, seguido pelo isolamento do lote e das providências determinadas pelas autoridades sanitárias. O sistema de rastreamento de propriedades (GPS), permite definir a zona de risco e estabelecer as políticas emergenciais diante de um foco de doença. Atualização constante sobre as doenças ocorrentes no mundo, no país e na região é requerida para proteger do risco da introdução destas. A OIE (Organização Internacional de Epizotias) que rege as políticas sanitárias para o livre comércio internacional visa proteger a saúde animal entre países no mercado global. Ela restringe e disciplina através de suas políticas, países cujos status são comprometidos com doença emergentes como Influenza Aviar e doenças da lista A, assim como reconhece as garantias chanceladas pelo governo de um país quando seu status atende às exigências previstas e o enquadra no comércio internacional, indicando para que países e produtos que pode exportar ou importar. Avaliações de coccidiose, *clostridioses*, dermatites, micotoxinas feitas à nível de campo podem minimizar o risco de introdução de doenças mais graves. As doenças metabólicas, advindas da alta taxa de crescimento e de condições ambientais insuficientes como ascite, artroses e dermatites por frágil empenamento, devem ser minimizadas pelo manejo correto e densidades. Planos de monitoramento laboratorial, a exemplo de *Salmonella* spp em swab de arrasto e aves, as monitorias sorológicas são recomendadas para salvaguardar a sanidade.

## Integrando a granja à mesa pela rastreabilidade

A rastreabilidade como sistema preventivo de registros que assegura o histórico sobre a realização do produto, com controle da qualidade em tempo real antes mesmo de expor o produto ao mercado ou eventual caso de recolha de produto do mercado (recall) A rastreabilidade inclui desde a originação das matrizes, dos ovos férteis, pintos de 1 dia, das rações e seus insumos, das ocorrências sanitárias, dos monitoramentos, das ocorrências sanitárias e intervenções, vacinações, práticas de manejo e de bem-estar e as respectivas ações imediatas e corretivas da gestão. A rastreabilidade é objetivo alvo dos controles, auditorias e das certificações porque dela emana o nível de confiança dado aos governos, empresas e clientes. Exemplos de informações que integram a granja à mesa:

- Parâmetros de qualidade de recebimento;
- GTA (Guia de Trânsito Animal) identifica a origem, condição e movimentação de ovos, pintos, aves, bem como as avaliações sanitárias pré abate;
- Inspeções oficiais ante-mortém e pós- mortém: identificam as ocorrências de qualidade e sanitárias nos lotes com origem na agropecuária e ou no abatedouro;

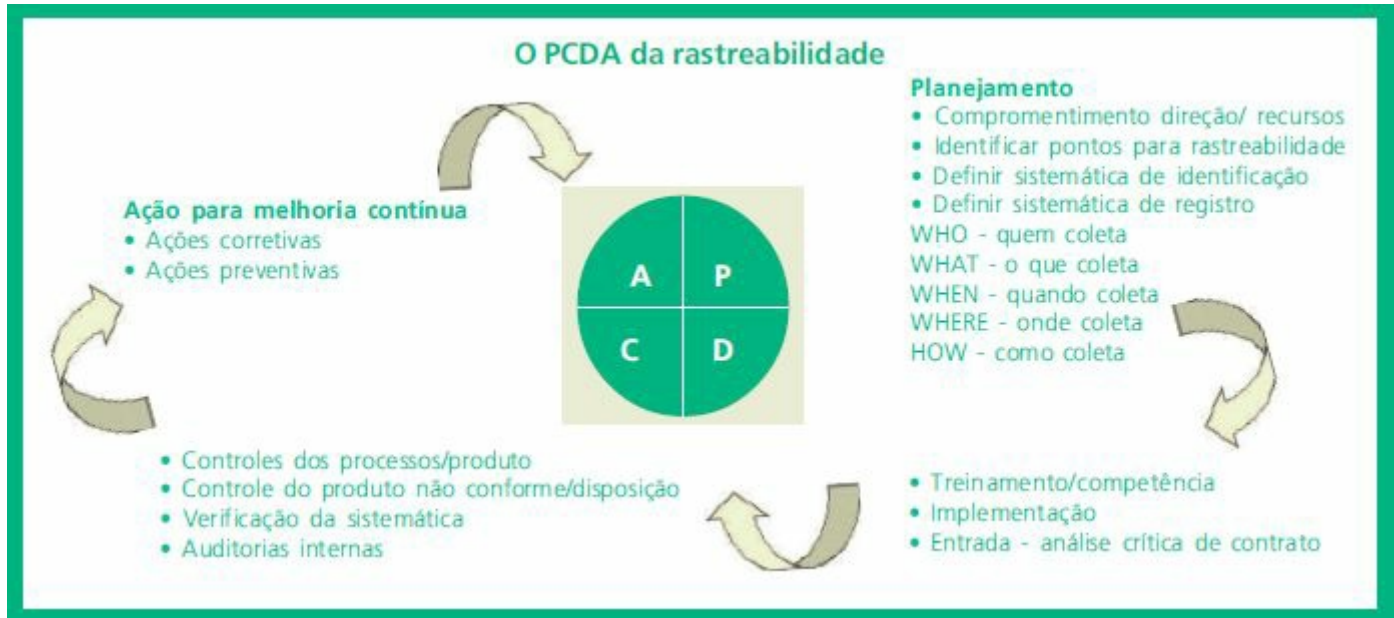
- Avaliações pré-abate para salmonela em swab arrasto permitem segregar lotes de riscos e gerenciar estes, antes de expor o produto ao mercado;
- Análise de perigos e controle de pontos críticos – HACCP e de qualidade de processos – PC's
- Controle do PPHO e GMP;
- Controles de processos, produtos e de análises de capacidade;
- Controles oficiais e laboratoriais;
- Sistema de identificação e disposição de produto conforme e não-conforme;
- Sistema de avaliação de liberação do produto.



**Figura 11** - Objetivos da rastreabilidade na esfera empresarial.

## Integrando a granja à mesa pelo controle da inocuidade

O material fecal que se encontra nas patas, penas, pele e o conteúdo do gastro intestinal do papo, moela, proventrículo, intestino e cloaca, são as principais fontes de contaminação cruzada para a carcaça no abate. As gaiolas de frangos podem fazer o ciclo de retro-infecção entre lotes do abate para o campo se não bem higienizadas. A retirada de ração em até 12h minimiza o risco da *Salmonella* spp sobrepor a barreira intestinal e estabelecer infecção sistêmica enquanto um tempo de jejum hídrico de 6 h pré apanha, minimiza o rompimento de vísceras e a contaminação gastro-intestinal nas carcaças (Corrier *et al.*, 1999).



**Figura 12** - Planejamento, execução, controle e melhoria da rastreabilidade.

Lotes com detecção de *Salmonella* sp na agropecuária são segregados e submetidos a abate especial no fim de turno que antecede a higiene pré-operacional. A révia comunicação é exigida por lei ao Serviço de Inspeção Oficial e plano amostral representativo com cinco amostras, definem a disposição do produto.

O número crescente e a gravidade das enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) em todo o mundo determinam um maior interesse na produção de um alimento seguro. Segundo CODEX COMMITTEE ON FOOD HYGIENE, 1994, “**Alimento seguro** é aquele que não causa infecção ou intoxicação alimentar quando adequadamente manipulados e preparados, de acordo com fins a que se destinam; **que não contém resíduos além dos limites estabelecidos, sendo livres de contaminações óbvias; que tenham sido produzidos sob adequado controle higiênico e que não tenha sido tratado com substâncias ilegais**“. Considerando que resíduos medicamentosos e químicos já foram abordados anteriormente, trataremos a seguir sobre as contaminações das quais figuram microrganismos patogênicos, prejudiciais à saúde humana, e microrganismos deteriorantes com capacidade de comprometer a qualidade das carnes e derivados, porém sem capacidade de causar doença no homem ([Tabela 2](#)).

**Tabela 2** - Microorganismos que podem ser contaminantes de carnes e derivados (Franco, 2006).

<b>Microrganismos Patogênicos</b>	<b>Microrganismos Deteriorantes</b>
<i>Salmonella</i> spp	Psicotróficos:
<i>Campylobacter</i> termofilicos	<i>Pseudomonas</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Moraxella</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Acinetobacter</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Outros
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	

Os microrganismos causadores de ETA são ubíquos na natureza, nos alimentos e no intestino do homem. A infecção nos frangos é natural, assintomática e raramente causa doença, tornando as aves um reservatório. A prevalência desses agentes decorre, em geral, de falhas de condições

higiênico-sanitária na criação, abate, conservação e manipulação. A ETA pode se estabelecer dependendo da variedade do microrganismo, da sua quantidade no produto e da susceptibilidade do consumidor.

A contaminação horizontal é a mais importante via de disseminação de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Campylobacter* spp e estes podem ser encontrados no tubo digestivo das aves desde o papo até a cloaca. Na postura, os ovos podem ser contaminados por estes microrganismos quando da passagem pela cloaca, contaminada com fezes. O gênero de *Campylobacter* embora constituído de 18 espécies e subespécies, somente *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* são de importância em alimentos, e podem se multiplicar em temperaturas de 42°C, motivo porque são chamados de *Campylobacter* termófilos. Segundo BIRD et al (1998), *Campylobacter* spp incide no papo em 62% e na cloaca em 4%. Por ciscarem a cama com fezes contaminadas, tornam-se um reservatório potencial de *Campylobacter* (Allos & Blaser, 1995). Os *Campylobacters* possuem uma série de adesinas, responsáveis pela ligação com a célula hospedeira e podem persistir como contaminantes em toda a cadeia produtiva de aves. Mead (2004) sugere que o fator chave da sua persistência é sua capacidade de adesão forte aos tecidos durante o processamento, aumentando sua resistência e sobrevivência aos processos de escaldagem, lavagem e resfriamento. Células de *Campylobacters* podem permanecer dormentes em ambientes desfavoráveis uma vez que são viáveis e não cultiváveis. Matrizes pesadas sob stress mostram-se mais susceptíveis à infecção sistêmica, com cultura pura de *Campylobacter* spp em swab de vesícula biliar e Mead (2002) conclui que algumas amostras são invasivas e penetram no fígado. Cox et al. (2002a) propõe a existência da contaminação vertical ao isolar *Campylobacter jejuni* do sistema reprodutivo de matrizes velhas e ao identificar amostras de mesmo perfil em conteúdo cecal de pintos de 1 dia, com prevalência de 35%. No homem a infecção se dá pela ingestão de água e ou alimento contaminado e por contato com animais e portadores (Trabulsi, 1998). Estudos de carcaças e partes de frangos adquiridas no comércio, a incidência de *Campylobacter* foi da ordem de 13,5%, com predomínio de *Campylobacter coli* (86%) em relação a *Campylobacter jejuni* (14%) (Sakuma & Franco, 1992).

**Controle de Microrganismos (Franco, 2006)**

**Patogênicos**

- *Salmonella* spp
- Psicotróficos:
  - *Campylobacter* termofilicos
  - *Listeria monocytogenes*
  - *Clostridium perfringens*
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli* O157:H7

**Deteriorantes**

*Pseudomonas, Moraxelia, Acinetobacter, Outros*

**Controle residuos químicos**

- Antimicrobianos aditivos alimentares/promotores de crescimento
- Organoclorados, organofosforados
- Metais pesados
- Dioxina
- Aminas biogênicas
- Desinfetantes

**Controle residuos físicos** - metal, vidro, plástico, cabelo, papel



**Figura 13** - Controles para a validação da qualidade dos produtos.

A *Salmonella* spp incide em 5 a 30% dos lotes de aves, porém dentre os 2541 sorovares já identificados, somente doze são envolvidas em ETA e destes, três são os mais importantes: *Salmonella* *Thyphimurium*, *Salmonella* *Enteritidis* e a *Salmonella* *Heidelberg*. A contaminação nas aves pode ocorrer via vertical, desde linhagens avícolas ou por via horizontal pela contaminações cruzadas na cadeia de produção e através da ingestão de ração e ou água contaminada. Kanashiro *et al.*, (2005) identificou que a *Salmonella* *Enteritidis* foi o sorovar mais freqüentemente encontrado em aves correspondendo a 57,5% das cepas isoladas de matrizes e a 84% das isoladas de aves para abate.

O *Clostridium perfringens* é um agente de flora intestinal das aves cuja virulência deve-se à sua capacidade de produzir diversas toxinas responsáveis pela toxinfecções no homem. Segundo Mead (2004), este agente é o segundo de maior importância nos surtos de ETA na Inglaterra. Sua presença em quantidades acima de 100 UFC/g pode indicar falhas de manipulação no processamento e consumo das carnes.

*Escherichia coli* O157:H7 já foi associada a surtos de origem alimentar, envolvendo carne de frango (Mead, 2004). De um modo prático, este agente não tem sido isolado de carnes de aves, salvo em processos de produção mistos onde operam num mesmo ambiente linhas de bovinos (hamburguers) e linhas de produção de aves. Nesses casos e de igual forma no preparo da carne para consumo, podem ocorrer contaminações cruzadas, uma vez que nas carnes de origem bovina este microrganismo é de maior ocorrência.

*Staphylococcus aureus* é um agente presente na cama, na pele das aves e pode causar enfermidades como dermatites e artrites. No caso de doenças, o *Staphylococcus aureus* parece ser um agente secundário decorrente de falhas dos programas de anticoccidíacos e clostidioses ou no caso de artrites pelo contato prolongado das articulações das aves pelo decúbito sobre a cama. No abatedouro, este agente pode advir também de falhas de manipulação das carnes e trato respiratório do homem.

A *Listeria monocitogenes* é um agente ubíquo na natureza, sendo encontrado em uma grande variedade de alimentos, incluindo carnes cruas de aves. Segundo Mead (2004), vários estudos comprovam que acima de 50% das carcaças de frango são positivas para *Listeria monocitogenes*, porém com níveis baixos, inferiores a 1 unidade formadora de colônia por cm<sup>2</sup> (UFC/cm<sup>2</sup>). Há evidências que a listeria se torna mais prevalente em ambientes e produtos resfriados como a sala de cortes, devido à sua capacidade de se multiplicar em temperatura de refrigeração e em carcaças e ou partes cuja flora competitiva foi reduzida na etapa resfriamento em chiller. Sua presença é inadmissível em carnes cozidas, que passaram por processos tecnológicos de eliminação. Contaminações cruzadas podem ocorrer nas áreas após cozimento, quando fluxos e práticas de higiene forem insuficientes. Produtos cozidos, superfícies e ambientes após o cozimento não devem conter células de *Listeria monocitogenes*.

A carga microbiana advém das aves vivas e da incorporação em qualquer uma das etapas de abate e processamento ([Tabela 3](#)).

## Requerimento higiênico-sanitário no abate e processamento

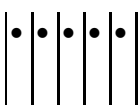
Durante o abate, existem várias etapas de risco de contaminação. No atordoamento, a expulsão involuntária de fezes pela ampola cloacal amplia os níveis de contaminação da ave e da água de escaldagem, razão pela qual é importante manter um adequado jejum pré-abate e uma apropriada toaleta pré-escaldagem.

Na escaldagem, as temperaturas de 50-63°C feitas em média por 3 a 1 minuto respectivamente reduzem ou mantêm apenas a carga microbiana, por isso qual é importante que a renovação da água seja em fluxo contra-corrente, minimizando os riscos da contaminação cruzada.

Na depenagem é provável que uma grande quantidade de células de *Campylobacter* aderida à pele se espalhem na superfície da pele (Berrang *et al.*,2001). A manutenção dos dedos de borracha da depenadeira podem reduzir a contaminação.

**Tabela 3** - Tipo de contaminação microbiana possível de ser encontrada nas diversas fases do sistema de produção e processamento.

		1	2	3	4	5
1 - <i>Salmonella</i> spp 2 - <i>Escherichia coli</i> 3 - Clostridium Sulfito redutor 4 - <i>Campylobacter jejuni</i> 5 - <i>Listeria monocytogenes</i>						
Agropecuária	Ovos férteis, aves de 1 dia contaminadas	•				
	Ingredientes, insumos e rações	•				
	Animais silvestres, pombos e roedores	•				
	Água de bebida animal	•	•			
	Poeira da cama (penas, pele e patas)	•	•	•	•	
	Trato digestivo (papo – moela)	•	•	•	•	
	Trato intestinal (fezes)	•	•	•	•	
	Contaminação cruzada em rações, silos e granjas	•				
	Falhas de higiene, boas práticas e vazios sanitários	•				
Abate	Contaminação cruzada na água de escaldagem	•	•	•	•	
	Rompimento de papo, bÍlis e intestino	•	•	•	•	
	Contaminação cruzada no resfriamento de carcaças	•	•	•	•	
	Contaminação cruzada em esteiras, utensÍlios e luvas de operadores	•	•	•		
	Contaminação ambiental			•		•

Venda/Consumo	Contaminação cruzada por falhas higiênicas na manipulação de venda, preparo e consumo	
---------------	---	---

É requerido que a área de evisceração seja separada da depenagem em razão das diferenças higiênico-sanitárias resultantes destes processos. O nível de contaminação de *Campylobacter* no ar área de escaldagem e depenagem, variou de 46,7% a 70% enquanto na evisceração foi de 6,7 a 70% (Whyte *et al.*, 2001).

Durante a evisceração os riscos de rompimento de vísceras são fatos que contaminam as carcaças com fezes, bili e conteúdo gástrico advindos do papo, próventrículo e moela.

Um grama de fezes pode conter em média  $10^9$  ufc e o rompimento de intestino e expulsão de fezes pela cloaca devem ter controle priorizado. Os níveis de colonização de *Campylobacter* jejuni no papo são da ordem de  $10^3$  a  $10^5$  ufc/g (Ziprin *et al.*, 2002a) e a presença de *Campylobacter* spp na vesícula biliar é um achado freqüente.

O programa de análise de Perigos e controle dos pontos críticos estabelece na evisceração o controle para fezes e bili. No Brasil, carcaças, após a evisceração e antes da toailete final com ducha de água, são inspecionadas uma a uma na suas superfícies internas e externas. Carcaças e outras partes contaminadas por fezes e bili passam por toailete seca onde retira-se com faca a contaminada. A toailete seca evita que contaminação extensa seja espalhada sobre a carcaça quando da etapa de lavagem. O processo minimiza, mas não exclui a contaminação nos tecidos moles da parte interna da carcaça. O controle efetivo está na regulagem e eficiência dos equipamentos de evisceração, jejum pré-abate e uniformidade do lote. No Canadá, a toailete seca é adicionada ao sistema de chuveiros sempre que a contaminação exceder 5%.

A toailete com jatos bem dirigidos sob alta pressão promove a varredura mecânica das sujidades e células bacterianas da superfície, minimizando a carga microbiana da carcaça ao sistema de resfriamento. Nos Estados Unidos, diversos compostos podem ser incorporados a água de lavagem, como ácido láctico, derivados de cloro e outros que mostram ter eficiência especialmente quando o resfriamento é por ar. Para resfriamento em chiller é provável que o tempo entre a lavagem e a imersão seja insuficiente para uma atuação dos compostos na redução bacteriana. Os coadjuvantes de tecnologia contribuem para minimizar as contaminações externas, mas falham nas contaminações sistêmicas, que são eliminadas pelo cozimento, pasteurização e irradiação e por vezes no congelamento. O uso de coadjuvantes de tecnologia deve ser considerado sob a ótica da lei e das exigências dos mercados a que se destinam os produtos.



**Figura 14** - Frangos após a toaleta e escaldagem.



**Figura 15** - Desvio de evisceração com contaminação de bile na carcaça.

O resfriamento é a outra etapa potencial que minimiza os riscos de contaminação pela redução do ritmo da atividade bacteriana ao baixar a temperaturas das carcaças de 40 °C para 7°C. Resfriamentos em água potável (1ppm de cloro), a 4°C, reduz a carga de mesófilos de 104,5 UFC/g para 103,5 ufc/g, enquanto que o uso de água de resfriamento com 5 ppm de cloro reduz de 10 a 100 vezes o nível de mesófilos e de *Escherichia coli* e minimiza a incidência de *Salmonella* spp. Carcaças resfriadas dirigidas ao corte contêm células de *Campylobacter* spp viáveis que estão protegidas nos folículo da pena que podem ampliar a contaminação cruzada nas esteiras, placas de corte, facas, luvas. Processar cortes em linhas distintas de produtos com pele e sem pele pode minimizar a contaminação cruzada.





**Figura 16** - Ruptura de papo e rompimento da vesícula biliar.



**Figura 17** - A direita - desvio de corte de cloaca com exposição do conteúdo fecal.

O congelamento é um importante frenador da atividade microbiana porque os microrganismos não encontram condições de multiplicação devido à indisponibilidade de água e são eliminados ou injuriados. O congelamento rápido é mais eficiente na redução da carga microbiana que o congelamento lento, que injuria as células bacterianas. Carnes congeladas mais seguras que as resfriadas, a exemplo de carcaças resfriadas que apresentam uma incidência de 56 a 100% de *Campylobacter spp* enquanto as congeladas 0 a 5%.

## **Principais programas de qualidade no abate e processamento**

A implementação das inspeções sanitárias pré e pós-abate, as boas práticas de produção e o procedimento padrão higiene operacional e pré-operacional são bases para o HACCP, sendo específicos por planta e por processos. As eficiências das diferentes etapas do processo de abate devem ser monitoradas assim como a aferição periódica dos instrumentos de medição, pesagem e calibração para a provisão de um plano de qualidade confiável.

**Inspeção sanitária pré-abate e pós-abate ( Portaria 210 (Brasil, 1998b)):** as aves antes do abate são inspecionadas clinicamente e pela verificação do GTA-Guia de Trânsito animal, observando-se os informes sanitários do lote e suas performances como mortalidade de campo, de

transporte, uso de medicamentos e outros. Necropsias são procedidas quando aplicável pelas autoridades sanitárias.

**Inspeção sanitária pós-abate (Portaria 210 (Brasil, 1998b)):** o governo mantém uma equipe própria de inspetores, agentes e auxiliares de inspeções para a realização das avaliações pós-abate, onde procedem a avaliação e a condenação parcial e ou total das carcaças, classificando-as nas suas respectivas causas. O Brasil distingue-se pelo exercício dessa atividade se realizar em 100% das carcaças abatidas e não apenas por amostragem.

**Programa de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (Portaria Nº 368 (BRASIL,1997), Portaria 210 (Brasil, 1998b)):** esse programa reúne um conjunto de procedimentos de higiene que permite a manipulação segura das matérias-primas ao produto final, em todas as suas etapas de processamento, manipulação e preparo. O programa inclui instalações externas mantidas livres de atrativos e abrigos de pragas, condições das instalações internas e equipamentos que permitem a fácil higienização e sanitização. O fluxo produtivo lógico deve evitar a contaminação cruzada de áreas mais contaminadas para menos contaminadas, bem como a separação entre matéria-prima e produtos acabados. Nos setores de elaboração, o enfoque deve ser dado para evitar contaminações cruzadas e tempo de retenção do produto em elaboração. Programa exige ainda procedimentos de manutenção preventiva e corretiva e controle da saúde, higiene e atitudes da equipe operativa. Boas práticas de fabricação são requeridas aos manipuladores, bem como vestimenta apropriada. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os manipuladores representam até 26% das causas de ETA, sendo as principais fontes de contaminação a má higiene das mãos, pele e espirros. As condições de saúde dos manipuladores, sua higiene pessoal, roupas, cabelos, unhas e hábitos higiênicos são fatores a serem consideradas na inocuidade dos alimentos. Os funcionários devem ser examinados pelo serviço médico e estarem aptos a manipular alimentos. Portadores de transtornos gastrointestinais devem ser afastados da linha de produção a fim de proteger de qualquer risco de contaminação ao alimento em processo. No que se refere às competências, o conhecimento, as habilidades e as atitudes devem ser desenvolvidas. Os novos funcionários devem ser previamente treinados e as reciclagens periódicas. O ambiente limpo, seco e saudável alicerça a produção de um alimento seguro e o asseio ambiental infere e denota a cultura operacional. A qualidade da água e do gelo que entra em contato direto com o produto, a renovação e qualidade do ar, o controle de pragas, a qualidade das manutenções e as pessoas são pré-requisitos para o alimento seguro. Por fim esse programa contempla os métodos de um controle consistente da operação, especificando os dispositivos utilizados na mensuração da temperatura, tempo, fluxo, peso, pH, detectores de metais, procedimentos de detecção e controle de corpos estranhos. O programa de Boas Práticas de Fabricação (BPF) devem estar implantado como pré-requisito obrigatório para implantação do Programa HACCP.



**Figura 18** - Responsabilidades do governo.

**Procedimento Padrão de Higiene Operacional e Pré-Operacional (PPHO):** consiste no plano de procedimentos e controles para a limpeza das superfícies de contato com o produto e das instalações em geral antes, durante e após a produção. A natureza dos equipamentos, as características das superfícies que entram em contato com os produtos, a possibilidade de transferência de odores aos alimentos, as dificuldades de montagem e desmontagem como vistas aos procedimentos de higienização e de inspeção visual, são aspectos básicos e relevantes a se considerar no programa de inocuidade. Os controles são procedidos em dois níveis, um pela qualidade da organização e outro pelas autoridades sanitárias, de forma a assegurar ausências de adulteração, contaminações diretas e ou cruzadas veiculadas por superfícies de contato, utensílios, equipamentos, ou mesmo manipuladores. São requisitos do PPHO, o treinamento e capacitação da equipe de higienização sobre os tipos de contaminantes de cada etapa do processo, métodos apropriados de remoção, conhecimento das funções e atuação dos químicos e detergentes e de seus resíduos ao produto e operador. A operação deve ser realizada dentro de padrões estabelecidos de temperatura da água, pressão e materiais apropriados para a limpeza e sanitização. Os controles incluem a qualidade dos produtos, as aprovações legais e as verificações visuais e microbiológicas. Todos os pontos verificados devem ser registrados e os não-conformes providos de ação imediata e ação corretiva a fim de assegurar a proteção ao produto e a não reincidência do desvio. Toda e qualquer mudança do processo e resultados insatisfatórios exigem revisão do plano PPHO.

**Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP ou APPCC- Portaria Nº 46 (Brasil, 1998<sup>a</sup>)):** resulta da análise sistemática dos riscos e perigos nas diferentes etapas do processo produtivo, onde se estabelece o controle apropriado para prevenir a ocorrência de

desvios antes que eles aconteçam ao produto ou evitando que eles se amplifiquem. Estes pontos, chamados “críticos”, passam a ser controlados diretamente no processo, assegurando um produto de melhor qualidade ([Tabela 4](#)).

<p><b>Tabela 4</b> - Modelo de pontos de controle e pontos críticos de controle com foco no controle da contaminação microbiológica de carcaças.</p>	
<p><b>Lavagem de gaiolas</b> -PC</p>	<p>Lavagem de gaiolas:para eliminar risco contaminação de retorno ao campo: Gaiolas limpas, água quente a 45C/cloro 1000 ppm. Ausência de <i>Salmonella</i> spp e Mesófilos &lt; 10 UFC/g.</p>
<p><b>Atordoamento</b> PC</p>	<p>Controle de voltagem, amperagem. Freqüência e dos sinais electoplécticos de movimento de bico, abdômen, pupila e terceira membrana do olho.</p>
<p><b>Escalda</b> - PC</p>	<p>Redução microbiana na água e na carcaça e facilitar a etapa de depena. Toalete pré-escalda. Fluxo de água de reposição contra corrente e Temperatura da água recomendada entre 60 a 63°C.</p>
<p><b>Depenagem</b> PC</p>	<p>Ausência de penas na carcaça e risco de espalhar microrganismos dos poros. Integridade dos dedos de borracha para evitar escoriações de pele. Toalete para remoção de penas, cutícula e microrganismos.</p>
<p><b>Evisceração</b> PC</p>	<p>Eficiência da evisceração e das manutenções:Rompimento de cloaca:Máx. 5 %. Integridade de papo: mínimo 95%, vesícula biliar: Min.95%. Integridade do pacote de vísceras, papo á cloaca: 80% Fezes e bili na carcaça: desejável no PPC inferior a 3%Papo e Traquéia: extração de no mínimo 97% . Repasse manual</p>
<p><b>Inspeção fecal e biliar</b> PCC</p>	<p>Ausência de fezes e bili no exterior e interior da carcaçaInspeção de linha em 100% das</p>

	carcaças com segregação e toailete. Verificação do PCC fecal e biliar em 100% das carcaças como conforme						
<b>Toailete final</b> PC	Consumo de água: mínimo 1,5litros/carcaça jato de água sob pressão dirigidos sequencialmente dos pés, coxas, cloaca, dorso, ventre, asas, peito ao pescoço. Internamente, ducha de água com pressão em volume para remoção de resíduos						
<b>PCC</b>	<p><b>Resfriamento Temperatura Renovação</b></p> <table> <tr> <td><i>Pré-chiller</i></td> <td>16°C</td> <td>1,5 lt de água &lt; 4°C</td> </tr> <tr> <td><i>Chiller</i></td> <td>4°C</td> <td>1,0 lt de água a 4°C</td> </tr> </table> <p>Temperatura carcaça saída do chiller: &lt;= 4°C. Quantidade de vísceras retidas nas pás do chiller. Borbulhamento, limpeza dos filtros, absorção e <i>drip test</i></p>	<i>Pré-chiller</i>	16°C	1,5 lt de água < 4°C	<i>Chiller</i>	4°C	1,0 lt de água a 4°C
<i>Pré-chiller</i>	16°C	1,5 lt de água < 4°C					
<i>Chiller</i>	4°C	1,0 lt de água a 4°C					
<b>Esterilizadores</b> PC	Temperatura > 85 °C por no mínimo 2 minutos.						
Congelamento PCC	Temperatura de túnel: < -45°C. Produto: < -18°C. Fluxo adequado de congelamento e ausência de neve.						
<b>Detector de metais e/ou raio x</b> - PCC	Testes conformes com corpos de prova a intervalo de tempo. Segregação de lotes positivos e ação de identificação do corpo estranho.						
<b>Armazenamento-</b> PCC	Temperatura ambiente de câmaras: < -18°C. Temperatura de produto salgado e CMS: < -18°C. Temperatura de produto in natura: ≤ =-12°C ou ≤ =-18°C.						
<b>Águas e gelo</b> PC	Controle físico-químico, microbiológico da água/gelo. Qualidade, vazão, pressão e volumes.						

O programa consiste em sete etapas, a saber:

- Identificação do perigo;
- Identificação do ponto crítico;
- Estabelecimento do limite crítico;
- Monitoramento;
- Ações corretivas e preventivas;
- Verificação;
- Procedimentos e registros de resultados.

Periodicamente deve-se validar o plano e manter verificações quanto ao seu funcionamento, provendo as melhorias necessárias sempre que aplicável. O programa deve ser desenvolvido, mantido e melhorado por uma equipe multidisciplinar, a fim de que todos os perigos possam efetivamente ser considerados e ações planejadas estabelecidas para conter os perigos.

## Procedimento higiênico- sanitário na comercialização

Segundo o código do consumidor, o produtor do alimento tem a co-responsabilidade com as condições na qual seu produto é comercializado e isto inclui a:

- Conservação adequada e higiênica no transporte com registros de temperatura e condições do produto no recebimento no ponto de venda;
- Boas práticas de higiene no manuseio e fracionamento nos pontos de vendas;
- Programa adequado de higiene de equipamentos, utensílios e manipuladores;
- Conservação adequada do produto durante o resfriamento e congelamento (**Figura 19**);
- Avaliação periódica das temperaturas de transporte, câmaras e gôndolas;
- Rastreabilidade do fracionado e reembalado;
- Requisitos contratuais de produto, peso e prazo de entrega;
- Integridade de embalagem, temperatura de produto.



**Figura 19** - Estocagem e rastreabilidade de produtos processados.

A rotulagem norteia os clientes processadores, comerciantes sobre a origem da produção e das condições de preservação do produto.

## **Procedimento higiênico-sanitário no consumo**

A manipulação durante o preparo do alimento para consumo é a forma mais comum de transmissão de ETA ao homem. A FAO/WHO,2001 considera que podem ocorrer contaminações cruzadas durante a manipulação da carne de frango crua na cozinha e conclui que as falhas no manuseio e preparo inadequados estão correlacionados em mais de 60% dos casos de campilobacterioses. A educação continuada ao consumidor pelas escolas, governo, supermercados e indústria se faz necessária para educar o consumidor a seguir as instruções de conservação e de cozimento descritos em rótulo do produto, bem como as boas práticas de preparo abaixo:

- Higiene na preparação do alimento;
- Controle da contaminação cruzada com utensílios e manipulação;
- Cozimento de acordo com as orientações de embalagem – tempo e temperatura;
- Fracionamento e conservação apropriada de produtos cozidos;
- Boas práticas de armazenagem em geladeira.

É de responsabilidade do preparador final/ consumidor o correto cozimento do produto. Assim como o leite cru, a carne crua necessita passar pelo processo de cozimento antes de ser consumida. As Boas Práticas de Fabricação e o Programa HACCP contribuem de forma decisória na redução microbiológicos à níveis aceitáveis previstos em lei, porém somente processos tecnológicos como a pasteurização da carne, a irradiação e o cozimento conseguem assegurar risco zero.

## **Validação dos programas de qualidade**

A qualidade é um objetivo das organizações a fim de assegurar que o planos elaborados são entendidos, atendidos, controlados e melhorados. A ferramenta gerencial mais utilizada tem sido o PDCA-Plan/Do/Check/Action, conforme preconiza o Sistema ISO 9001:2000. Dentro do modelo de gestão da produção para resultados, a qualidade está inserida na mente e nas ações daqueles que fazem a produção, atribuindo a eles a responsabilidade e a autoridade para frear a produção em tempo real, sempre que desvios ocorrerem. Num segundo nível, atribui-se aos controladores da qualidade a responsabilidade e autoridade para proceder verificações do realizado versus o planejado. No terceiro nível, a garantia da qualidade, com independência, embora integrada ao processo produtivo, valida os planos de qualidade provendo melhorias e confiança à organização, clientes e governo.

Os objetivos esperados se resumen na redução das perdas por reprocesso, recall, o atendimento aos padrões higiênico sanitário, de qualidade e de atendimento aos requerimentos legais e da satisfação do cliente pelo produtos e serviços prestados.

Auditoria é um programa sistemático e evoluído que mensura a conformidade do realizado com o planejado. Sua execução é feita por profissional e ou grupo independente do processo a ser auditado. As auditorias podem ser de natureza interna ou externa.Podem aplicar-se aos processos

e aos produtos. Seus resultados geram confiança às partes interessadas e promovem a melhoria contínua.

## Certificações

O Brasil, como uma das mais importantes plataformas mundiais de produção e exportação de carne de frango, tem-se mostrado flexível e ágil na

adequação aos padrões requeridos, quer pelos regulamentos de habilitação dos países importadores, coordenados pelos governos, quer pelos critérios exigíveis nas especificações técnicas e organizacionais dos clientes importadores às empresas brasileiras. As exigências higiênico- sanitárias, que sustentam a produção de um alimento seguro, são requerimentos básicos em todos os países e já não se constituem mais em diferenciação, por ser uma obrigação legal de quem os produz.

As certificações se aplicam a fornecedores, agropecuária, abatedouros e indústrias e têm características próprias e focada em determinados segmentos e objetivos. Elas se pautam em códigos específicos que são amplamente discutidos entre as diferentes classes de consumidores, clientes e organismos não-governamentais fomentadores da qualidade e food safety. Os mercados são globais e códigos únicos norteiam e asseguram, através das certificações independentes o status de atendimento ao código.

As exigências, em geral, provêm dos próprios consumidores finais e clientes, que se organizam e se alinham a Associações que estabelecem e gerenciam os códigos. Independente da localização dos produtores no mundo, são os sistemas de certificações independentes que conferem confiança e oportunizam diferenciação no mercado. Pela certificação se consolida a lealdade dos clientes e consumidores à marca com melhores chances de diferenciação de preços, escala e de longevidade de negócios.

As certificações incluem a verificação das inspeções e especialmente a consistência da gestão da qualidade das organizações. Não basta demonstrar o controle pontual, é necessário prover confiança na gestão da produção em cadeia.

Dentre todos os mercados enérgicos, a Europa destaca-se desde o lançamento do Livro Branco em 2000, como referência no estabelecimento de critérios diferenciais que visam ao mais alto nível de proteção ao consumidor e de proteção aos seus próprios mercados. Dois importantes códigos mundiais certificáveis tiveram origem na Europa, a saber no quadro da página seguinte.

As exigências de certificação de fornecedores têm sido uma prática crescente como estratégia para assegurar que os critérios intrínsecos e extrínsecos da matéria-prima sejam atendida desde a sua origem, dando consistência à qualidade e a rastreabilidade da cadeia produtiva. O controle de qualidade por inspeção é menos seguro que a qualidade assegurada no processo produtivo do fornecedor. A gestão da produção do fornecedor alinhada com a do cliente é mais econômica e confiável.

--	--	--	--	--	--



Modelos	Origem	Aplicação	Foco	Exigência	Extensão
BRC-British Retailer Consortium	Europa	Abatedouro	Qualidade Alimento Seguro	Varejista inglês	Outros países
EurepGAP	Alemanha	Agropecuária	Boas Práticas Bem-estar animal Biosseguridade Segurança/Ambiental Bem-estar trabalhador	Importadores e ou exportadores europeus com diferenciação no mercado	Outros países
ACP	Europa	Agropecuária	Processo Alimento seguro	Europa	Outros países
EFSIS	Europa	Abatedouro	Processo Alimento seguro	Europa	Outros países
QSFI 2000	Europa	Agroindústria	HACCP-assegurado para fornecedor de alimentos	Europa/Ásia	Opcional
HALAL	Oriente Médio	Abatedouro	Abate religioso	Muçulmanos	Países com consumidores
Kosher	Israel/Europa	Processados	Preceitos religiosos de abate e do ISO conteúdo de origem	Israel e mercados específicos	muçulmanos Opcional
ISO 9001:2000	Genebra	Cadeia ou processo específico	Gerenciamento da qualidade-foco cliente, legislações e melhoria contínua	Desejável por alguns mercados	Opcional
ISO 14.001	Europa	Cadeia agroindustrial e de fornecedores	Gestão ambiental, melhoria contínua, gestão, leis, impactos ambientais, planos e ações	Desejável por alguns mercados	Opcional
ISO 17025	Europa	Laboratório	Assegura o padrão de qualidade do tratamento dos materiais, processos	Desejável por alguns mercados	Opcional

			laboratoriais, gestão das informações, rastreabilidade e administração.		
ISO 22.000:2005	Europa	Abatedouro e processamento	Sistema de Gestão da segurança de Alimentos	Alguns mercados	Opcional
OHSAS 18001	Europa	Toda a cadeia ou parte dela	Sistema de gestão de segurança e Saúde ocupacional - Foca redução de riscos para os funcionários, competitividade, aspectos legais e melhoria contínua	Desejável por alguns mercados	Opcional
Rastreabilidade	Europa	Toda a cadeia	Originação e qualidade	Todos países	Todos países
OGM- Organismos Geneticamente modificados	Europa	Toda a cadeia	Originação e qualidade	Raros mercados	-
Frangos com alimentação vegetal	Europa	Agropecuária	Qualidade específica de produto e processo GRAINFED	Mercado específico ou linha específica de produto	-
Frangos sem promotores de crescimento e ou antibióticos	Europa/Japão	Toda a cadeia	Qualidade específica de produto e processo No growth promoters No antibiotics	Alguns mercados e ou linhas de produtos	-
Ética	Europa/Canadá	Toda cadeia	Foca os desempenhos e aspectos sociais e ambientais da produção	Alguns mercados	Opcional

Para o bem estar animal, embora não exista certificação específica, este requerimento está incluso nos mais importantes códigos de certificações internacionais e de habilitações governamentais.

As certificadoras são independentes e no Brasil elas são chanceladas pelo INMETRO (Instituto Nacional de metrologia, Normalização e Qualidade Industrial).

Certificações de granjas de matrizes e incubatórios seguem protocolos de certificação governamental no Brasil.

## Conclusão

A produção agroindustrial avícola detém os melhores e mais evoluídos sistemas de qualidade entre todas as espécies produtoras de carne. Esta é a década mais segura da gestão higiênico-sanitária porque quem faz, sabe o que , como e por que faz. É também a década da comunicação e da integração dos processos, alinhado a objetivos comuns de ter clientes satisfeitos, mercados seguros e negócios sustentados. O Brasil evolui rumo à regionalização e as organizações firmam compromissos com as práticas de biosseguridade, sanidade, qualidade e competitividade. As práticas fundamentadas na análise de riscos e estatística apontam para um controle mais preditivo e menos reativo que rendem maior valor. Em todas as situações “Da Granja à mesa”, os requisitos legais de sanidade e de food safety são priorizados para prover o mais alto nível de proteção ao consumidor, de confiança aos governos, mercados e clientes.

## Bibliografia

Allos BM, Blase MJ. State-of-the art clinical article: *Campylobacter jejuni* and the expanding spectrum of related infections. **Clinical Infectious Diseases** 1995; 20:1092-1101.

Berrang ME. *et al.* Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. **Journal of Food Protection** 2001; 64(12):2063-2066.

Becker BG. **Bem estar em avicultura**. VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura; 2006 abr. 4-6; Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários; 2006. 5p.

Byrd JA. *et al.* Incidence of *Campylobacter* in crops of preharvest market-age roiler chickens. **Poultry Science** 1998; 77(9):1303-1305.

Comissão das Comunidades Européias. Livro branco sobre segurança dos alimentos. Bruxelas; 2000. [Centers for Disease Control and Prevention. Available from: www.cdc.gov.](http://www.cdc.gov)

Codex Alimentarius Commission. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Committee on Food Hygiene. Washington, DC., USA; 1994.

Corrier DE, Byrd JA, Hargis BM, Hume ME, Bailey RH, Stanker LH. Presence of *Salmonella* in the crop and ceca of broiler chickens before and after preslaughter feed withdrawal. **Poultry Science** 1999a; 78:45-49.

Cox NA. *et al.* Difficulty in recovering inoculated *Campylobacter jejuni* from dry poultry associated samples. **Journal of Food Protection** 2001; 64(2):252-254.

Cox NA. *et al.* Identification of a new source of *Campylobacter* contamination in poultry: transmission from breeder hen to broiler chickens. **Avian Diseases** 2002a; 46:535-541.

Dawkins MS, Donnelly CA, Jones TA. Chickens welfare is influenced more by housing conditions than by stocking density. **Nature** 2004; 427:342-344.

Edwards JD. The role of the veterinarian in animal welfare - a global perspective. Global Conference on Animal Welfare: an OIE Initiative. European Communities, Office International des Epizooties; 2004.

Franco BDGM. O mundo do frango. Santa Maria: Gráfica Editora Pallotti; 2006.

ICMSF. HACCP na qualidade e segurança microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela; 1998.

Kanashiro MI, Stoppa GFZ, Cardoso ALSP, Tessari ENC, Castro AGM. Serovars of *Salmonella* sp isolated from broiler chickens and commercial breeders in diverse regions in Brazil from July 1997 to December 2004. **Brazilian Journal Poultry Science** 2005; 7:195-198.

Marx GJ, Leppelt E, Ellendorff F. Vocalisation in chickens (*Gallus gallus domesticus*) during stepwise social isolation. **Applied Animal Behaviour Science** 2001; 75(1):61-74.

Mead GC. Factors affecting intestinal colonization of poultry by *Campylobacter* and role of microflora in control. **World's Poultry Science Journal** 2002; 58: 169-178.

Mead GC. Microbiological quality of poultry meat: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science** 2004; 6:135-142.

Prestes JA. **Bem-estar animal: o que as empresas estão fazendo para atender as demandas internacionais.** Anais Conferência APINCO de Ciências e Tecnologias Avícolas; 2005; Santos. p.67-78.

Roche Vitaminas. Calidad de los alimentos de origen animal: expectativas del consumidor español. Departamento de Marketing y Servicios; 2001. (Estudio 2001).

Sakuma H, Franco BDGM. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in retail raw chicken and giblets in São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia** 1992; 23:13-16.

Sesti LAC. Filosofias e conceitos de biossegurança e doenças com potencial de risco para a avicultura brasileira. Anais da Conferência APINCO; 2001 maio 29-31; Campinas, São Paulo. Brasil. p. 47-91.

Sesti LAC. **Biossegurança em granjas de reprodutores.** In: Macari M, Mendes A, editores. Manejo de matrizes de corte. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologias Avícolas; 2005.

Trabulsi LR. **Microbiologia.** São Paulo: Atheneu; 1998.

Wempe JM. *et al.* Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing

plants. **Applied and Environmental Microbiology** 1983; 45(2):355-359.

Whyte P. *et al.* Distribution and prevalence of airborne microorganisms in three commercial poultry processing plants. **Journal of Food Protection** 2001; 64(3):388-391.

Ziprin RL. *et al.* *Campylobacter* colonization of the crops of newly hatched Leghorn chicks. **Avian Diseases** 2002a, 46:985-988.

Wood JD, Holder JS, Main DCJ. Quality assurance schemes. **Meat Science** 1998; 49:S191-S203.

World Health Organization Food Safety Program. Available from: [www.who.int/fsf](http://www.who.int/fsf),  
<http://europa.eu.int>, [www.fsis.usda.gov](http://www.fsis.usda.gov).

**2.1 - Diagnóstico microbiológico e sorológico** 79*Carlos Henrique Carneiro Santos***2.2 - Diagnóstico molecular** 105*Nilo Ikuta, André Fonseca, Vagner Lunge***2.3 - Diagnóstico histopatológico** 123*Edson Luiz Bordin*

Diagnóstico microbiológico e sorológico

<b>Diagnóstico microbiológico</b>	<b>79</b>
<i>Introdução</i>	79
<b>Diagnóstico bacteriológico e micológico</b>	<b>80</b>
<i>Visualização direta</i>	80
<i>Plaqueamento direto</i>	80
<i>Cultivo em caldo (direto, pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo)</i>	80
<i>Plaqueamento em meios sólidos eletivos</i>	80
<i>Métodos de coloração</i>	80
<i>Caracterização da espécie (provas bioquímicas e antigênicas)</i>	81
<b>Diagnóstico virológico</b>	<b>81</b>
<i>Isolamento e identificação</i>	81
<i>Cultivo em ovos embrionados (COE)</i>	82
<i>Isolamento em cultivo celular (ICC)</i>	82
<i>Microscopia eletrônica (ME)</i>	84
<i>Isolamento em animais (aves SPF)</i>	84

<b>Diagnóstico sorológico</b>	<b>85</b>
<b>Objetivos principais para o uso de métodos sorológicos em uma população avícola</b>	<b>85</b>
<i>Tamanho da amostra</i>	86
<i>Número de aves a serem amostradas</i>	86
<i>Frequência de amostragem</i>	86
<b>Obtenção de amostras de soro para testes sorológicos</b>	<b>87</b>
<b>Deteção de anticorpos em diferentes tipos de métodos sorológicos</b>	<b>87</b>
<b>Principais métodos sorológicos utilizados em laboratórios de diagnósticos avícolas</b>	<b>87</b>
<b>Alguns erros freqüentes no uso e interpretação da sorologia</b>	<b>89</b>
<b>Interpretando os resultados dos métodos sorológicos</b>	<b>89</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>101</b>



# Capítulo 2.1 - Diagnóstico microbiológico e sorológico

**Carlos Henrique Carneiro Santos**

## Introdução

Este capítulo tem como objetivo abordar os métodos laboratoriais microbiológicos mais comumente empregados pelos laboratórios de diagnóstico avícola. Contem informações sobre os mais importantes métodos de diagnóstico utilizados para monitoria microbiológica em diagnósticos laboratoriais na indústria avícola.

A indústria avícola necessita, sempre, de rapidez e segurança na identificação dos seus problemas sanitários para tomada de decisões. O rápido e perfeito diagnóstico de qualquer doença avícola prevê uma seqüência de processos básicos, sem os quais o resultado final pode ser distorcido ou mal interpretado.

A expressão de qualquer doença infecciosa está correlacionada com pelo menos, três fatores importantes: virulência do organismo envolvido, nível de exposição ao agente e susceptibilidade do hospedeiro. Em uma população avícola, mesmo dentro de um mesmo lote, em uma mesma linhagem e idade, e sob as mesmas condições de alimentação e manejo, cada ave reage diferentemente, fazendo com que a morbidade (aquelas aves que apresentam sintomas clínicos) varie de lote para lote e de doença para doença. Em um mesmo momento, é possível encontrar aves com os vários estágios de uma mesma doença. O estágio agudo representa a fase em que é mais fácil isolar e identificar o agente infeccioso de uma determinada doença. Nessa fase, quase sempre, ele se encontra em grande quantidade e puro, sem contaminações secundárias. Por outro lado, após esse período, o isolamento de agentes infecciosos responsáveis por doenças torna-se cada vez mais difícil, algumas vezes, impossível.

O diagnóstico microbiológico deve ser sempre precedido de uma suspeita clínica, e o material enviado para diagnóstico deve ser o mais apropriado e representativo possível do caso suspeito. Mesmo assim, os achados microbiológicos por si só não confirmam o diagnóstico. É necessário correlacionar os dados laboratoriais com o histórico, anamnese, quadro clínico e achados de necropsia.

O melhor material para diagnóstico microbiológico são as aves vivas do mesmo lote suspeito, mostrando os vários estágios da doença e aves mortas refrigeradas, se houver, de preferência no estágio inicial da doença. As aves devem vir acompanhadas do histórico mais completo possível. Deve-se evitar enviar aves mortas congeladas ou em decomposição. Tecidos de órgãos também podem ser remetidos, preferencialmente refrigerados e sem conservantes químicos. Deve-se lembrar, que os agentes causadores de doenças tendem a desaparecer após a morte das aves e que os tecidos são invadidos por germes saprófitas que interferem, em muito, no diagnóstico microbiológico.

O diagnóstico laboratorial microbiológico compreende as seguintes áreas de atuação: diagnóstico bacteriológico, micológico, virológico, sorológico e biológico molecular.

## Diagnóstico bacteriológico e micológico

Em geral, o diagnóstico bacteriológico segue os seguintes passos, que muitas vezes são combinados na tentativa de aumentar a sensibilidade ou reduzir o tempo para a identificação do agente.

### Visualização direta

Os microrganismos são visualizados em preparações frescas, ou coradas, de tecidos, secreções, exsudatos, conteúdo intestinal, entre outros. Esse procedimento é muito utilizado para diagnóstico da coccidiose em preparações frescas de fezes ou raspado de mucosa intestinal. Para Aspergilose, Coriza Infecciosa, Cólera Aviária (aguda), *clostridioses* e Artrite Estafilocócica, a visualização microscópica de preparações coradas antecipa e auxilia no diagnóstico.

### Plaqueamento direto

Nesses casos, o material é coletado diretamente da lesão e passado sobre meios sólidos apropriados. Pode-se usar suabes estéreis ou alça de plaqueamento (platina, plástico descartável), quando as condições permitirem. A coleta deve ser feita o mais assepticamente possível. O material coletado e os meios de cultura utilizados variam de doença para doença. As placas são convenientemente incubadas no tempo e temperatura desejados.

A morfologia colonial, juntamente com visualização microscópica de esfregaços corados da cultura, permite antecipar o diagnóstico. Esse procedimento é particularmente indicado para diagnóstico das micoses, sendo muito útil e utilizado na maioria das doenças bacterianas das aves. Uma mesma placa de Petri com meio de cultura pode ser utilizada para plaqueamento direto de material de várias aves, ao mesmo tempo. A intensidade do crescimento também dá uma idéia do grau da infecção. Quando há contaminantes ou mais de uma colônia, considera-se aquela de crescimento mais intenso.

### Cultivo em caldo (direto, pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo)

Quando há a suspeita que o agente está em pequena quantidade ou injuriado, recomenda-se que o material seja inoculado em meios líquidos. Esse procedimento é chamado de cultivo direto em caldo, pré-enriquecimento ou enriquecimento seletivo.

Após o crescimento do microrganismo é sempre feito uma semeadura deste cultivo em meios sólidos para individualização e estudo das colônias.

É uma metodologia muito indicada para o isolamento dos micoplasmas aviários. Após o cultivo em meio líquido, é necessário que se faça a semeadura deste caldo em meio sólido para visualização das colônias características dos micoplasmas.

O procedimento mais utilizado para o isolamento e caracterização das Salmonelas em aves ou em

outros materiais oriundos da granja e incubatórios é a inoculação da amostra em um caldo peptonado (pré-enriquecimento) após um período de incubação no tempo e temperatura desejada, inocular novamente em caldos seletivos (enriquecimento seletivo). Os caldos de enriquecimento seletivos são utilizados para facilitar o crescimento de determinados microrganismos, sua formulação contém substâncias inibidoras de contaminantes paralelos ou contaminações secundárias. Posterior semeadura em meios sólidos seletivos para visualização e individualização das colônias de Salmonelas.

### Plaqueamento em meios sólidos eletivos

São meios muito utilizados para o crescimento e visualização de colônias de bactérias e fungos. Estes meios sólidos (ágar) são normalmente específicos e seletivos para cada espécie de microrganismos que esta sendo pesquisado. Eles favorecem e permitem diferenciar o crescimento do microrganismo em vários graus, inibindo o crescimento de bactérias indesejáveis e apresentam algumas informações importantes de uma ou mais características bioquímicas do microrganismo pesquisado, tais como, fermentação da lactose, produção de H<sub>2</sub>S.

### Métodos de coloração

A finalidade dos métodos de coloração é facilitar a visualização microscópica dos microrganismos e diferenciá-los de acordo com suas características tintoriais, forma, tamanho e arranjo.



Figura 1A - Colônias de *Salmonella* spp em XLT4 e em Ágar Verde hante (BGA).

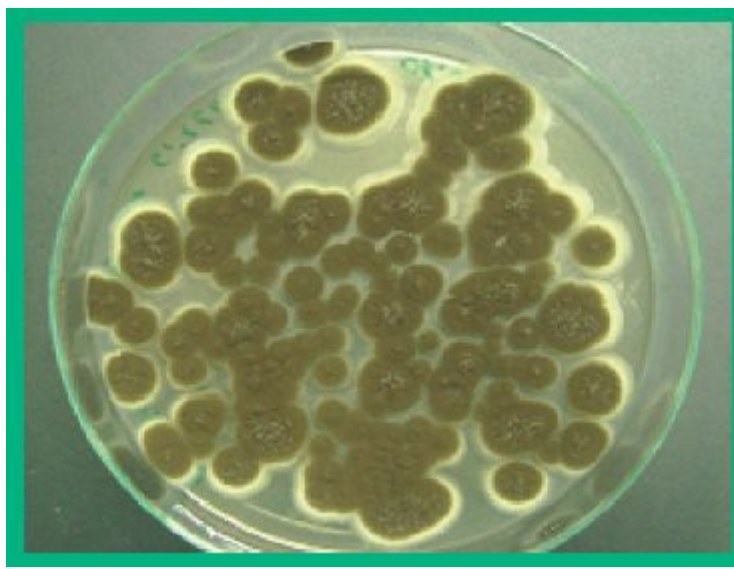


Figura 1B - Colônias de *Aspergillus* sp. em Ágar Sabouraud.



Figura 2 - Teste bioquímico preliminar para *Salmonella* spp.

Existem vários métodos de coloração, dentre os mais utilizados são os métodos de Gram, Giensa, Giens, Coopers, Ziehl-Neelsen, Wirtz- Conklin, Lactofenol Azul-Algodão.

### Caracterização da espécie (provas bio- químicas e antigênicas)

Uma vez tendo-se a colônia isolada, o procedimento usual para identificação é a realização de provas bioquímicas específicas. Cada microrganismo produz alterações nos meios em que se desenvolvem, decorrentes das suas atividades metabólicas, apresentando características bioquímicas particulares e específicas.

As provas bioquímicas consistem na verificação das transformações químicas que ocorrem num substrato pela ação de um determinado micror- ganismo. Estas provas são muito utilizadas como recurso auxiliar na identificação dos gêneros e espécies microbianas.

Como alguns testes bioquímicos identificam apenas genericamente, são necessários testes sorológicos (antigênicos) para concluir a tipificação, por exemplo, de *Salmonella*.

Na provas de caracterização antigênicas são utilizados anti-soros específicos somáticos (O) e flagelares (H) para uma sorotipificação precisa da espécie do microrganismo em estudo, por exemplo: *Salmonella*.

## Diagnóstico virológico

O diagnóstico de doenças virais por meio do isolamento e identificação do agente geralmente requer procedimentos laboriosos, caros e demorados. Por isso, muitas vezes, o diagnóstico de doenças virais é realizado por meio da pesquisa de anticorpos anti-virais específicos, devido à rapidez e menor custo.

### Isolamento e identificação

Apesar do desenvolvimento de técnicas modernas e sofisticadas de diagnóstico, a identificação vírus (viral) é feito por meio de seu isolamento em um sistema biológico (cultivo celular, ovo embrionado e animais). Sendo o método diagnóstico clássico. Como os vírus, freqüentemente, estão em pequenas quantidades no material clínico colhido a ser analisado sua inoculação em um sistema biológico susceptível permite a sua multiplicação e posterior identificação. Além disso, o isolamento do vírus a partir de material clínico permite que se obtenha o agente viável para ser utilizado em estudos posteriores. A maior restrição quanto à utilização do isolamento para diagnóstico virológico é o tempo necessário para obter-se o diagnóstico, podendo demorar várias semanas. Classicamente, três sistemas biológicos tem sido utilizados para o isolamento viral: inoculação em cultivo celular, ovos embrionados e animais.

### Cultivo em ovos embrionados (COE)

Ovos embrionados de galinha são muito apropriados para o cultivo de certos vírus. O embrião em desenvolvimento, com suas formações suplementares representa um meio de cultura ideal para multiplicação de vários vírus. Esse sistema tem sido muito utilizado para o isolamento e, também, para o cultivo de agentes virais de aves e mamíferos, bem como, para titulação de vacinas virais vivas.

A inoculação em ovos embrionados é o procedimento mais tradicional utilizado na tentativa de isolamento viral. O material de aves suspeitas de alguma doença viral é coletado, macerado, filtrado em gaze ou algodão e tratado com antibióticos para eliminação de contaminantes bacterianos e micóticos antes da inoculação. São utilizados ovos oriundos de aves SPF (livres de agentes patogênicos específicos - do inglês Specific Pathogen Free).

A idade dos embriões para inoculação varia em média de 05 a 12 dias, dependendo do vírus pesquisado.

A via de inoculação em ovos embrionados é escolhida de acordo com o agente viral que se suspeita. As vias de inoculação mais utilizadas são: membrana cório-alantóide, cavidade amniótica, gema ou saco vitelino e inoculação endovenosa. Portanto a via de inoculação, idade do ovo embrionado e tempo de incubação dependem do agente infeccioso pesquisado.

Tratando-se de material de campo, pode sofrer de três a quatro passagens cegas antes de ser

descartado como negativo. Chama-se passagem cega a coleta do líquido alantóide ou outro material do ovo embrionado, três dias após inoculação, e inoculação em um novo conjunto de ovos. São utilizados de três a cinco ovos por material, deixando-se alguns outros como controle de desenvolvimento embrionário.

Os efeitos da replicação viral nos ovos embrionados podem ser visualizados através de lesões nos anexos embrionários, tais como pontos de necrose, hemorragia, edema, espessamento da membrana corioalantoideana, podem ser achados sugestivos para vírus Borna Aviária, Doença de Marek, Doença de Gumboro, Reovirus; lesões no embrião tais como enrolamento, nanismo, hemorragias, ataxias, paralisia, distrofia muscular, encefalomalácea, fígado aumentado com pontos necróticos, rins com focos necróticos, mortalidade podem ser causados pelos vírus da Doença de Newcastle, Bronquite Infecciosa das Galinhas, Encefalomielite Aviária. Alguns vírus se multiplicam nos líquidos alantóide e amniótico, levando ao desencadeamento da hemaglutinação (H.A), sendo esta propriedade muito utilizada para detectar os vírus da Doença de Newcastle, Influenza Aviária e Síndrome da Queda de Postura (EDS).

A inibição dos efeitos embrionários com antisoros específicos (vírus-neutralização) é uma prova de identificação viral muito utilizada no diagnóstico laboratorial.

As principais vantagens desse método referem-se à boa sensibilidade, facilidade de manipulação, custo baixo e disponibilidade de matéria prima. As maiores desvantagens são o risco de contaminação ambiental em caso de acidente, contaminação com fungos e bactérias, restrito a alguns vírus que replicam em ovos.

### Isolamento em cultivo celular (ICC)

Cultura de células são rotineiramente usadas no diagnóstico laboratorial para o isolamento, identificação e propagação de vírus, coccídias, titulação de vacinas virais vivas e para detecção de anticorpos em testes de vírus neutralização.

O isolamento e identificação de vírus em cultivo celular continua sendo o método direto mais utilizado em diagnóstico virológico. É aplicável a quase todos os vírus de interesse veterinário (com raras exceções) e possui grande sensibilidade (capaz de detectar mínimas quantidades de vírus).

O material suspeito é inoculado em células animais cultivadas in vitro podendo ser células primárias ou células de linhagens pré-estabelecidas. A replicação do vírus é evidenciada pela produção de efeito citopático (CPE) ou pela detecção de proteínas ou ácidos nucleicos virais nas células infectadas. A escolha do tipo celular e o monitoramento do efeito citopático (ou detecção de produtos virais) são críticos para o sucesso da identificação do agente.

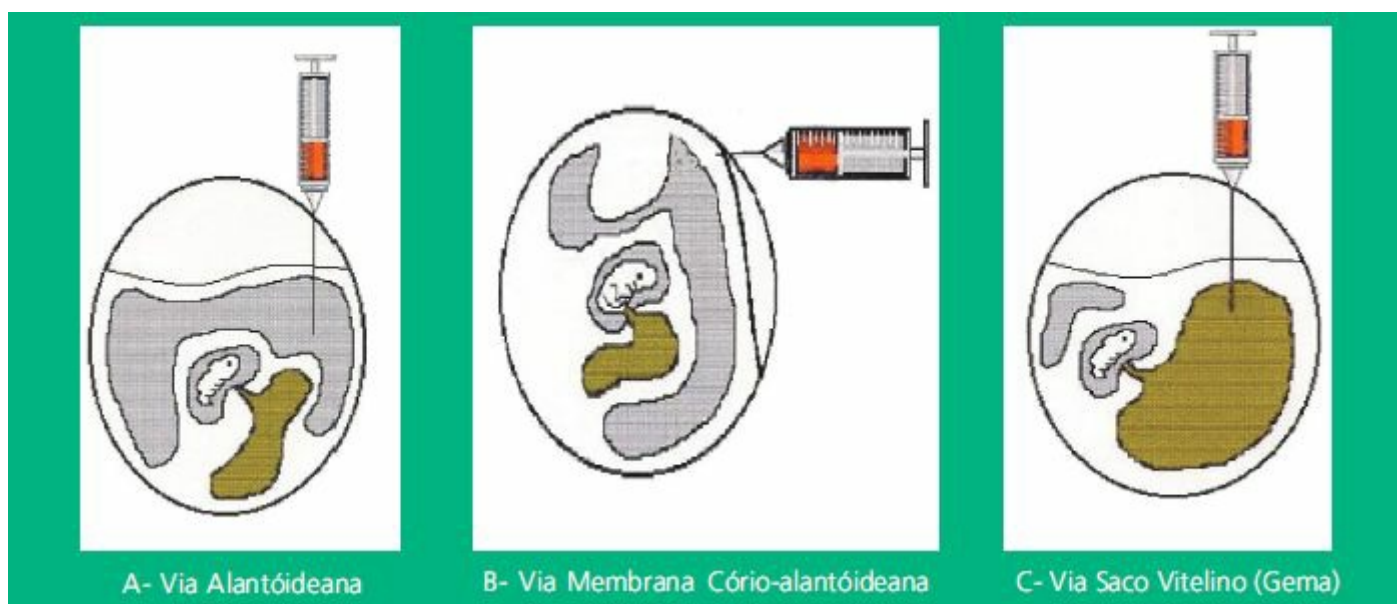


Figura 3 - Principais vias de inoculação em ovos embrionados.

O material enviado ao laboratório deve ser acompanhado de um histórico clínico e anamnese que permita a formulação de hipóteses sobre os possíveis vírus suspeitos. Com base nesse histórico e no conhecimento do virologista, é possível estabelecer qual(is) o(s) agente(s) suspeito(s). Isso facilita a tomada de decisão com relação ao tipo de célula e da técnica utilizada para a identificação.

Dentre as vantagens desse método destaca-se a universalidade (aplicável a quase todos os vírus), boa sensibilidade e simplicidade. Além disso, permite a obtenção e manutenção do vírus para estudos posteriores.

Existem dois tipos de células utilizadas para isolamento, identificação e multiplicação dos vírus.

**Células primárias:** geralmente utiliza-se células da mesma espécie da qual o animal é originário. Por exemplo, para isolamento do vírus da Doença de Gumboro, pode-se utilizar fibroblastos de embrião de galinha (CEF), células de rins (CEK ou CK) e células de fígado de embrião de galinha (CEL). As células primárias são as preferidas para o isolamento de vírus originário de material clínico. Em geral, essas células são mais sensíveis do que as linhagens celulares estabelecidas, ou seja, são capazes de detectar menores quantidades de vírus. Isso é devido ao fato de que as células primárias são mais semelhantes as células do hospedeiro.

Os cultivos de células primárias mais utilizadas são as de fibroblastos, de rins, fígado, linfócitos, coração, pulmão, intestino, tendão e gônadas de embrião de galinha, pato, etc.

**Células de linhagens:** são células heteroplóides, podendo ser subcultivadas indefinidamente, estas constituem as linhagens celulares pré-estabelecidas.

As células de linhagens são normalmente originárias de mamíferos, com poucas exceções de origem aviária. Devido a isso, alguns vírus aviários podem ter dificuldade, ou mesmo ser incapazes de replicar em algumas células de linhagem.

A dificuldade de replicação de vírus de campo em certas linhagens celulares pode ser compensada pela realização de várias passagens do material. Com isso, o vírus vai sendo

gradativamente amplificado até atingir uma certa quantidade que permita a sua identificação.

Os cultivos de células de linhagens mais utilizados são: QT35, MDCC-MSB1, DF-1, BHK, PK15, Vero, BGM-70.

A presença de vírus no material suspeito pode ser evidenciada pela produção de efeito citopático (CPE) ou por meio da detecção de produtos da replicação viral (proteínas ou ácidos nucleicos).

A replicação da maioria dos vírus em cultivo altera a fisiologia das células, ocasionando patologias que resultam em alterações na morfologia celular. Essas alterações podem ser identificadas pela observação ao microscópio ótico. As alterações morfológicas resultantes da replicação viral são chamadas genericamente de efeito citopático (CPE) ou citopatogênico. Os vírus que causam citopatologia são chamados de citopáticos (CPE) ou citopatogênicos e, os que causam morte (lise) celular são chamados de citolíticos.

A produção de efeito citopático após a inoculação do material suspeito é indicativo da presença de vírus no material. Em geral, cada família de vírus produz um tipo de efeito citopático característico, de forma que pode ser identificado com razoável segurança.

Monocamada celular integra    Monocamada celular com efeito citopático (CPE)a

Figura 4 - Monocamada de cultivos celulares (Células renais de embrião de galinha).

Os efeitos citopáticos mais freqüentes associados à replicação do vírus em cultivo celulares são o arredondamento celular, vacuolização, fusão celular, formação de sincícios (células gigantes multinucleadas), corpúsculos de inclusão, agrupamento de células, desprendimento do tapete e lise celular focal ou total. Como a velocidade de replicação varia com os diferentes vírus, a progressão do efeito citopático também é bastante variável.

Em alguns casos clínicos pode ter envolvimento de vários possíveis vírus suspeitos (ou mesmo nenhum suspeito), ou quando o efeito citopático não é facilmente reconhecido, ou ainda quando o efeito citopático produzido pode ser confundido com o de mais de um agente, deve-se identificar o vírus por outros métodos. Nesses casos, o monitoramento da multiplicação viral deve ser feito por métodos de detecção de antígenos, como microscopia eletrônica, inoculação em animais sensíveis (aves SPF), Imunofluorescência, Imunoperoxidase, Ágar Gel Precipitação, Soroneutralização com soro imune específico, hemaglutinação (HA) ou detecção de ácidos nucleicos (hibridização, PCR, etc).

### **Microscopia eletrônica (ME)**

A visualização direta de partículas virais em material clínico ou após a sua replicação em cultivo celular constitui-se em um dos métodos mais notáveis de diagnóstico de infecções virais.

Esse método é também muito útil na identificação de vírus que são de difícil (ou impossível) multiplicação em cultivo. A visualização das partículas virais permite a sua identificação de acordo com a morfologia e o tamanho dos vírions.

Dentre as vantagens do método, destacam-se a sua rapidez, possibilidade de reconhecimento da



morfologia viral (às vezes identificação da família e espécie do vírus) e detecção de vírus que já estão inviáveis no material clínico.

As maiores desvantagens referem-se a sua baixa sensibilidade, só detecta grandes quantidades de vírus, aproximadamente 10<sup>6</sup> partículas virais por mililitro de fluido ou por grama da matéria, aplicabilidade a apenas alguns vírus, equipamento caro e necessidade de pessoal altamente treinado.

A realização da microscopia eletrônica em cortes de tecidos de animais infectados também fornece informações sobre o local celular de replicação do vírus, fornecendo importantes informações sobre a patogenia das infecções virais.

O uso da microscopia eletrônica tem permitido identificar vírus que perderam sua infectividade quando o material foi submetido a condições adversas durante a coleta, armazenamento e transporte ao laboratório.

### Isolamento em animais (Aves SPF)

Com o advento dos sistemas de ovo embrionado e cultivo celular, a inoculação de animais (aves SPF) para o isolamento de vírus com fins diagnósticos foi gradativamente sendo substituída. No entanto, essa técnica ainda tem alguma utilidade, sobretudo como forma de confirmação de diagnósticos específicos, quando executada em paralelo à outras técnicas. Pela sua sensibilidade, a inoculação de animais susceptíveis ainda representa um meio eficiente de detecção de vários vírus em materiais suspeitos. Esse sistema é especialmente útil para a detecção de vírus que não replicam bem em cultivo celular e em ovos embrionados. No entanto, a demora na obtenção dos resultados, aliado ao alto custo e às dificuldades operacionais para a manutenção rotineira de animais para inoculação tem reduzido gradativamente a sua aplicação.

### Diagnóstico sorológico

A sorologia é uma metodologia laboratorial que visa o estudo e a mensuração das reações antígeno-anticorpo através do soro, após a exposição do hospedeiro a um determinado agente estranho, ou seja, a sorologia mede uma resposta específica do organismo frente a um antígeno específico.

A sorologia não é uma medida de proteção, e sim do complexo antígeno-anticorpo, embora exista uma boa correlação entre títulos sorológicos e proteção.

Os métodos sorológicos são ferramentas laboratoriais que têm crescido de importância na medicina aviária, uma vez que possibilita o diagnóstico de doenças e a monitoração do plantel avícola. Como tal é necessário entender os princípios nos quais se baseiam e suas limitações.

O uso ótimo dos testes sorológicos requer a definição dos seus objetivos, o conhecimento das enfermidades aviárias, das técnicas de imunodiagnóstico, a correta interpretação dos resultados e sua influência estatística.

Para quantificar e explicar a resposta sorológica são utilizados uma quantidade de expressões,

números, formulas matemáticas e estatísticas, que podem causar confusões, não expressando de uma forma objetiva e de fácil entendimento a situação atual, em que se encontra uma determinada população de aves em um determinado tempo e situação.

Para maximizar os benefícios da sorologia, as empresas devem fazer com que esta metodologia laboratorial seja parte integrante de um programa de medicina preventiva na industria avícola.

## Objetivos principais para o uso dos métodos sorológicos em uma população avícola

Os objetivos principais para o uso dos métodos sorológicos em uma população avícola são:

- Conhecer os níveis de anticorpos vacinais presentes em uma população de aves, estabelecendo parâmetros da normalidade sanitária de uma empresa, para a detecção de alterações nos níveis de proteção ou presença de desafios de campo.
- Conhecer os níveis dos anticorpos maternos.
- Detecção de doenças em uma população de aves (Vigilância Epidemiológica).
- Determinar a prevalência de doenças.
- Comprovar a eficácia das vacinações.
- Ajustar e elaborar programas de vacinações.

Após os objetivos estarem bem definidos é necessário entender alguns conceitos e definições para obter os reais benefícios da sorologia.

Conceitos de amostragem:

- Amostragem é o processo de coletar amostras em uma população.
- Amostra é qualquer parte ou unidade representativa de uma população. Deve ser constituída por elementos ou unidades selecionados de acordo com uma técnica conhecida. Existem diversas técnicas de amostragem, sendo as mais conhecidas a amostragem casual, amostragem sistemática e amostragem estratificada.
- A amostragem é baseada em duas premissas. Primeiro, a semelhança entre os elementos de uma população é tal que um certo número destes elementos representa adequadamente as características de toda a população. Segundo as discrepâncias entre os valores das variáveis da população (parâmetros) e os valores das mesmas variáveis obtidas das amostras (estatística) são minimizadas porque algumas das medições subestimam o valor do parâmetro enquanto outras o superestimam. Se a amostra foi adequadamente coletada (amostras representativas), as variações nestes valores tendem a contrabalançar e a anular a si mesmas, resultando em medições amostrais que geralmente são próximas a realidade daquelas da população.

O valor dos resultados dos testes sorológicos dependem em grande parte da qualidade do método de amostragem, da amostra e do tamanho da amostra. O Objetivo é obter um quadro da condição do lote que seja o mais representativo da situação real.

## Tamanho da amostra

O tamanho da amostra a ser coletada e testada deve ser estabelecido de acordo com a confiabilidade desejada e níveis de disseminação, prevalência ou taxa de incidência da doença.

Para tamanhos iguais de amostra, quanto mais alto o nível de confiança, maior a precisão. A precisão aumenta à medida que o número de elementos na amostra aumenta, mas o aumento no número de amostras não é proporcional a precisão dos dados.

Existem tabelas e fórmulas para procedimento de coletas das amostras onde estas contemplam o tamanho da população ou lote, níveis de confiabilidade (90%, 95% e 99%) e percentual de disseminação da doença a ser pesquisada (0,5% a 10,0%). Por exemplo:

- Tamanho do lote: 5.000 aves;
- Nível de disseminação/prevalência da doença: 2,0%;
- Nível de confiabilidade: 90%.

### Número de aves a serem amostradas

Uma outra maneira de obter o tamanho de uma amostra, considerando a disseminação (prevalência) da doença em uma população infinita (>3.000) para um programa de monitoria sorológica é a utilização da seguinte fórmula:

$$N = \log (1 - LC) \div \log (1 - P)$$

Onde:

**N** = Número de amostras;

**LC** = Limite de Confiabilidade;

**P** = Nível de disseminação ou prevalência da doença.

Exemplo:

- Tamanho do lote: 5.000 aves;
- Nível de disseminação/Prevalência da doença: 2,0%;
- Nível de confiabilidade: 90%.

$$N = \log (1 - 90\%) \div \log (1 - 2,0\%)$$

$$N = \log (1 - 0,90) \div \log (1 - 0,02)$$

$$N = \log 0,10 \div \log 0,98$$

$$N = 1 \div 0,0088$$

$$N = 113 \text{ amostras}$$

### Frequência da amostragem

A frequência da amostragem em uma população é de suma importância, pois em medicina preventiva, o objetivo é detectar uma doença o mais cedo possível com o maior nível de confiança.

Em um programa de monitoria para vacinações e de vigilância epidemiológica deve ser levado em conta o nível de biossegurança e tipo de criação utilizado pela empresa.

A definição do nível de confiabilidade, taxa de prevalência da doença, tamanho da amostragem e a frequência entre as coletas, devem ser definidas levando em conta diversos fatores como níveis genético, de produção e criação utilizado pela empresa.

As criações avícolas industriais possuem diversos níveis genéticos: aves puras, bisavós, avós, reprodutoras (matrizes), poedeiras e frango de corte.

**Tabela de Beal - Número de amostras a testar para se ter 90% de confiabilidade que a doença será detectada se presente, em ou acima dos 5 níveis de incidência ou contaminação.**

Tamanho do Lote ou População (N)	Níveis de Disseminação/Incidência (p)				
	10%	5%	2%	1%	0,5%
100	20	36	68	90	100
500	21	43	102	184	300
1.000	22	44	108	205	368
2.000	22	44	111	216	410
3.000	22	45	112	221	426
4.000	22	45	112	223	434
5.000	22	45	113	224	439
10.000	22	45	113	227	449
100.000	22	45	114	229	458
Infinito	22	45	114	229	459

As exigências sanitárias e níveis de biossegurança são diferentes, impondo diferentes metodologias de análises microbiológicas e sorológicas, tamanho da amostragem e frequência de coletas.

Para cada um destes níveis genéticos, deve-se desenhar um programa de monitoria laboratorial diferenciado, pois as exigências em sanidade também são diferentes.

A complexidade e o rigor de um programa de monitoria sorológica é maior de acordo com o tipo de estabelecimento avícola envolvido, pois na avicultura o poder multiplicador das reprodutoras é muito grande, afetando de forma direta o produto final de consumo.

Em uma granja de pedigree, todos os fatores relacionados à monitoria laboratorial são pontos críticos, pois a perda do material genético não tem preço e é irrecuperável. A negligência de um desses fatores (amostragem, frequência de coletas, testes sorológicos) que aparentemente podem não ter tanto valor, pode levar a uma grande perda genética.

## Obtenção de amostras de soro para testes sorológicos

As seguintes sugestões podem servir de ajuda para a obtenção de amostra de soro límpido e em quantidade suficiente para os procedimentos nos testes sorológicos.

1. Usar tubos de ensaio de vidro neutro ou plástico estéreis com capacidade de cerca de sete mililitros, banhados em uma solução de silicone de pureza farmacêutica.
2. Coletar o sangue até no máximo 1/3 da capacidade do tubo de ensaio.  
Os melhores locais para coleta de sangue em galinhas e perus são punção cardíaca, veia Jugular ou na veia principal da asa (veia Braquial). Em patos, a coleta de sangue pode ser feita na veia Safena.
3. Usar seringas, agulhas ou estiletes estéreis.
4. Após a coleta, deixar o sangue em repouso, na posição vertical ou horizontal, permitindo desta forma sua total coagulação.
5. Manter o sangue à temperatura ambiente ou a 37°C por um período de no mínimo quatro horas, para dessorar.
6. Levar os tubos contendo o sangue dessorado para uma temperatura entre 4°C a 8°C, facilitando desta forma, uma maior liberação do soro, por um período de no mínimo duas horas.
7. Coletar o soro em frasco estéril ou limpo, identificar e estocar a -20°C.

Existem outras técnicas de coletas de amostras de sangue para testes sorológicos:

- Coleta em tiras de papel de filtro, adsorver o sangue em tiras de papel de filtro, secar e quando do uso no laboratório reconstituir em solução salina fisiológica.
- Canudos de plástico inerte com diâmetro em torno de 40mm banhado em solução de Silicone.

## Deteção de anticorpos em diferentes tipos de métodos sorológicos

Principais tipos de imunoglobulinas detectáveis pelos principais métodos sorológicos utilizados em laboratórios de diagnóstico avícola:

Métodos sorológicos	Tipos de anticorpos
Inibição da Hemaglutinação (H.I)	IgG, IgM
Agar Gel Precipitação (A.G.P)	IgG, IgM
Soro Neutralização (S.N)	IgG, IgM
ELISA (E.I.A)	IgG, IgM
Imunofluorescência Indireta (I.F)	IgG, IgM
Aglutinação (T.A)	IgM, IgG
Fixação de Complemento (F.C)	IgM, IgG

## Principais métodos sorológicos utilizados em laboratórios de diagnósticos avícolas

Existe uma variedade de métodos sorológicos que podem ser utilizados para determinar o nível relativo de anticorpos presentes no soro, estas provas se baseiam nas interações antígeno-anticorpo. Os testes sorológicos pertencem a três categorias.

- **Testes de ligação Primária:** são os mais sensíveis em termos de quantidade de anticorpos detectáveis, medem diretamente a interação antígeno-anticorpo.
- **Testes de ligação Secundária:** medem as conseqüências das interações do complexo antígeno- anticorpo in vitro. Teoricamente estes testes são menos sensíveis que os testes de ligação primária, com exceção do teste de Soro Neutralização.
- **Testes de ligação Terciária:** são aqueles que medem as conseqüências da resposta imunitária in vivo. Estes testes terciários são usualmente menos sensíveis que os testes de ligação primária, mas refletem de modo mais apropriado as conseqüências praticas da resposta imunitária.

Os métodos sorológicos podem ser, ainda, classificados de acordo com a quantidade de moléculas que interagem e a forma como se observa tal interação.

- **Macrotécnica:** é quando numa reação ocorre a interação de grandes quantidades de moléculas de antígeno com anticorpos sendo possível a observação a olho desarmado. Por exemplo, reações de precipitação, de aglutinação, de imunodifusão, de hemaglutinação, de Inibição da hemaglutinação e soroneutralização.
- **Microtécnica:** em baixas concentrações essas moléculas interagem; porém, a resolução deste complexo antígeno - anticorpo só é evidenciada com o auxilio de técnicas colorimétricas ou com o uso de microscopia. Dentre as técnicas para detecção de pequenas quantidades destas interações as mais utilizadas são a imunofluorescência (IF), o ensaio imunoenzimático de adsorção em fase sólida (ELISA), soroneutralização (SN) ou vírus neutralização (VN) em cultura de tecido.

Os métodos sorológicos estão divididos em:

**Métodos qualitativos:** são aqueles que detectam a presença ou ausência de anticorpos, por exemplo a soroprecipitação rápida em placa, imunodifusão em ágar gel e imunofluorescência. Estas técnicas são muito importantes para a detecção de uma infecção ou para diagnósticos de doenças que não interessam o título de anticorpos. O resultado destas técnicas são expressos simplesmente como positivo ou negativo.

**Métodos quali-quantitativos:** são aqueles onde o título de anticorpos é medido. O título é expresso na máxima diluição em que se detectou a presença de anticorpos, não é um número absoluto. Normalmente, o título é expresso de acordo com o fator de diluição utilizado, ou no logaritmo correspondente. Por exemplo:  $10^{6,0}$  ( $6 \log_{10}$ ) ou  $2^{8,0}$  ( $8 \log_2$ ). Os testes mais conhecidos são a soroneutralização e a inibição da hemaglutinação.

**Métodos quantitativos:** os títulos dos anticorpos são expressos em números absolutos, pois utilizam apenas uma diluição de trabalho. Para facilitar a análise destes números estes são agrupados em grupos de títulos. Tem um comportamento semelhante aos métodos quali-quantitativos. A técnica mais conhecida é o teste de ELISA.

### Quantidades de anticorpos protéicos detectáveis por alguns métodos sorológicos.

Testes	Métodos sorológicos	Concentração de proteína/ $\mu\text{g.cm}^3$
Ligação primária	ELISA	0.0005
	Radioimunoensaio	0.00005
Ligação secundária ( <i>in vitro</i> )	Soro Neutralização (SN ou VN)	0.00005 0.005
	Inibição da Hemaglutinação (HI)	0.05 0.05
	Aglutinação (TA)	0.01
	Fixação de Complemento (FC)	30
	Hemaglutinação (HA)	
	Agar gel Precipitação (AGP)	
Ligação terciária ( <i>in vivo</i> )	Anafilaxia Cutânea Passiva	0.02

Para o uso ótimo das técnicas sorológicas temos que conhecer a precisão dos testes e o grau de confiabilidade dos mesmos. Outro fator importante nas provas diagnósticas é a repetibilidade do teste sorológico.

**Precisão:** é a propriedade do teste em definir uma amostra como positiva ou negativa e de expressar nos termos de sensibilidade e especificidade.

**Sensibilidade:** é a capacidade do teste em detectar mínimas quantidades de anticorpos em uma amostra. Em provas de alta sensibilidade se busca que não haja nenhuma amostra falso negativo, mas poderá haver amostras negativas que podem apresentar resultados falso positivos. Estas

provas são utilizadas para programas de erradicação ou controle severo de doenças ou em screening. O teste sorológico mais conhecido é o de aglutinação rápida em placa.

**Especificidade:** é a capacidade do teste sorológico de detectar anticorpos contra um único agente (Ag), não ocorrendo reações cruzadas ou falso positivas. Muitas vezes o teste sorológico mais específico não é o mais sensível, pois necessita de uma grande quantidade de anticorpos para que definam uma reação positiva.

**Confiabilidade:** é expressa nos valores preditivos.

- **Valor Preditivo Positivo (VPP):** é a probabilidade de uma amostra positiva estar realmente positiva, infectada.
- **Valor Preditivo Negativo (VPN):** é a probabilidade de uma amostra negativa não estar realmente infectada, ser negativa.

Considera-se um teste sorológico inespecífico quando uma grande quantidade dos resultados positivos são falsos, enquanto um teste é pouco sensível quando tem uma grande quantidade de resultados falsos negativos. Geralmente se admite que os testes sorológicos muitos sensíveis tendem ser, em termos relativos, pouco específicos e os mais específicos pouco sensíveis. É raro, que uma mesma prova cumpra os requisitos de sensibilidade e especificidade.

**Repetibilidade:** é a capacidade de um teste sorológico dar resultados constantes para a mesma amostra em provas repetidas.

## Alguns erros frequentes no uso e interpretação da sorologia

- Método de amostragem inadequado (Estatística).
- Quantidade de amostras insuficientes.
- Conservação e qualidade das amostras.
- Obtenção das amostras em época (idade) imprópria.
- Falta de amostras na etapa de convalescência, antes e após os sintomas.
- Desconsideração aos programas de vacinação e tipos de vacinas utilizadas.
- Falta de organização de dados de sorologia por idade e cronologia.
- Atenção aos títulos individuais em lugar de observar tendências.
- Tipo de teste sorológico utilizado.
- Inabilidade para se conduzir um teste sorológico.
- Sorologia como único recurso para o diagnóstico.

Existem nove grupos de testes sorológicos utilizados em sorologia aviária:

### 1- Teste da Aglutinação (TA)

O fenômeno da aglutinação foi descrito primeiramente por GRUBER e DURHAM no começo do século.

É um método sorológico utilizado para detecção de anticorpos específicos “aglutininas” presentes no sangue bruto ou no soro, pela formação de grumos (aglutinação) ou floculação do complexo



antígeno- anticorpo. A formação de grumos é considerada positiva, o que significa a presença de anticorpos para o antígeno utilizado.

Os anticorpos diferem em sua capacidade de promover a aglutinação, sendo as imunoglobulinas do tipo IgM consideradas mais eficientes que as IgG e IgA, devido a sua conformação pentamérica, na produção desta forma de reação.

O antígeno para o teste de aglutinação é constituído por uma suspensão de células (bactérias, micoplasmas, hemácias, entre outros). O fenômeno da aglutinação se observa através de determinantes naturais existentes à sua superfície (Aglutinação direta ou ativa) ou com partículas inertes (Latex, Colódio, Bentonita) artificialmente revestidas de um antígeno solúvel (Aglutinação indireta ou passiva). Em todas as formas o mecanismo da aglutinação é fundamentalmente o mesmo, ou seja, a formação de uma rede de moléculas de antígeno e anticorpo.

A união dos anticorpos com os determinantes antigênicos na superfície das células, vai formando agregados cada vez maiores, podendo ser observados a olho desarmado ou com auxílio de lentes.

A formação da rede de aglutinação ocorre apenas quando há uma zona de equivalência entre antígeno e anticorpo. Em situações de excesso de um ou de outro componente, a aglutinação é inibida, fenômeno este conhecido como *prozona*.

As reações de aglutinação podem ser realizadas de duas maneiras:

- **Aglutinação rápida em placa (ARP ou SAR):** é um teste quantitativo, sensível e de especificidade variável. É muito utilizado para checagem (screening) de determinadas enfermidades em uma população de aves ou ainda para classificação sorológica de bactérias. Normalmente os antígenos para este tipo de teste são corados para facilitar a leitura da reação de aglutinação.
- **Aglutinação lenta em tubo (ALT ou SAT) :** é correntemente utilizado em várias provas diagnósticas. Geralmente tomam-se diluições seriadas do soro, sobre as mesmas adiciona-se uma suspensão do antígeno padronizado. Após um período de incubação em temperatura adequada, procede-se a leitura, verificando-se a formação do aglutinado no fundo do tubo ou da microplaca (microtécnica). O período de incubação e a temperatura variam de sistema para sistema. O título do soro é dado pela recíproca da maior diluição do soro onde ocorreu uma completa aglutinação.

As técnicas de aglutinação são muito utilizadas em medicina aviária para diagnóstico das seguintes enfermidades: Pulorose, Micoplasmoses e Coriza Infeciosa Aviária.

## 2- Imunodifusão em ágar gel (AGP):

É uma técnica sorológica utilizada freqüentemente em medicina veterinária para demonstrar e analisar a reação antígeno-anticorpo, de boa precisão, procedimento simples e custo relativamente baixo.

Antígeno-anticorpo como uma linha de precipitação, onde o antígeno é chamado de precipitínógeno e o anticorpo de precipitina, reação que ocorre em um meio de difusão semi-

sólido, tal como o ágar ou agarose.

A técnica normalmente utilizada nos laboratórios de diagnóstico avícola é a de difusão dupla, método de OUCHTERLONY e ELEK, onde o antígeno e o anticorpo se difundem livremente através de um meio semi-sólido em posição horizontal, em uma placa de Petri ou lâmina um contra o outro. A formação de complexos antígeno-anticorpo depende da concentração de íons do meio semi-sólido, pH e temperatura. Os determinantes mais importantes da reação são as concentrações relativas de antígenos e anticorpos.

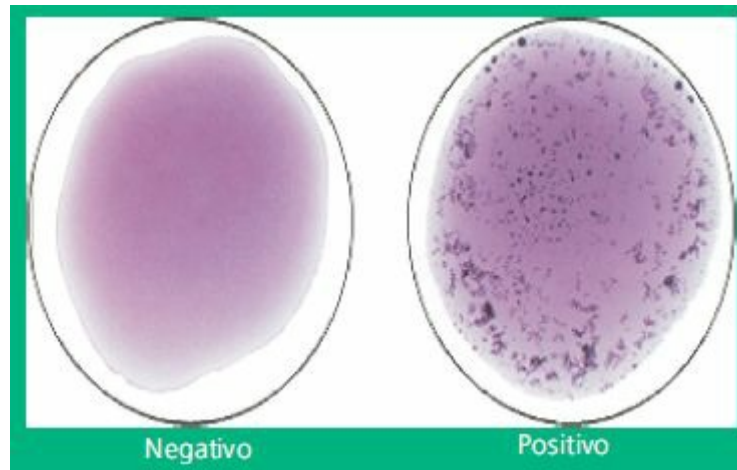


Figura 1A - Aglutinação Rápida em Placa (ARP/SAR).

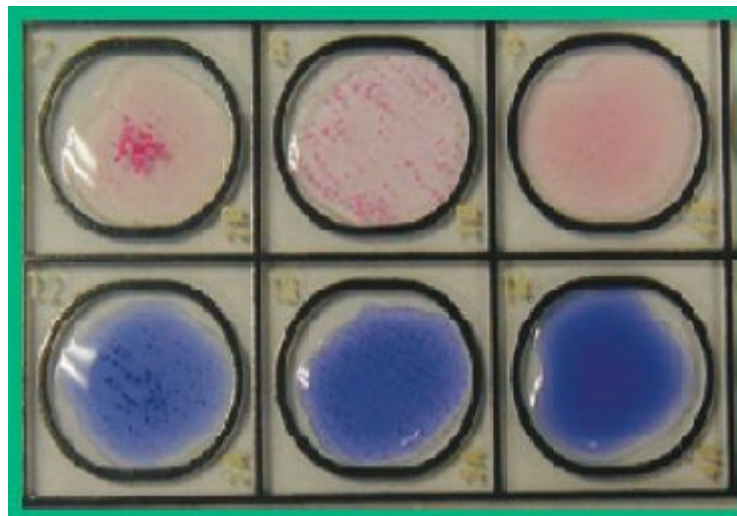


Figura 1B - Aglutinação Rápida em Placa (ARP/SAR).

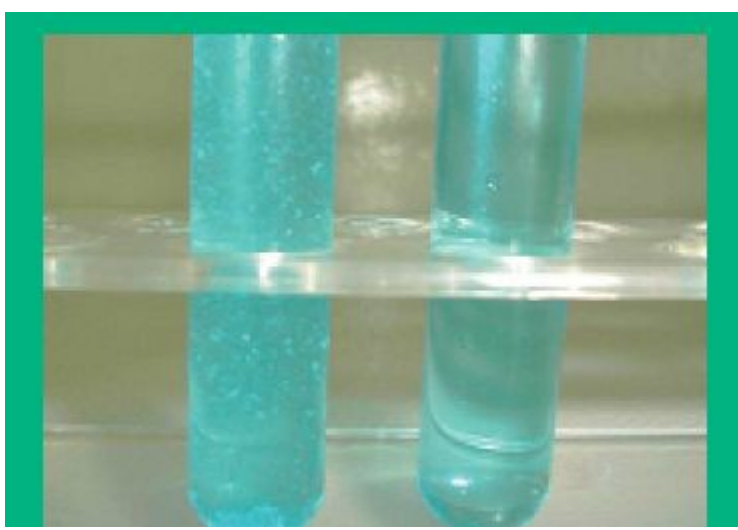


Figura 2 - Aglutinação Lenta em Tubo (ALT/SAT).

Este método consiste em colocar frente a frente em pequenas perfurações, efetuadas no gel de ágar, as soluções de antígenos e anticorpos. Ao difundir, entram em contato, produzindo uma linha ou banda de precipitação quando se encontram em concentrações adequadas. Se esta concentração é a que corresponde a zona de equivalência, a banda de precipitação estará situada aproximadamente na distância média que separa as perfurações. Quando existir excesso de antígenos ou de anticorpos, a banda de precipitação formada estará próxima da perfuração dos anticorpos ou dos antígenos, respectivamente.

Neste sistema pode-se identificar as bandas de precipitação mediante o emprego simultâneo de anticorpos e antígenos conhecidos. De onde se pode observar três tipos de reação.

- **Reação de identidade:** os dois sistemas difundem uma única banda de precipitação.
- **Reação de não identidade:** cada sistema reage independentemente, dando origem a bandas que se cruzam.
- **Reação de identidade parcial com formação de esporão:** onde em dois soros há anticorpos ausentes num deles, mas mesmo assim possuem anticorpos comuns.

O alto poder de resolução dos sistemas antigênicos e, especialmente, a simplicidade de sua realização, transformaram o método de dupla difusão em placas ou lâminas, no método ideal para o estudo dos sistemas antigênicos, além de permitir investigar a natureza química dos antígenos, comparando-os contra o imuno-soro adequado, tornando possível averiguar a semelhança estrutural de moléculas antigênicas.

As vantagens desta técnica sorológica são numerosas, podendo um técnico de laboratório identificar agentes infecciosos e anticorpos muito facilmente com reagentes de referência.

Além da imunodifusão detectar anticorpos presentes no soro de aves, pode-se utilizar também como fonte de anticorpos a gema de ovos. A gema deve receber tratamento para retirada da gordura e separação dos anticorpos presentes.

A imunodifusão tem inúmeras vantagens, mas oferece pouca sensibilidade em relação a outros testes sorológicos, perde em habilidade para quantificar níveis de anticorpos.

Este teste sorológico detecta principalmente os anticorpos IgM e IgG.

O teste de Imunodifusão em ágar gel é muito utilizado para várias enfermidades avícolas, tais como Doença de Marek, Doença Infecciosa da Bursa, Influenza Aviária, Reovirus, Varíola Aviária, Encefalomielite Aviária, Bronquite Infecciosa das Galinhas, Doença de Newcastle, Micoplasmas.

### 3- Inibição da hemaglutinação (HI):

Alguns vírus possuem em sua superfície estruturas capazes de se combinar com receptores específicos, presentes nas hemácias de determinadas espécies e produzir o fenômeno de hemaglutinação (H.A), tais estruturas, denominadas hemaglutininas, constituem-se usualmente de glicoproteínas.

O acoplamento da hemaglutinina com o receptor na membrana da hemácia de uma dada espécie animal é regido, além da especificidade estrutural, por fatores como pH, concentração e composição iônica do meio, temperatura.

Nos Mixovirus (Ortomixovirus e Paramixovírus), onde o mecanismo da hemaglutinação é bastante estudado, a hemaglutinina é uma glicoproteína que protraí do envelope viral e apresenta afinidade por receptores mucopolisacarídicos da membrana da hemácia. A fração ligante do receptor eritrocitário constitui-se de resíduos terminais de ácido N- acetilneuraminico (NANA).

Nos Ortomixovirus uma outra glicoproteína do envelope viral corta enzimaticamente os resíduos de NANA terminais dos receptores. Dessa forma é possível obter-se hemaglutinação à temperatura de 4°C, quando a atividade da enzima é muito reduzida e posteriormente promover a eluição do vírus já adsorvido à hemácia pela simples elevação da temperatura a 37°C e conseqüentemente destruição da fração ligante dos receptores pela atividade da neuraminidase viral. Uma vez destruídos os receptores eritrocitários pela neuraminidase, o fenômeno de H.A com esse vírus não pode mais ser observado e as hemácias são ditas estabilizadas.

Nos Paramixovirus a atividade neuraminidase reside na mesma molécula que produz a hemaglutinação.

O mecanismo intrínseco da hemaglutinação dos diferentes vírus hemaglutinantes não é tão conhecido como para os mixovirus.

Em certos vírus hemaglutinantes, embora observe-se eluição com o elevar da temperatura, os receptores das hemácias não são destruídos sugerindo a ausência de um mecanismo enzimático.

Alguns agentes infecciosos aviários têm como propriedade aglutinar hemácias de mamíferos e de aves, os anticorpos dirigidos contra estes agentes podem inibir esta hemaglutinação. Os agentes mais comuns em medicina avícola com esta propriedade são o vírus da Doença de Newcastle, vírus da Influenza Aviária, Adenovírus 127 e vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas após concentração e tratamento por enzimas e bactérias como *Avibacterium paragallinarum* e diversas espécies de Micoplasmas.

Ao contrário da reação de hemaglutinação (HA), que simplesmente revela uma atividade

biológica do agente, a reação de inibição da hemaglutinação (HI) é um fenômeno que pode ser empregado como método para identificação de um agente específico ou para medir os níveis de anticorpos séricos.

O teste de inibição da hema- glutinação (HI) é um método conveniente e econômico que tem sido extensivamente empregado no controle de diversas enfermidades aviárias, tais como Doença de Newcastle, Influenza Aviária, Bronquite Infecciosa das Galinhas, Micoplasmoses por mensuração da resposta vacinal ou evidência de contato com o agente infeccioso.

O teste de inibição da hema- glutinação (HI) é um prova sorológica quantitativa, qualitativa, sensível e específica, medindo principalmente as imunoglobulinas do tipo IgG.

Dois métodos para o teste da inibição da hemaglutinação (HI) podem ser realizados:

**Método Beta (vírus constante versus soro diluído):** é o método de eleição para titulação de anticorpos em um soro, onde a quantidade de vírus hemaglutinante é constante e a quantidade do soro teste sofre diluições seriadas. Inicialmente é necessário titular a suspensão antigênica para determinar sua atividade hemaglutinante, sendo comum empregar quatro ou oito unidades hemaglutinantes em um teste. Após a mistura da suspensão antigênica ao soro, deixar em repouso durante um intervalo de tempo padrão, a uma temperatura padrão, antes da adição de uma suspensão de hemácias padronizadas. O resultado numérico do teste de HI é a recíproca da mais alta diluição do soro onde houve completa inibição da hemaglutinação e não multiplicado pelo número de unidades hemaglutinantes utilizado no teste como foi sugerido no passado.

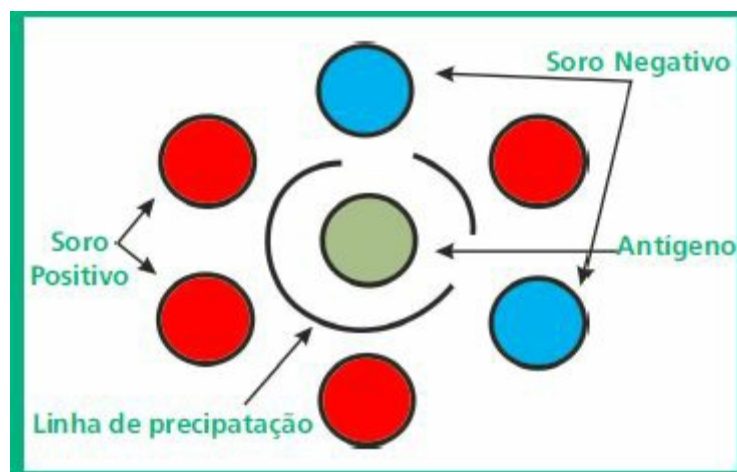


Figura 3A - Imunodifusão em Ágar Gel (AGP).

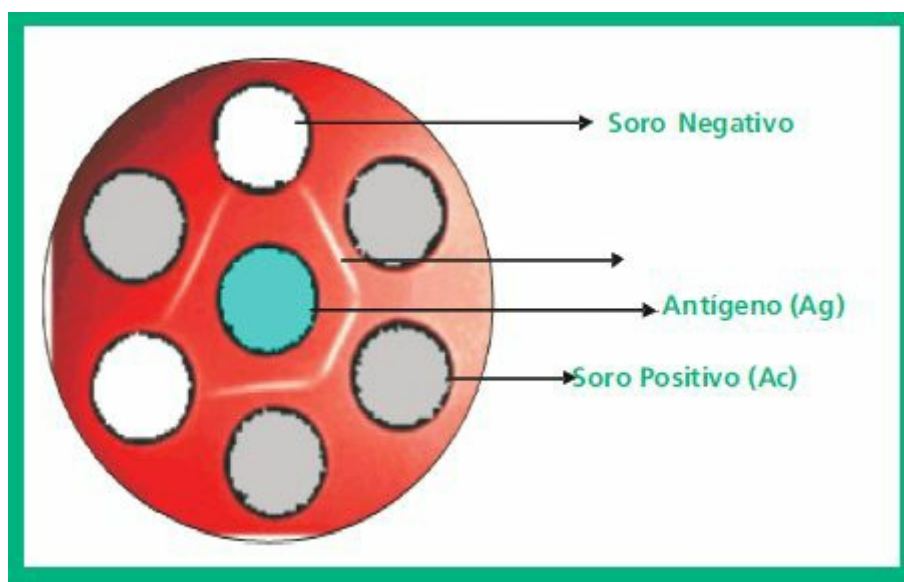


Figura 3B - Imunodifusão em Ágar Gel (AGP).

Muitas variáveis além da concentração do antígeno de hemaglutinação (HA) usado podem interferir no resultado do teste de HI. Estas variáveis incluem a concentração da suspensão de hemácias, concentração do antígeno de HA, o tempo entre a mistura do soro mais antígeno e adição da suspensão de hemácias, soros com presença de aglutininas, pH dos reagentes, concentração e composição iônica dos reagentes, temperatura e o critério utilizado para leitura.

Um exemplo da ação da temperatura sobre o teste de HI é que quando se trabalha a 37°C, a atividade do antígeno HA deve ser estável a esta temperatura, porque o antígeno degrada levando a falso aumento de título de HI.

A concentração de antígeno de H.A usado no teste de HI indubitavelmente tem uma influência no resultado final, mas diferenças pequenas no número de unidades de HA pode induzir um efeito mínimo sobre o título de HI no soro testado. Geralmente, aumento da concentração do antígeno resulta em diminuição da sensibilidade e decréscimo na concentração do antígeno resulta em aumento de sensibilidade.

- **Método alfa (vírus diluído versus soro constante):** a diluição do vírus e o soro são misturadas e incubada a temperatura ambiente por dez minutos antes da adição da suspensão de hemácias. A incubação e leitura são feitas de acordo com a mesma técnica do teste de hemaglutinação. Deve ser feito, em conjunto, o teste de hemaglutinação do antígeno para que o seu título seja comparado com o título da mistura soro mais antígeno. Este método tem sido descontinuado pela maioria dos laboratórios avícolas.

Por um determinado período as provas de hemaglutinação (H.A) e inibição da hemaglutinação eram feitas em macrotécnica, ou seja, utilizando tubos de ensaio, pipetas sorológicas etc, a partir de 1963 o Dr. TAKATSY, na Hungria, desenvolveu uma microtécnica para realização das reações sorológicas, demonstrando simplicidade e rapidez na execução para o ensaio das reações de HA e HI. Desde então esta técnica tem sido empregado pela maioria dos laboratórios avícolas.

O teste de inibição da hemaglutinação (HI) tem sido utilizado para diagnóstico e monitoração de diversas enfermidades aviárias, tais como Coriza Infecciosa, Doença de Newcastle, Bronquite Infecciosa, Síndrome da Queda de Postura (E.D.S-127), Influenza Aviária, Micolasmas etc.

#### 4- Soroneutralização e vírus neutralização (SN/VN)

Os testes de neutralização são utilizados para identificação viral, para determinar a relação antigênica de diferentes isolados virais e a identificação e quantificação de anticorpos.

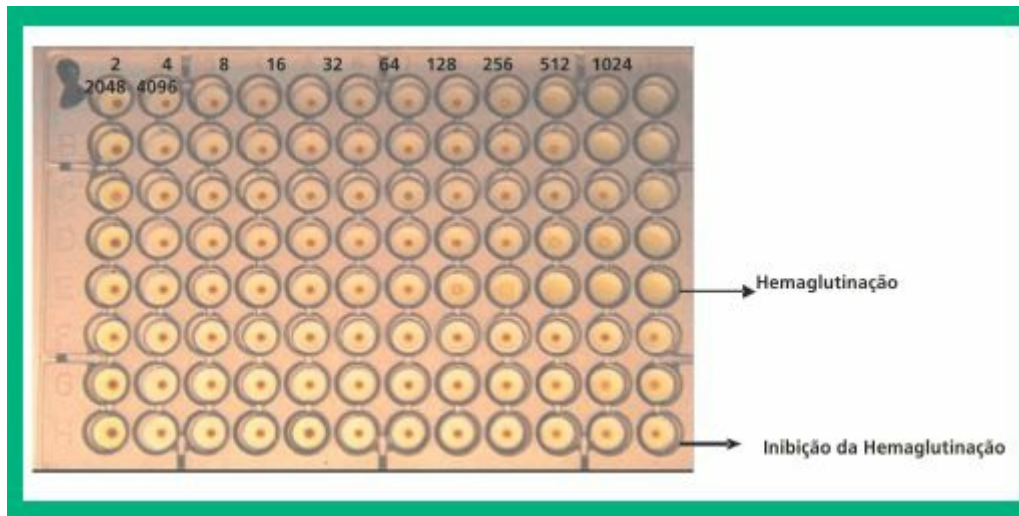


Figura 4B - Inibição da Hemaglutinação (HI).

Os ensaios de neutralização são baseados no princípio de que o anticorpo viral liga-se a um vírus específico com uma resultante neutralização da infectividade ou ação viral sobre um determinado substrato. Os testes de vírus neutralização podem utilizar como ensaio a infectividade viral *in vitro*. Estes ensaios podem incluir a inibição de formação de placas, efeito citopático (CPE), inibição metabólica e hemadsorção, enquanto que *in vivo* pode-se utilizar a incubação de antiseros específicos com vírus infeccioso antes de desafiar animais de laboratório ou por administração de antiseros seguido da infecção viral, chamado de teste de proteção (IP).

O emprego de cultura celular em teste de neutralização é adequado para vírus que produzam efeitos citopáticos (CEP) característicos.

Certos vírus têm como características a hemadsorção de eritrócitos. Esta técnica pode ser utilizada para identificação de células infectadas. Alguns vírus são capazes de induzir o desenvolvimento de hemaglutininas na superfície de células infectadas na cultura de tecidos. Como consequência, se adicionarmos uma suspensão de eritrócitos a esta cultura pode-se observar a aderência dos eritrócitos às células infectadas.

O método de inibição da hemadsorção pode ser usado como uma indicação de neutralização de vírus, quando este não produz efeito citopático visível. Muitos vírus hemadsorventes são também hemaglutinantes, no entanto isto não é uma relação absoluta. Ambas as reações podem ser inibidas por exposição do vírus contra o anticorpo específico.

A inibição da formação ou redução de placas é uma técnica que permite medir a citopatogenicidade viral, onde uma monocamada celular confluenta é infectada por diluições seriadas de um vírus antes de ser coberta por uma camada de ágar. Devido a presença do ágar as partículas virais não são capazes de difundir por toda a monocamada celular, mas são capazes de infectar as células vizinhas, desenvolvendo áreas de citólise reveladas com formação de placas na monocamada celular. O número de placas vai depender do número de partículas infecciosas

adicionadas à cultura de células. Portanto, um anti-soro específico neutraliza o vírus, reduzindo a quantidade de placas na monocamada celular.

Na técnica de inibição metabólica usa-se a mudança do pH que ocorre em cultura de células, por exemplo, células normais metabolizam ativamente o meio de cultura, produzindo ácido que altera a cor do corante indicador presente no meio cultura celular para ácido. Ao passo que em células infectadas, o meio de cultura celular não altera a sua cor ou se torna alcalino como resultado do acúmulo de produtos de degradação celular. Esta característica é empregada para determinar a presença ou ausência de células infectadas.

Os testes de neutralização medem a capacidade do anticorpo quando, misturado com o antígeno in vitro ou in vivo neutralizar sua atividade biológica e medir os níveis de anticorpos séricos.

Como método de diagnóstico e pesquisa, o teste de soroneutralização é muito utilizado em medicina aviária. É comumente empregado em virologia para a identificação de vírus, diferenciação entre cepas virais ou para medir de maneira qualitativa e quantitativa o nível de anticorpos específicos presentes em um soro. Os testes de neutralização são altamente específicos e extremamente sensíveis. Esta técnica detecta principalmente os anticorpos do tipo IgG e IgM.

Para sua condução utiliza-se substratos vivos, tais como, ovos embrionados, cultura de células e animais de laboratório.

Nos testes de soroneutralização a suspensão viral deve ser titulada para que sua infectividade seja conhecida frente ao substrato que deseja utilizar. Para medir sua dose infecciosa (I.D 50%) em animais e ovos embrionados, ou dose infecciosa em cultura de tecido (T.C.I.D 50%). As cepas de vírus devem ter altos títulos, estar adaptadas ao substrato utilizado. A suspensão viral deve conter apenas uma cepa do vírus, ou seja, deve ser monovalente, deve ser clonada e purificada para diminuir a presença de vírus defectivos na suspensão titulada, ser livre de bactérias, fungos e micoplasmas. O estoque de vírus deve ser mantido em pequenas alíquotas e armazenadas em temperaturas abaixo de  $-70^{\circ}\text{C}$ .

O soro utilizado para o teste de soroneutralização deve ser estéril, livre de preservativos químicos, e aquecidos a  $56^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos para destruir substâncias inibidoras não específicas e o complemento existentes em alguns soros. Antisoros podem ser padronizados para identificação de vírus desconhecidos, estes devem ser produzidos em aves S.P.F ou ser de origem monoclonal.

Dada uma suspensão viral com título infeccioso conhecido, é possível medir a atividade neutralizadora de um soro por meio de dois métodos, a seguir:

**Método Alfa: soro constante versus vírus diluído**, é um método mais utilizado para diagnóstico este método foi muito utilizado como padrão por CUNNINGHAM.

Este procedimento é ideal para identificação de vírus, principalmente as diferentes cepas virais da Bronquite Infecciosa das Galinhas.

Diluições seriadas da suspensão viral é misturada com o soro, a mistura soro e vírus é incubada por determinado tempo e então adicionado o substrato. Após um período de tempo padronizado



para o final do teste, pode-se quantificar o índice neutralizante (I.N) que é a diferença entre título do vírus e da mistura vírus e soro.

**Método Beta: soro diluído versus vírus constante**, segundo FAZEKAS e colaboradores esta é a técnica mais adequada para mensuração dos níveis de anticorpos séricos, por isso é largamente utilizado em laboratórios de diagnóstico avícola, pois permite medir o título neutralizante de um soro, expressando-o em título de anticorpos.

O resultado final é dado como o título de anticorpo que é a recíproca da diluição mais alta em que ocorreu a neutralização total do agente.

Exemplo: Diluição 1: 1000, Título de anticorpos 1000.

É muito utilizado para o diagnóstico e monitoração da Doença de Gumboro, Bronquite Infecciosa, *Reovírus*, Adenovírus, Encefalomielite Aviária.

## **5- Ensaio imunoenzimático de absorção em fase sólida (ELISA)**

A palavra ELISA é oriunda das siglas em inglês, Enzyme-linked Immunosorbent Assay, que quer dizer prova de Ensaio imunoenzimático de absorção em fase sólida.

O teste de ELISA foi desenvolvido por volta dos anos setenta por ENGVALL e PERLMANN e VAN WEEMAN e SCHUURS, primeiramente foi usado em medicina humana e mais recentemente tem sido empregado para diagnóstico de inúmeras enfermidades de mamíferos e de aves, incluindo vírus, bactérias, micoplasmas, parasitas, micotoxinas, detecção de drogas, hormônios, proteínas.

Esta técnica sofreu enormes avanços durante os últimos anos. É um sistema que tem sido utilizado rotineiramente em medicina aviária, tornando-se um procedimento laboratorial de escolha para monitoria de anticorpos e antígenos em populações avícolas. A técnica é simples, específica, sensível, rápida e automatizada, permite trabalhar com uma grande quantidade de amostras ao mesmo tempo.

ELISA é uma reação sorológica que se baseia no uso de antígenos e anticorpos marcados com enzimas, em que o complexo resultante possui atividade imunológica e enzimática. Por possuir um dos seus componentes (antígeno ou anticorpo) marcados com uma enzima e ligado a um suporte imunoabsorvente, o complexo formado torna-se imobilizado. Desta forma com a adição de um substrato cromogênico específico à enzima, ocorrerá o desenvolvimento da revelação sob a forma de cor. O produto colorimétrico formado pode ser visualizado e ou mensurado com o auxílio de fotolorímetro ou um espectrofotômetro.

O teste de ELISA detecta e mensura, principalmente, as imunoglobulinas do tipo IgG e IgM, podendo detectar quantidades muito pequenas de anticorpos.

Os principais tipos de ELISA são classificados de acordo com o reagente marcado e pela sua aplicação:

O tipo do teste mais utilizado em laboratórios de diagnóstico avícolas é o ELISA indireto para

detecção de anticorpos. Neste tipo de teste usa-se microplacas de plásticos especiais com 96 orifícios absorvidas com antígenos específicos nas paredes dos orifícios da microplaca.

Ao adicionar o soro previamente diluído, este se une ao antígeno presente no orifício da microplaca, formando o complexo antígeno-anticorpo, permanecendo aderido a placa mesmo após lavagem. Quando a amostra do soro não contém anticorpos específicos, este é eliminado durante a lavagem. Após a etapa de lavagem adiciona-se o conjugado, que é uma antiglobulina (anti-espécie) ligada a uma enzima, tal como Horseradish peroxidase, B-galactosidase, entre outras.

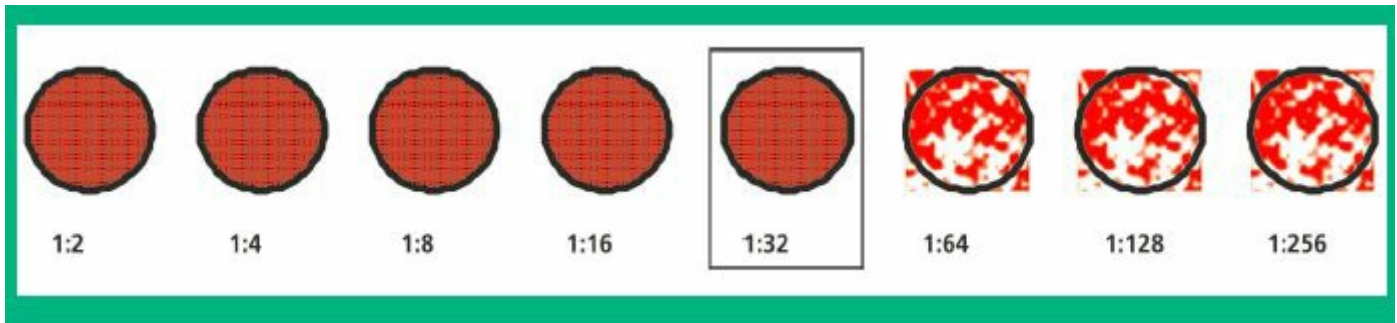


Figura 5 - Soro Neutralização (SN). 100% de Neutralização.

Reagente marcado	Tipos de Elisa
<b>A- ANTICORPO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Direto</li> <li>• Indireto</li> <li>• Sandwich de duplo anticorpo</li> <li>• Sandwich indireto de duplo anticorpo</li> </ul>
<b>B- ANTÍGENO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Direto</li> <li>• Competitivo</li> </ul>
Aplicação	Tipos de Elisa
<b>A- Detecção e quantificação de antígeno</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Direto</li> <li>• Indireto</li> <li>• Sandwich de duplo anticorpo</li> <li>• Sandwich indireto de duplo anticorpo</li> <li>• Competitivo</li> </ul>
<b>B- Detecção e quantificação de anticorpos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Indireto</li> <li>• Sandwich indireto de duplo anticorpo</li> </ul>

Ao adicionar o conjugado, este se une ao complexo antígeno-anticorpo. Em caso de soro negativo, o conjugado não se une ao complexo antígeno-anticorpo, pois este não existe, por este motivo é eliminado na lavagem.

Ao complexo antígeno-anticorpo-conjugado é adicionado um substrato cromogênico, substância esta que reage com a enzima presente no conjugado, dando origem a um produto que produz cor.

A intensidade da cor dependerá da quantidade de anticorpos presentes no soro, sendo a cor mais intensa quanto maior for a quantidade de anticorpos, ou seja, maior o número de complexos antígeno-anticorpo-conjugado que reagir com o substrato.

A intensidade de cor pode ser detectada visualmente e medida por meio de um fotolorímetro ou um espectrofotômetro, que converte a densidade ótica ou a porcentagem de transmissão de luz em uma escala quantitativa que conhecemos como título.

Os títulos de cada amostra de soro se agrupam por lotes de aves, idade, linhagem e geralmente os resultados são expressos como média aritmética ou geométrica, podendo ser representados por expressões gráficas, tais como histogramas, onde os títulos são apresentados individualmente para facilitar a interpretação dos resultados.

As informações obtidas por meio dos resultados dos testes de ELISA tem sido muito úteis para determinar o perfil sorológico de uma população avícola bem como na monitoração epidemiológica da maioria das doenças avícolas, de uma maneira rápida, enquanto que no passado era necessário muito tempo e diferentes tipos de testes sorológicos.

O teste de ELISA é empregado para as seguintes doenças aviárias: Doença de Gumboro, Doença de Newcastle, Reovirus, Bronquite Infecciosa das galinhas, Micoplasmas, *Salmonellas*, Síndrome da Queda de Postura, Encefalomielite Aviária, Leucose Aviária, Anemia Infecciosa das Galinhas.

## 6- Imunofluorescência (IF)

Técnica de evidênciação da reação antígeno- anticorpo, por meio da conjugação de um dos reagentes com substâncias fluorescentes, fazendo-se uso de um microscópio de fluorescência para visualização.

Estas substâncias orgânicas (Isotiocianato de fluoresceína (FIT), Rodamina) chamadas fluorocromos, têm propriedades de emitir luz de comprimento de onda maior que a luz incidente.

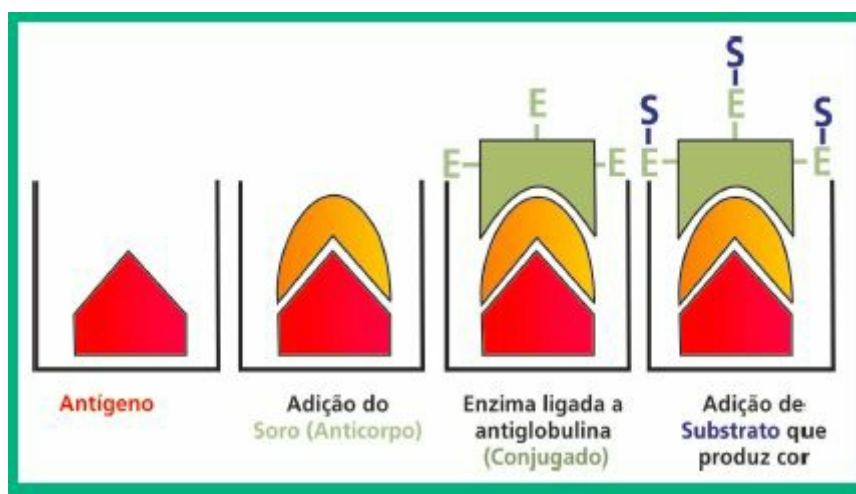


Figura 6A - Elisa.

Albert H. Coons e seus colaboradores estabeleceram os princípios do método de fluorescência de anticorpos e suas aplicações na medicina e pesquisa.

A imunofluorescência é um método de detecção de constituintes celulares ou de anticorpos séricos e celulares. As moléculas, em geral absorvem energia luminosa diferentemente umas das outras, segundo a sua natureza. Tal absorção seletiva de energia de diferentes comprimentos de onda traduz-se nas cores dos objetos. Algumas substâncias tem propriedades de armazenar energia luminosa e de liberá-la, posteriormente, ainda como energia luminosa.

O método de imunofluorescência tem tido muitas aplicações em laboratórios de diagnóstico avícola. As seguintes técnicas mais utilizadas são:

- **Técnica direta:** é muito utilizada para identificar a presença de antígenos (vírus, bactérias).

Técnica na qual anticorpos específicos marcados com um fluorocromo se combina com o antígeno correspondente, formando complexos fluorescentes, portanto, identificáveis quando examinados sob condições adequadas de iluminação.

O anticorpo marcado com o fluorocromo reage com o antígeno homólogo, ou seja, esta técnica requer para identificação, um anticorpo específico marcado para cada tipo de agente etiológico. A imunofluorescência direta é empregada, principalmente, para demonstração do antígeno em tecidos celulares, células, secreções.

A técnica direta é muito específica, apresentando menos fluorescência inespecífica (ruídos de fundo) do que a técnica indireta.

- **Técnica indireta:** é utilizada para evidenciação de reações antígeno-anticorpo, utilizando conjugados com afinidade, não pelos antígenos, como no técnica direta, mas por outro elemento da reação como o complemento e principalmente os anticorpos.

A técnica indireta é mais sensível que a técnica direta, sendo utilizada para detectar anticorpos ou para caracterização de um antígeno a partir de um soro conhecido.

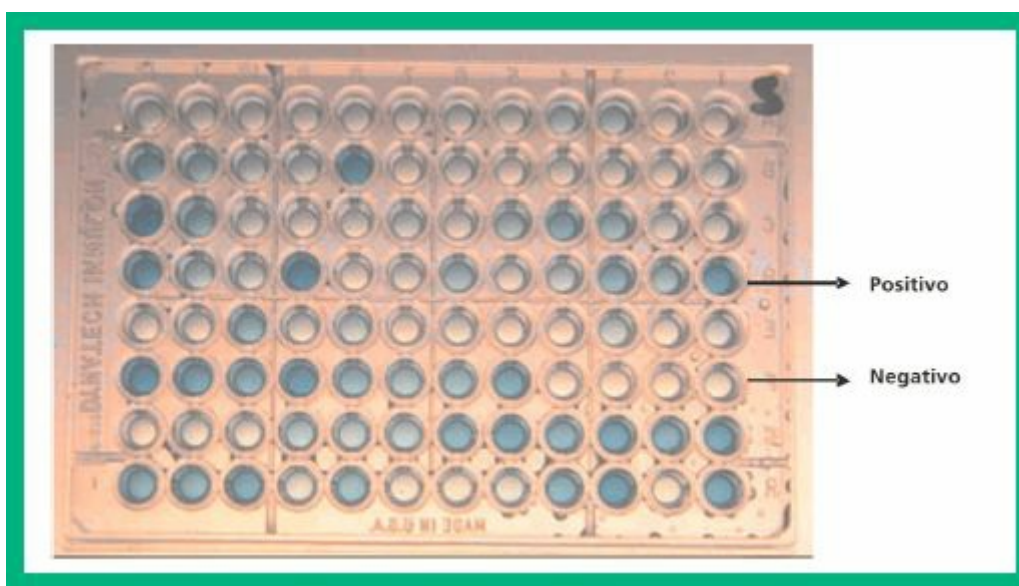


Figura 6B - Elisa.

A imunofluorescência indireta apresenta várias vantagens, tais como:

- Na técnica direta, apenas uma molécula de anticorpo se liga a um determinante antigênico, ao passo que na indireta quando se aplica o anticorpo fluorescente antiglobulina, várias moléculas podem ligar-se ao anticorpo presente no soro, tornando mais evidente a fluorescência.
- Vários anticorpos podem ser pesquisados através do mesmo conjugado.
- Possibilita a identificação de classes de imunoglobulinas.
- Permite uma determinação semi-quantitativa de anticorpos presentes nos soros, através de diluições dos mesmos.

## 7- Fixação de complemento (FC)

O complemento é um sistema complexo de proteínas séricas que podem ser ativadas por uma cascata proteolítica, causando danos irreparáveis às membranas celulares. Este sistema é ativado pela interação do complexo antígeno-anticorpo ou agregados de gamaglobulinas. Por sua capacidade de se combinar com gamaglobulina, o complemento é capaz de precipitar complexos antígeno-anticorpo solúveis e de reagir com membranas celulares. O sistema complemento promove a mediação de muitos efeitos citolíticos e inflamatórios da imunidade humoral.

Certos anticorpos filiados às imunoglobulinas IgG e IgM, ao se combinarem com o antígeno, formam complexos capazes de fixar o complemento. Este fenômeno foi descoberto no começo do século por BORDET e GENGOU, despertando desde logo, grande interesse pela sua aplicação ao sorod diagnóstico da Sífilis (reação de Wassermann).

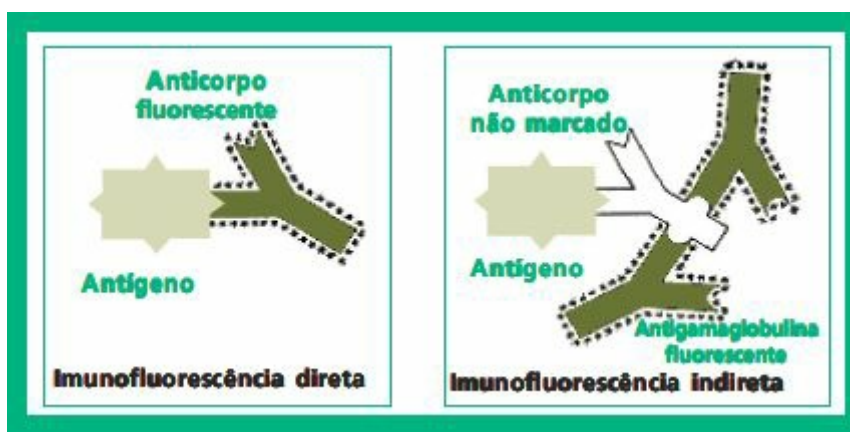


Figura 7A - Imunofluorescência Direta e Indireta (IF).

Atualmente numerosas enfermidades humanas e animais têm sido diagnosticadas pela reação de fixação de complemento (FC). Em um passado recente foi muito utilizada para diagnóstico da Leucose Aviária (Cofal Teste) e Febre Aftosa.

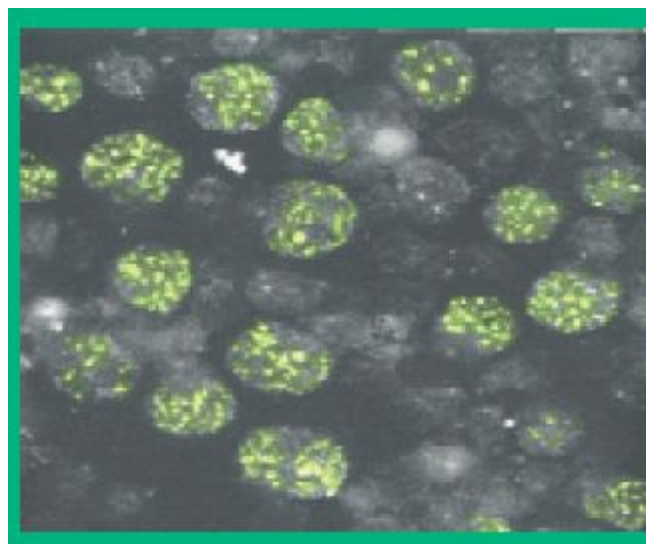


Figura 7B - Imunofluorescência Direta (IFD) para Anemia Infecciosa das Galinhas em Células MDCC- MSB1.

O teste de fixação de complemento é muito utilizado para caracterização de diversos tipos e subtipos de vírus aviários, sendo utilizado também para medir os níveis de anticorpos séricos.

O teste mais importante deste tipo é o teste hemolítico de fixação de complemento (TFC'), sendo este uma das técnicas imunológicas mais amplamente aplicáveis. Todos os reagentes, antígenos, anticorpos, hemolisina, complementos, suspensão de hemácias devem ser preparados e padronizados para um resultado final confiável.

A grande desvantagem deste teste é sua complexidade, principalmente devido a preparação e padronização dos reagentes necessários.

É um teste muito pouco utilizado em sorologia aviária de rotina.

## 8- Radioimunoensaio

A técnica de radioimunoensaio utiliza um marcador radioativo. É um dos métodos mais sensíveis

para a análise quantitativa das reações antígeno-anticorpo, permitindo medidas rápidas, precisas e que apresenta limiar de detecção da ordem de nanogramas ou picogramas. É um teste pouco utilizado em sorologia aviária de rotina. Tem como limitações o custo do teste, a vida média dos reagentes e o risco operacional.

O radioimunoensaio pode ser utilizado para quantificar hormônios, drogas, marcadores tumorais, alérgenos, anticorpos e antígenos em doenças parasitárias. Há muitas variações, mas o princípio é o mesmo: a quantidade de reagente marcado (antígeno ou anticorpo) quantifica o antígeno ou anticorpo não-marcado na amostra.

- **Radioimunoensaio direto:** no teste de radioimunoensaio direto, uma quantidade fixa e limitada de anticorpo é ligada a um suporte sólido.

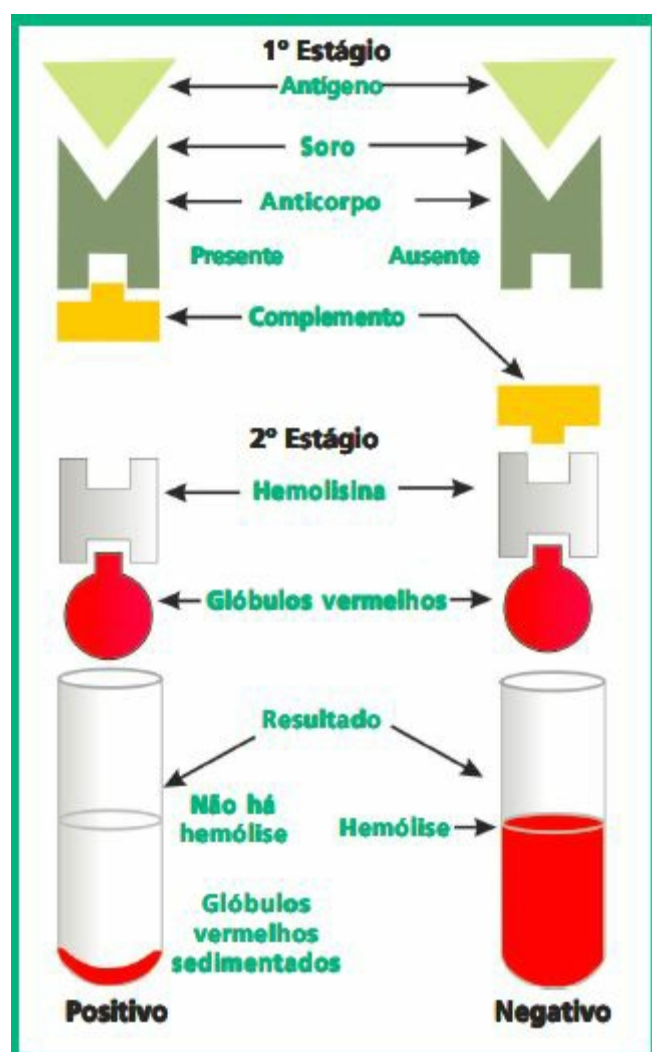


Figura 8 - Fixação de Complemento (FC).

Adicionando uma quantidade fixa de antígeno marcado com a amostra-teste ou com as soluções-padrão que contenham concentrações conhecidas do antígeno não-marcado. Após um período de incubação, remove-se o antígeno não ligado e faz-se a medida da radioatividade da fase sólida.

A partir da resposta obtida, a concentração do antígeno em teste é estimada por interpolação na curva.

- **Radioimunoensaio de competição:** uma quantidade fixa do antígeno é imobilizada em um suporte sólido. Adiciona-se uma quantidade fixa de anticorpo marcado específico, misturada

com a amostra-teste ou uma série de soluções-padrão com concentrações variadas do antígeno solúvel. Após um período de incubação, o anticorpo marcado que não se ligou à fase sólida e o antígeno solúvel são removidos por lavagem, realizando-se a medida da radioatividade da fase sólida.

A partir da resposta obtida, a concentração do antígeno em teste é estimada por interpolação na curva.

- **Radioimunoensaio de captura:** neste teste, uma quantidade fixa de anticorpo é imobilizada em um suporte. A solução teste, com quantidade desconhecida de antígeno, ou as soluções padrão, com concentrações conhecidas do antígeno são adicionadas. Após a incubação, remove-se o antígeno não-ligado e adicionam-se anticorpos marcados específicos para o antígeno, com sítio de ligação diferente do sítio do anticorpo de fase sólida. O anticorpo marcado não-ligado é removido por lavagem e faz-se a medida da radioatividade da fase sólida.

A partir da resposta obtida, a concentração do antígeno em teste é estimada por interpolação na curva.

## 9- Imunoperoxidase

É uma técnica imunoenzimática, baseada na utilização de antígenos ou anticorpos marcados com enzimas, permitindo a detecção, titulação e quantificação de substâncias de interesse biológico. É pouco utilizado em sorologia aviária de rotina.

As técnicas para localização de constituintes celulares seguem o mesmo princípio da imunofluorescência, com a diferença de que, não se utiliza o fluorocromo, mais emprega-se uma enzima, que tem maior capacidade de amplificação. A enzima converte o componente cromógeno (substrato e doador de hidrogênios) em produto insolúvel que precipita no sítio da reação. Esses precipitados podem ser visíveis ao microscópio eletrônico.

## Interpretando os resultados dos métodos sorológicos

O melhor método ou técnica e sorológica é o que acerta o diagnóstico, o resultado final e sua perfeita interpretação.

A interpretação de resultados sorológicos não só depende do conhecimento das doenças, cálculos estatísticos, métodos ou técnicas laboratoriais sorológicas, mas também, da importante interação entre o homem do campo, do exame clínico correto (anamnese), achados de necropsia, e do resultado do laboratório.

Em relação às análises dos resultados sorológicos, é necessário levar em conta a correlação existente entre a sensibilidade analítica de um teste e sua especificidade diagnóstica, pois os parâmetros analíticos podem interferir nos parâmetros diagnósticos, ou seja, um teste de altíssima sensibilidade tem uma maior possibilidade de amplificar um ruído inespecífico, gerando um diagnóstico falso-positivo.

É importante saber que não devem ser comparados resultados de dois métodos sorológicos



diferentes, por exemplo, *HI* e *ELISA*, visto que cada método mede a formação do complexo antígeno- anticorpo de maneira distinta, existindo também variações na tomada de amostras em uma população de aves.

Para determinar o perfil ou o status sorológico em uma empresa avícola ou de um agrupamento de aves é necessária uma amostragem fiel desta população. A colheita das amostras deve ser estabelecida de acordo com o grau de confiabilidade desejado e com os níveis de incidência ou taxa de contaminação da doença a ser monitorada. As amostras devem ser colhidas de maneira aleatória, em volume, qualidade e quantidade para que possam refletir exatamente as propriedades da população pesquisada em um determinado momento e situação. Em vista disto os técnicos de campo devem ser constantemente treinados.

A freqüência ou o intervalo de tempo entre as colheitas das amostras deve ser estabelecido de acordo com a finalidade ou o objetivo dos níveis genéticos e de criação das aves (pedigree, reprodutoras, frangos de corte, etc.) dos controles sorológicos, vigilância epidemiológica ou a monitoria imunológica (vacinações).

No caso de vigilância epidemiológica a quantidade de amostras colhidas de uma população de aves deve ser maior do que para monitoria imunológica (vacinação), pois neste ultimo caso estima-se que as aves foram expostas ao agente vacinal ao mesmo tempo e em dosagem similar.

A vigilância epidemiológica tem como objetivo fundamental contribuir na prevenção, detecção e no controle de doenças exóticas em uma população avícola. A vigilância sorológica das doenças é de fundamental importância para poder estimar possíveis variações na resposta imunológica a vacinações e nas infecções de campo.

Portanto, a vigilância epidemiológica é essencial para detectar de forma fácil, oportuna, econômica e prática, surtos de doenças exóticas ou pouco comuns. Em muitas ocasiões é imprescindível complementar a sorologia com outras técnicas de diagnóstico laboratoriais, tais como o isolamento e identificação de patógenos, para definir um estado patológico.

Uma das falhas mais comuns nos programas de vigilância epidemiológica não é só a ausência de dados sorológicos, mas sim a falta de organização destes dados de uma maneira que seja possível analisar de forma rápida e objetiva. É de primordial importância organizar estes dados em forma cronológica e por idade, para ajudar na análise de tendência em uma determinada situação.

Os cálculos estatísticos são muito utilizados pelos laboratórios de diagnóstico avícola como ferramenta para interpretação da resposta sorológica em uma população de aves. A média geométrica de título (G.M.T) indica a tendência central de títulos sorológicos, o desvio padrão (s) mede a dispersão dos títulos em relação a média, ou seja, o grau de uniformidade dos títulos, o coeficiente de variação (C.V %) indica o quanto variáveis são os títulos individuais em torno da média, sendo estes dados muito importantes na avaliação da resposta imunológica a uma vacinação, do programa de vacinação e do método de vacinação.

Não importa o alto nível de sofisticação de alguns métodos sorológicos. A resposta imunológica positiva indica uma exposição ao antígeno testado. As aves podem ter sido vacinadas ou desafiadas no campo. Níveis de anticorpos muito altos necessariamente não indicam um desafio

de campo. Um aumento nos níveis de títulos de anticorpos pode indicar que a população de aves respondeu bem a um desafio (estímulo) vacinal ou de campo (selvagem).

Infelizmente tendo em vista a complexidade do sistema imunológico, nem sempre existe uma relação direta entre títulos sorológicos de anticorpos circulantes e a maneira como se comportam as aves frente a um desafio.

É importante estabelecer um perfil sorológico de títulos (curva) normal para cada enfermidade pesquisada de acordo com a região geográfica, condições climáticas, empresa, idade das aves, tipo de ave, nutrição, programa de vacinação, desafios de campo, amostragem, métodos sorológicos, laboratórios de diagnóstico, pois o que é benéfico para uma empresa pode não ser adequado para outra.

A análise dos resultados sorológicos e sua perfeita interpretação dos títulos imunológicos permite-nos uma avaliação precisa e coerente do programa de vacinações ou dos desafios de campo em uma empresa avícola, estabelecendo desta forma um perfil normal da situação imunológica da empresa, determinando assim se os objetivos destes programas sorológicos estão cumprindo suas funções de monitoração e vigilância sanitária e seus objetivos alcançados.

## Bibliografia

- Abbas AK, Lichtman AH, Rober JS. **Cellular and molecular immunology**. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Sanders; 1997.
- Methods for examining poultry biologics and for identifying and quantifying avian pathogens. Washington: National Academy of Sciences; 1971. p. 6 - 87.
- Araujo FR, Madruga CR. Protocolos de técnicas sorológicas. In: II Curso de Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária; 1999; Campo Grande,MS, Brasil.
- Areraneas S, Nakam PK, Papamichail M, Pesce AJ. 25 years of immunoenzimatic techniques. **Journal of Immunological Methods** 1992; 150(1-2):219 .
- Beal VCJr. Prograns development and application. 5th ed. Veterinary Services APHIS: Animal Health Programs; 1975.
- Beard CW. **Serologic procedure**. In: A Laboratory manual for isolation and identification of avian pathogens. 3rd ed. Keneett Square: American Association of Avian Pathologists; 1989. p.192-200.
- Bier O. **Microbiologia e imunologia**, 24<sup>a</sup> ed. São Paulo: Melhoramentos; 1985.
- Burleson FG, Chambeas TM, Wieldbrank DL. **Virology a laboratory manual**. San Diego: Academic Press; 1992. 250 p.
- Brugh MA, Beard CW. Collection and processing of blood samples dried on paper for microassays of Newcastle disease virus and avian influenza virus antibodies. **American Journal Veterinary Research** 1980; (41):1495-1498.

- Candeias JAN. Laboratório de virologia. São Paulo: Edusp; 1996. Manual Técnico. Cardozo B. Serologia e interpretação. Colombia: AMEVEA; 2000.
- Cottral GE. **Serology**. In: Manual of standardized methods for veterinary microbiology. Ithaca: Cornell University Press; 1978. p. 60 - 93.
- Cunningham CH. Immunologic methods in avian research: Neutralization test. Annual Convention of the American Veterinary Medical Association, Symposium: Immunologic Methods in Avian Research; 1972; New Orleans, Louisiana, USA. p.227-235.
- Cunningham CH. Avian infectious bronchitis: characteristics of the virus and antigenic types. **American Journal Veterinary Research** 1975; 36(4):522-523.
- Ferreira AW, Avila SLM. **Diagnóstico laboratorial**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1996. Giron J. Guia para la interpretación de los resultados serológicos; 2000.
- Kreager K. **Elisa is proving its worth in avian diagnostics**. Poultry-Misset 1987; April/May: 34-37.
- Mc Mullim P. The Organization and use of a serological monitoring service for the Poultry Industry; 2000. Available from: [www.poultry-health.com](http://www.poultry-health.com).
- Lacaz CS, Netto CF, Ferri RG, Mendes E, Mendes NF. **Glossário ilustrado de imunologia e de imunopatologia**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo; 1967. 355 p.
- Leiting V. RAPD Fingerprinting of mycoplasma. Mycoplasma Workshop Diagnostic. Athens: Poultry Diagnostic and Research Center; 2005.
- Munoz R. **Sorologia como ferramenta de monitoria e diagnóstico**. Conferência Apinco; 2005. Santos, São Paulo. Brasil.
- Ribeiro MC, Soares MMSR. **Microbiologia prática: roteiro e manual, bactérias fungos**. São Paulo: Editora Ateneu; 2001. 112 p.
- Rives DV. Entendiendo a la serologia. **Industria Avícola** 1992; marzo: 20 - 25.
- Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. **Journal of Immunological Methods** 1998; 150(1/2):219.
- Salle CTP, Cé MC, Santos CHC, Guahyba AS, Nascimento VP, Moraes HLS. **Use of statistical techniques on the interpretation of routine serological data produced by a poultry industry**. 48th Western Poultry Disease Conference; 1999; Vancouver, CA. In press.
- Santos CHC. **Interpretação de resultados sorológicos**. Simpósio de Sanidade Avícola; 1998. Fortaleza, CE. Brasil: Associação Cearense dos Técnicos Avícolas; 1998.
- Santos CHC, Silva EN. **Métodos de diagnóstico laboratoriais e microbiológicos e sorológicos**. In: \_\_\_\_\_. Doenças das aves. Campinas: FACTA; 2000. p.172-182.

Snyder DB, Marquardt WW. **Enzyme immunoassay for poultry disease monitoring**. In: A laboratory manual for isolation and identification of avian pathogens. 3rd ed, Kennet Square: American Association of Avian Pathologists; 1989. p. 210-207.

Soares CO. **Princípios e padronizações de provas sorológicas**. In: II Curso de Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária; 1999; Campo Grande, MS. Brasil.

Thayer GS, Beard CW. Serologic procedures. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 4th ed. Kennett Square: **American Association of Avian Pathologists**; 1998. p.255-266.

Tizard IR. **Introdução à imunologia veterinária**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Roca; 1985. 330 p.

Tizard IR. **Veterinary immunology an introduction**. 4th ed. Philadelphia: W. B. Sanders; 1996. 523 p.

Van Leederman B, Barend Van Dam. Good sampling and serological monitoring. **International Poultry Production** 1999; 7(6):27-28.

Villegas P. Revision de controles serologicos en Avicultura. **Avicultura Professional** 1990; 7(4):154-158. Wit JJ. How many Samples Should be Tested? **International Poultry Production** 1999; 7(6):29.

Woerle H. The use of the agar-gel difusion technique in the identification of certain avian virus diseases. **The Veterinarian** 1996;4:17-28.

Zavala G. **Interpretacion y aplicabilidad de exámenes serológicos en situaciones de campo**; 2005.

Zander DV, Bermudes AJ, Mallison ET. **Principles of disease prevention, Diagnosis and control**. In: Disease of Poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1977. p.3-45.

<i>Histórico</i>	105
<b>Métodos de diagnóstico molecular</b>	<b>106</b>
<i>Hibridização</i>	106
<i>Amplificação de ácidos nucleicos</i>	107
<i>RT-PCR</i>	107
<i>Nested PCR</i>	108
<i>PCR Multiplex</i>	108
<i>Real Time PCR</i>	108
<i>Análise de seqüências</i>	108
<i>Seqüenciamento</i>	109
<i>Filogenia molecular</i>	110
<b>Diagnóstico molecular na avicultura</b>	<b>110</b>
<b>A experiência brasileira no diagnóstico molecular</b>	<b>111</b>
<i>Detecção de ALV-J</i>	111

<i>Tipagem de IBDV</i>	112
<i>Deteccão e tipagem de Mycoplasma gallisepticum</i>	114
<b>Deteccão e identificação de sorotipos de <i>Salmonella</i></b>	<b>115</b>
<b>Perspectivas</b>	<b>116</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>116</b>

## Capítulo 2.2 - Diagnóstico molecular

**Nilo Ikuta; André Fonseca; Vagner Lunge**

Métodos de análise de ácidos nucleicos têm sido cada vez mais utilizados pelos profissionais da área de Medicina Veterinária no diagnóstico laboratorial das principais patologias. As informações obtidas com o uso destas tecnologias complementam o diagnóstico clínico e facilitam decisões terapêuticas e de manejo, resultando na melhoria da saúde e produtividade animal.

### Histórico

No início dos anos 60, técnicas de análise de DNA auxiliaram indiretamente na caracterização de diversas doenças animais. A determinação da composição de bases (AT e GC) era bastante utilizada para a classificação de microrganismos, incluindo todos os patógenos animais. Nos anos 70 foram desenvolvidas as sondas de DNA, segmentos do genoma de determinado ser vivo marcados com compostos radioativos ou quimioluminescentes, utilizadas para localizar a respectiva seqüência complementar em ensaios de hibridização como o *Southern blot*. Com base nesta técnica foi desenvolvida a análise de polimorfismos genéticos conhecida por RFLP (do inglês *Restriction Fragment Length Polymorphism*), pela qual é possível detectar pequenas diferenças nos genomas dos seres vivos. Estudos científicos posteriores propuseram a utilização da análise por RFLP no diagnóstico de doenças animais em diferentes níveis: identificação e classificação de patógenos animais, associação genética com doenças, identificação de marcadores moleculares associados à resistência e/ou suscetibilidade a determinado patógeno.

Estudos de seqüenciamento e caracterização de genes animais e de microrganismos, juntamente com o desenvolvimento da síntese química de ácidos nucleicos (oligonucleotídeos), possibilitaram o desenho e síntese de sondas de DNA específicas com conseqüente disseminação no uso de técnicas de hibridização de DNA. Técnicas como *dot blot*, hibridização in situ e suas respectivas variações passaram a serem utilizadas tanto em estudos acadêmicos em diferentes áreas de pesquisa científica como na detecção específica de patógenos em laboratórios de diagnóstico veterinário.

O diagnóstico molecular apresentou avanços significativos na década de 80 com o desenvolvimento da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). A técnica consiste basicamente da síntese enzimática de milhões de cópias de DNA a partir de moléculas-alvo. Esta revolucionária tecnologia permitiu o aprimoramento nos procedimentos laboratoriais de investigação em biologia molecular, possibilitando o seqüenciamento massivo de genes e genomas de qualquer organismo vivo e a realização de estudos para o conhecimento dos processos moleculares básicos de várias patologias. Os trabalhos de pesquisa gerados proveram as informações necessárias para o desenvolvimento dos testes de diagnóstico molecular.

A partir da década de 90, os testes moleculares para detecção de DNA e RNA de agentes infecciosos em tecidos, órgãos e fluidos de diferentes animais hospedeiros proliferaram rapidamente. Diversos trabalhos de investigação molecular dos principais patógenos animais, em

alguns casos com o seqüenciamento completo dos genomas (*Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella* e a grande maioria dos vírus conhecidos), forneceram a informação genética necessária para o desenvolvimento de testes altamente específicos, sensíveis e aplicáveis para detecção direta do agente em qualquer animal suscetível. Atualmente existem artigos científicos descrevendo técnicas de PCR para a maioria dos patógenos de animais de interesse econômico e boa parte dos patógenos dos animais de serviço, competição e companhia.

Diversos projetos de pesquisa científica, elaborados para desvendar o genoma parcial ou completo ou elucidar o mecanismo molecular dos diferentes tipos de patologias dos principais animais domésticos, estão em andamento e certamente resultarão em procedimentos que permitam o diagnóstico e prognóstico das principais doenças que acometem os animais, à semelhança do que já ocorre na medicina humana. A tendência é que o diagnóstico molecular seja, cada vez mais, incorporado à prática veterinária no decorrer dos próximos anos.

## Métodos de diagnóstico molecular

Todas as técnicas conhecidas de diagnóstico molecular se fundamentam na análise da seqüência dos ácidos nucléicos (DNA e RNA). A especificidade pode atender diferentes níveis, baseada no grau de conservação do alvo escolhido (porção do genoma), distinguindo com exclusividade o grupo de eleição (gênero, espécie, cepa, tipo viral, indivíduo, genótipo).

Os procedimentos para detecção dos alvos escolhidos são essencialmente baseados no processo de hibridização com seqüências complementares de ácidos nucléicos especialmente sintetizados (sondas ou, no caso específico da PCR, iniciadores ou *primers*), após etapa prévia de desnaturação.

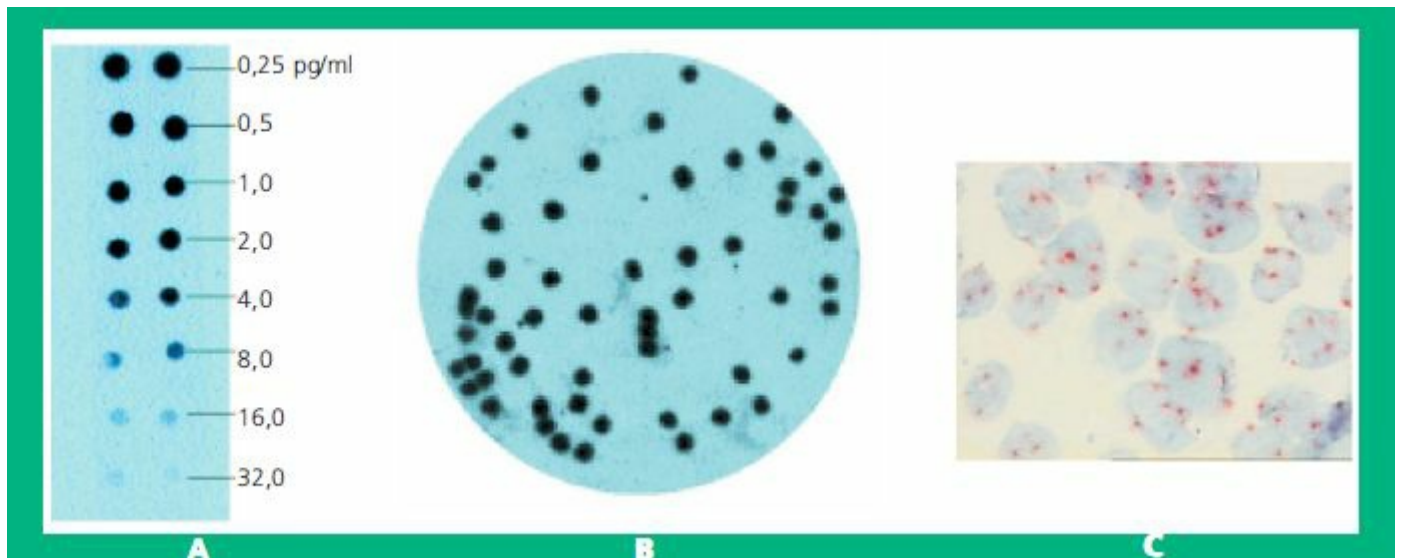
### Hibridização

Nestes ensaios são utilizadas sondas de ácidos nucléicos com afinidade a alvos de DNA ou RNA. A afinidade da sonda é devida à sua complementariedade com as moléculas-alvo que, em determinadas condições, podem detectar a mudança de apenas uma base em uma seqüência de ácidos nucléicos (Britten & Davidson, 1985; Wallace *et al.*, 1979). As sondas são marcadas direta ou indiretamente com enzimas, radioisótopos ou substratos quimioluminescentes-antigênicos possibilitando a hibridização em fase líquida, suporte sólido ou *in situ*.

A hibridização em fase líquida normalmente é mais sensível, pois tem a taxa mais rápida de hibridização entre as seqüências complementares (Wetmur, 1991). O principal teste para detecção em solução é o ensaio de proteção da hibridização (HPA, do inglês hybridization protection assay; Arnold *et al.*, 1989). Este ensaio baseia-se no uso de uma sonda marcada direta ou indiretamente com enzimas, que é incubada conjuntamente com os ácidos nucléicos a serem avaliados. Após a reação de hibridização (se esta ocorrer), realiza-se uma hidrólise alcalina das fitas simples. A molécula híbrida é detectada através da degradação de substrato específico pela enzima e emissão de luz ou reação colorimétrica. A vantagem desta técnica é a rapidez, pois não necessita procedimentos de remoção dos fragmentos de ácidos nucléicos que não hibridizaram ou isolamento das moléculas híbridas, normalmente necessários nos testes de hibridização em fase sólida ou *in situ* (Pollard-Knight *et al.*, 1990).



A hibridização em fase sólida é utilizada nos casos de análise de várias amostras. Usualmente, ácidos nucleicos ligados covalentemente a uma membrana são submetidos à hibridização com sondas em solução. Sondas que não hibridizam são retiradas por meio de lavagens da membrana, enquanto os híbridos formados são detectados pelo componente marcador incorporado na sonda. O formato mais utilizado em diagnóstico é o *dot blot* (**Figura 1A**), que se baseia na detecção direta do alvo em um ponto (dot) do suporte sólido (membrana) (Tenover & Unger, 1993) ou a partir de colônias de bactérias (Moseley *et al.*, 1980) (**Figura 1B**). Outra alternativa é a hibridização *in situ* (**Figura 1C**), realizada diretamente em células ou seções de tecidos animais ou vegetais fixados em lâminas para visualização em microscópio.



**Figura 1** - Exemplos de hibridização molecular – à esquerda, *dot blot* - diluição seriada de amostra viral sobre membrana - revelação de filme de autoradiografia. Ao centro - hibridização de colônias bacterianas a partir de placa de Petri. à direita - hibridização *in situ* – para detecção de vírus infectantes de células.

A hibridização com sondas marcadas pode ser utilizada em conjunto com outras metodologias, como *Southern blot* (Southern, 1975) e *Northern blot* (Tenover, 1988). A técnica de *Southern blot* combina quatro procedimentos: digestão do DNA com enzimas de restrição, eletroforese em gel de agarose, transferência para uma membrana e hibridização com sondas marcadas (com respectiva revelação). A técnica de *Northern blot* consiste na combinação de eletroforese de RNA em gel, transferência para membrana e hibridização com sondas marcadas.

Variações das técnicas de hibridização em fase sólida têm sido bastante utilizadas para a identificação e detecção molecular de microrganismos. A técnica de *Southern blot* é amplamente empregada para verificar polimorfismos de DNA em plantas, animais e também em microrganismos pela análise de RFLP (Ferreira & Grattapaglia, 1995; Swaminathan & Matar, 1999). A desvantagem destas técnicas é a baixa sensibilidade analítica, principalmente quando comparadas com as técnicas de amplificação de ácidos nucleicos.

## Amplificação de ácidos nucleicos

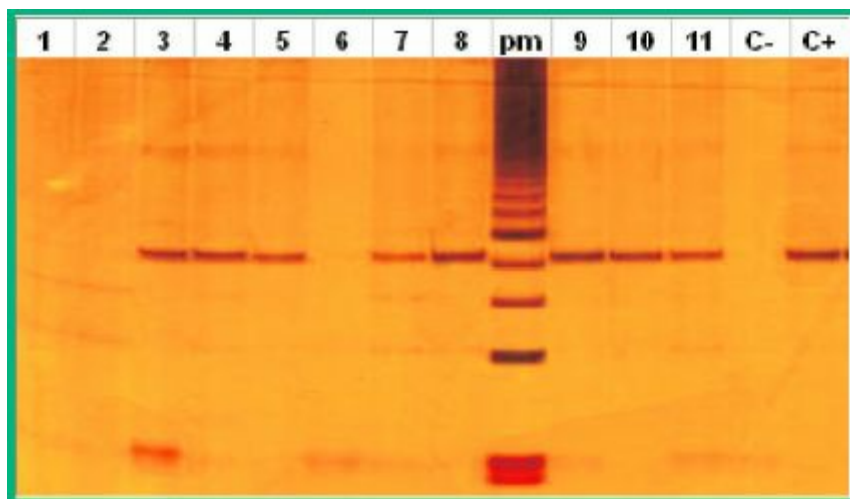
### Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Na PCR ocorre a hibridização entre os iniciadores e o DNA alvo, seguida da síntese de DNA in

vitro pela enzima DNA polimerase. A especificidade do teste é obtida a partir da utilização de oligonucleotídeos que funcionam como iniciadores (*primers*) da síntese e são complementares ao gene ou região de ácido nucléico de interesse. A utilização de dois iniciadores que delimitam uma região do DNA alvo e a repetição da reação de síntese por várias vezes (ciclos) origina bilhões de cópias do alvo, em um processo de amplificação (Mullis, 1987; Saiki *et al.*, 1985).

Cada ciclo da PCR consiste de três etapas:

1. desnaturação (abertura da dupla fita) do DNA em alta temperatura (94 -100°C);
2. anelamento (hibridização) dos iniciadores em temperatura mais baixa, definida conforme o tamanho e composição de bases dos oligonucleotídeos iniciadores;
3. reação de polimerização (síntese ou extensão) da fita complementar pela DNA polimerase na temperatura ótima da enzima para síntese (72°C para Taq DNA polimerase, por exemplo). Ao final de cada ciclo (conjunto das três etapas descritas) ocorre a duplicação do DNA alvo. Depois de 30 a 40 ciclos em termociclador se obtém bilhões de cópias do alvo, quantidade suficiente para detecção através de eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida (**Figura 2**).



**Figura 2** - Gel de poliacrilamida corado com nitrato de prata com produtos de amplificação por PCR – Reação em Cadeia da Polimerase. Canaletas de 1- 11 amostras clínicas, pm (peso molecular – 50 bp), C- (controle negativo) e C+ (controle positivo). Resultados negativos, canaletas 1, 2 e 6. Resultados positivos, 3, 4,5, 7, 8, 9, 10 e 11.

A versatilidade da PCR deu origem a variações para atender necessidades específicas: RT PCR, Nested PCR, Multiplex PCR, AP-PCR/RAPD e *Real Time PCR*. Algumas destas serão tratadas a seguir.

## RT-PCR

A transcrição reversa (RT, de Reverse Transcription) é utilizada para a síntese de DNA complementar (cDNA) a partir de RNA (Maniatis *et al.*, 1982). Previamente ao desenvolvimento da PCR, a RT já era utilizada para a clonagem de vírus de RNA ou mesmo de transcritos de RNA. A utilização conjunta da RT e da PCR, conhecida como RT-PCR, possibilita a amplificação de DNA a partir de alvos de RNA. Neste processo, a seqüência de RNA é primeiro convertida para cDNA pela enzima transcriptase reversa, que depois é amplificado pela PCR. Esta metodologia

tem função importante na detecção e quantificação de vírus de RNA e transcritos de RNA de genes (Salomon, 1995; Boddington *et al.*, 1990).

## Nested PCR

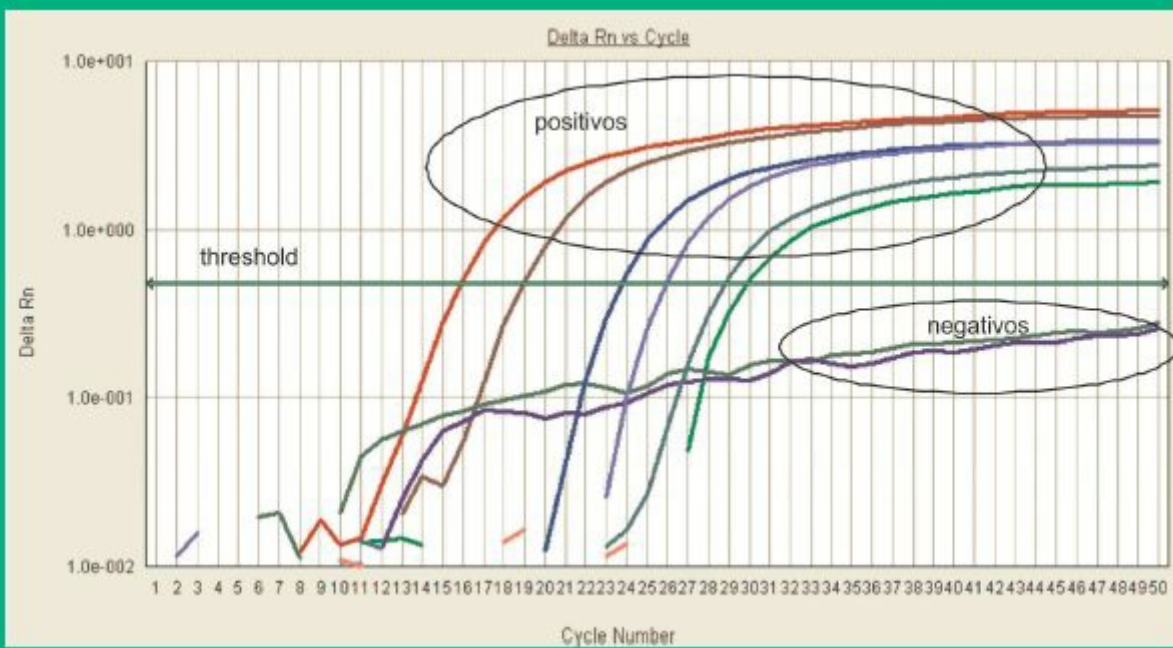
A PCR “aninhada” (nested PCR) utiliza duas etapas de termociclagem consecutivas. A primeira etapa é realizada por 15 a 30 ciclos com a utilização de um par de iniciadores. O produto da primeira reação é então submetido a uma segunda etapa de amplificação com um par de iniciadores localizados internamente (“aninhados”) à seqüência de nucleotídeos do fragmento amplificado (Haqqi *et al.*, 1988). O ensaio apresenta maior sensibilidade, devido ao aumento total do número de ciclos, e especificidade, pelo reconhecimento de um número maior de bases da seqüência alvo. Um aspecto crítico é o aumento da possibilidade de contaminação de amostras (Tang & Persing, 1999).

## PCR Multiplex

PCR multiplex, que utiliza dois ou mais pares de iniciadores específicos para diferentes alvos no mesmo tubo de reação (Chamberlain *et al.*, 1988), pode ser utilizada para diferentes propósitos: controle de inibição de amplificações, detecção de mais de um alvo em uma mesma amostra, competição de alvos (para a quantificação de ácidos nucleicos, procedimento conhecido como PCR competitivo). A PCR multiplex é utilizada na detecção de doenças genéticas e câncer. Na detecção de microrganismos, este sistema pode resultar na diminuição da sensibilidade na detecção de um dos patógenos (Tang & Persing, 1999).

## Real Time PCR

A *Real Time PCR* (PCR em tempo real) utiliza um termociclador acoplado a um sistema ótico para excitação/ detecção de fluorescência. Os princípios enzimáticos são os mesmos da PCR, entretanto, a cada ciclo de amplificação, o equipamento excita fluoróforos e coleta os dados da emissão de luz (**Figura 3**). Quanto maior a concentração de amplicons, maior a emissão de fluorescência. O resultado da amplificação é avaliado diretamente no equipamento em tempo real, sem necessidade de procedimentos posteriores de detecção como eletroforese em gel ou hibridização. Isto aumenta a praticidade e reduz significativamente o risco de contaminações (falsos positivos), já que não há manipulação de amplicons (operação de amplificação concluída com o tubo fechado). A *Real Time PCR* permite maior automação dos procedimentos de análise, possibilitando ainda a quantificação do alvo (Heid *et al.*, 1996; Gibson *et al.*, 1996; Lunge *et al.*, 2002).



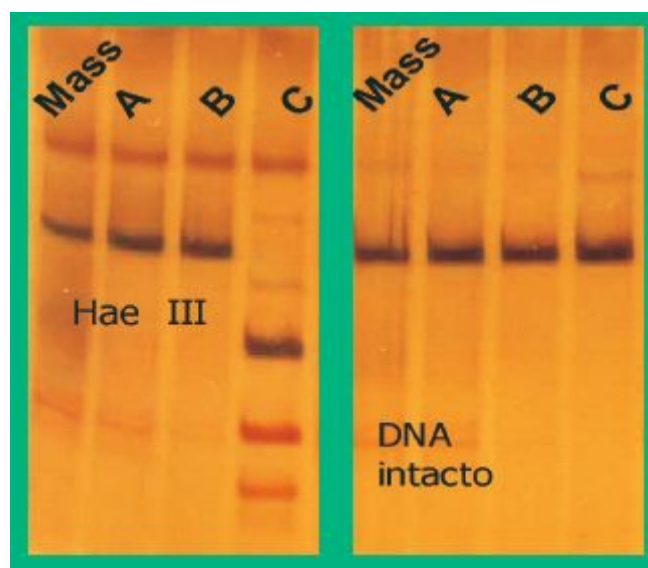
**Figura 3** - Avaliação gráfica de *Real Time PCR* – curvas ascendentes que cortam a linha de threshold indicam amostras positivas.

A emissão de fluorescência na *Real Time PCR* pode ser gerada por agentes com afinidade por DNA (como o sybergreen) ou pelo uso de sondas marcadas com agentes fluorescentes (Livak *et al.*, 1995 - TaqMan PCR; Molecular Beacons, *Scorpions*).

### Análise de seqüências

#### Polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição (RFLP)

As variações no comprimento de fragmentos gerados por amostras distintas de DNA após clivagem com enzimas de restrição, são chamadas polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição - RFLPs (Swaminathan & Matar, 1999). A avaliação por RFLP envolve a comparação do número e tamanho destes fragmentos (**Figura 4**). Na análise de restrição de DNAs extracromossomais (plasmídios) e cromossomais menores (genomas de vírus e algumas bactérias), estes polimorfismos podem ser observados diretamente após a eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida.



**Figura 4** - Eletroforese em gel de poliacrilamida corado com nitrato de prata - Mass - cepa vacinal Massachussets do Vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas e A, B e C - amostras de campo. À esquerda, amostras intactas - sem digestão com enzima de restrição. À direita, padrão de polimorfismo – RFLP - de amostras digeridas com a enzima de restrição *Hae III*.

Para genomas maiores (eucariotos), dada a dificuldade de análise direta, seleciona-se uma região específica determinada por uma sonda a ser utilizada para *Southern blot*. Outra alternativa é a eletroforese em campo pulsado (PFGE), que permite a análise de fragmentos de restrição maiores sem necessidade de hibridização (Schwartz & Cantor, 1984). Neste método utilizam-se enzimas de restrição que cortam o DNA em sítios raros, gerando fragmentos de restrição maiores.

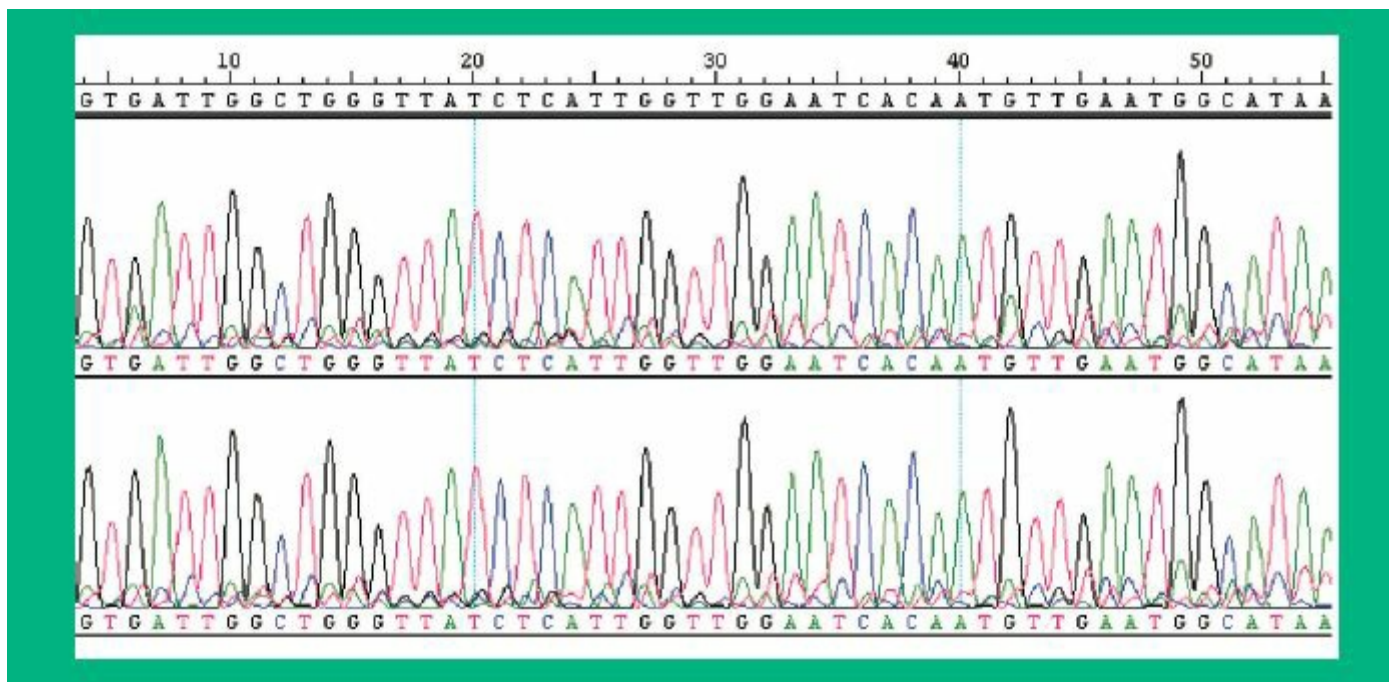
O polimorfismo de tamanho de fragmentos amplificados (AFLP, de Amplified Fragment Length Polymorphism) é a combinação da digestão com enzimas de restrição e a amplificação, conferindo maior sensibilidade do que o RFLP (Zabeau, 1993). Esta metodologia tem sido bastante utilizada para mapeamento genético e como marcador molecular em programas de melhoramento genético de plantas e animais (Ferreira & Grattapaglia, 1995).

## Seqüenciamento

A metodologia de seqüenciamento mais amplamente utilizada combina a técnica de PCR com métodos de terminação de cadeias utilizando dideoxinucleotídeos (ddNTPs). Estes nucleotídeos diferem dos deoxinucleotídeos normais (dNTPs) por não apresentarem um grupo hidroxila no carbono 3' da desoxirribose. No método original descrito por Sanger & Coulson (1975), a fita de DNA a ser seqüenciada serve como molde para a síntese de DNA *in vitro* iniciada com um oligonucleotídeo sintético (primer) marcado radioativamente na extremidade 5'. Quatro reações de polimerização independentes (tubos separados) são executadas, cada uma com a presença de apenas um dos quatro ddNTPs em concentração significativamente mais baixa (em geral 100 vezes) do que os quatro dNTPs (dATP, dTTP, dCTP e dGTP). Em cada reação, o ddNTP é incorporado de forma aleatória nas posições onde, numa reação normal de PCR, seria adicionado o dNTP correspondente. Entretanto, sempre que ocorrer a adição de um ddNTP, a polimerização é encerrada, pois a ausência da hidroxila ligada ao carbono 3' da desoxirribose impede a adição do nucleotídeo seguinte. Como a incorporação dos ddNTPs é aleatória, são produzidos fragmentos de todos os tamanhos possíveis (denominados truncados), correspondendo a todas as posições possíveis do respectivo dNTP na fita que está sendo sintetizada. Os produtos das quatro reações

de seqüenciamento são então desnaturados e submetidos, lado a lado, à eletroforese em gel de poliacrilamida. Após a corrida, o gel é submetido à autorradiografia, possibilitando a visualização do tamanho de todos os fragmentos e leitura da seqüência da fita de DNA.

Atualmente, o seqüenciamento de DNA é automatizado. Como alternativa à marcação radioativa, utilizam-se marcadores fluorescentes ligados aos ddNTPs, uma cor para cada tipo de nucleotídeo. Isto permite que as reações sejam realizadas em um único tubo. Os produtos da reação são avaliados por separação eletroforética em géis de poliacrilamida ou capilares de vidro e a detecção da fluorescência é realizada por instrumentos ópticos conectados a computadores (**Figura 5**).



**Figura 5** - Análise de cromatogramas de um seqüenciamento de DNA. A região analisada é consenso obtido de 2 reações de seqüenciamento (fita *forward* e *reverse*).

Grandes avanços científicos e tecnológicos foram alcançados com a disseminação desta tecnologia, como o deciframento do código genético de vários seres vivos e mapeamento de variações na seqüência de genes e suas relações com doenças e terapias.

## Filogenia molecular

A filogenia molecular é o estudo das relações evolucionárias utilizando técnicas de Biologia Molecular. A origem desta ciência é antiga (início de 1900) e os primeiros estudos foram baseados em técnicas imunológicas que evidenciaram que reações sorológicas cruzadas eram mais evidentes em organismos mais relacionados do que em mais distantes.

Estudos posteriores realizaram comparações através de perfis eletroforéticos de proteínas ou DNA e, atualmente, maior acurácia tem sido obtida pela comparação de seqüências de aminoácidos e nucleotídeos. Uma árvore filogenética (ou cladograma) é uma exibição gráfica composta por nós e ramos que apresenta espécies, sorotipos, isolados, etc, relacionando a similaridade das seqüências conforme o comprimento dos ramos. Cada nó terminal em uma árvore filogenética define um clado e no caso das filogenias apresentadas neste capítulo, seqüências de

DNA e aminoácidos de diferentes patógenos foram comparadas e agrupadas pelas semelhanças e diferenças existentes entre si.

## Diagnóstico molecular na avicultura

A bibliografia científica descreve diversos estudos de uso da técnica de PCR (e suas variações: RT-PCR, PCR-RFLP, PCR-seqüenciamento) no diagnóstico dos principais patógenos de relevância econômica. Valem destacar o diagnóstico molecular dos principais vírus causadores de doenças de relevância econômica, como bronquite infecciosa (Kwon *et al.*, 1993a), Gumboro (Jackwood & Nielsen, 1997), anemia infecciosa (Soiné *et al.*, 1993), leucoses linfóide (Silva, 1997) e mielóide (Garcia *et al.*, 2003), doença de Marek (Silva, 1992), reticuloendoteliose (Witter, 1997), laringotraqueíte (Abbas & Andreasen, 1995), doença de Newcastle (Jestin & Jestin, 1991), artrite (Xie *et al.*, 1997); das bactérias normalmente associadas a perda de produtividade, como micoplasmas (Silveira *et al.*, 1996) e salmonelas (Cohen *et al.*, 1994); e inclusive de parasitas, como *Eimeria* (Molloy *et al.*, 1998).

O principal uso da PCR em laboratórios agroindustriais tem sido para a detecção dos patógenos de crescimento difícil ou fastidioso, como os vírus (bronquite infecciosa, Doença de Gumboro, anemia infecciosa, pneumovírus, *Reovírus*) e micoplasmas (*Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis*, *M. iowae*). Esta técnica é recomendada pela OIE (“Office International des Epizooties”) na detecção de dois vírus de grande disseminação que afetam aves comerciais e causam a Influenza aviária e a Doença de Newcastle (OIE, 2000a).

Outra aplicação estratégica do diagnóstico molecular na avicultura é a identificação de cepas vacinais e de campo nos lotes de produção. A tipificação molecular da cepa presente no campo permite a escolha da vacina mais adequada, melhor definição do programa de vacinação e o acompanhamento da efetividade do programa. Exemplos de uso são os testes para tipificação das cepas vacinais e de campo dos vírus da bronquite infecciosa (IBV) e da doença de Gumboro (IBDV) (Kwon *et al.*, 1993b, Jackwood & Nielsen, 1997; Ikuta *et al.*, 2001).

O diagnóstico molecular possibilita também a identificação de cepas de maior potencial patogênico dentre as diversas de um mesmo microrganismo. No caso do vírus de influenza aviária, distingue, por exemplo, os grupos das cepas altamente patogênicas podem causar sérios problemas (H5, H7) (Senne *et al.*, 1996). Outro caso ilustrativo é a identificação específica dos sorotipos de *Salmonella* que normalmente são associados a patologias aviárias (Gallinarum, Pullorum, Enteritidis e Typhimurium), entre os mais de 2.000 sorotipos conhecidos (Lunge, 2000).

A tipificação molecular pode ser utilizada na identificação de cepas, como alternativa, por exemplo, à soro-neutralização. Nos casos da bronquite infecciosa (IBV) e doença de Gumboro (IBDV), existem descrições de procedimentos de PCR-RFLP e seqüenciamento para o estudo de genes que correspondem a epitopos antigênicos associados à resposta imunológica do hospedeiro. Como os anti-soros utilizados nos ensaios sorológicos reagem majoritariamente contra estes epitopos, testes moleculares que analisam estes genes realizam tipificação sorológica indireta.

## A experiência brasileira no diagnóstico molecular

Com a aplicação de metodologias moleculares, serão descritos a seguir alguns exemplos brasileiros de pesquisa relacionada:

- Ao estudo da ocorrência de ALV-J (Fonseca *et al.*, 1998; Garcia *et al.*, 1998; Garcia *et al.*, 2003) e de cepas de vírus da doença de Gumboro de alta virulência (Ikuta *et al.*, 1997; Ikuta *et al.*, 2001), indicando tratarem-se de patógenos introduzidos em nosso país.
- À caracterização de cepas do vírus da doença de Gumboro clássicas e variantes (Ikuta *et al.*, 1998; Ikuta *et al.*, 2001).
- À tipagem de cepas vacinais de *Mycoplasma gallisepticum* (Silveira *et al.*, 1994), possibilitando a avaliação de programas vacinais.
- À identificação de sorotipos de *Salmonella* (Lunge *et al.*, 1996a e b; Lunge *et al.*, 1998).

## Detecção de ALV-J

O vírus da leucose aviária (avian leukosis virus - ALV) é um retrovírus associado a doenças neoplásicas. O virion é sua forma infectante (RNA) e o pró-vírus (DNA) é a forma integrada ao genoma do hospedeiro. Os ALVs são classificados em subgrupos, sendo A, B, C, D, E e J os relevantes na avicultura. O ALV-J foi isolado a partir de matrizes de frangos de corte e está relacionado com leucose mielóide (mielocitomatose) (Bay *et al.*, 1995). A patogenicidade do ALV-J é variável em função do estado sanitário dos lotes, observando-se, além do comprometimento na produtividade, mortalidade de 1 a 2%, com perdas ocasionais superiores a 20%.

A leucose mielóide acomete essencialmente aves imuno-tolerantes ao ALV-J ou aves com resposta imune comprometida. Desta forma, duas situações devem ser evitadas para diminuir a presença de aves neoplásicas nos lotes:

- a. transmissão vertical ou horizontal precoce, que dá origem a aves com imuno-tolerância e
- b. transmissão horizontal em idade adulta em aves imuno-comprometidas.

Existe consenso de que aves com resposta imune ao ALV-J poderão portar o vírus, de forma transiente, sem resultar em neoplasias e mortalidade. Adicionalmente, existem evidências de que aves imuno-tolerantes, que por consequência mantém cargas virais constantemente altas, têm papel determinante na disseminação (vertical e horizontal) do patógeno.

O diagnóstico clássico da infecção do ALV-J envolve a caracterização patológica dos tumores com posterior identificação, através de isolamento viral e ensaios de vírus neutralização. Esta identificação é complexa e laboriosa devido (i) ao genoma do ALV-J com regiões semelhantes a vários ALVs E ASVS (AVIAN SARCOMA VIRUS), (ii) às variações genéticas e antigênicas existentes entre os vários isolados de ALV-J e (iii) à similaridade do ALV-J com elementos endógenos (endogenous avian retroviruses - EAV), não causadores de neoplasias e presentes em todas as linhagens conhecidas (Bay *et al.*, 1995). A **Figura 6**, esquematiza uma filogenia entre ALVs exógenos, ALV-J (cepas dos EUA, Inglaterra, e Brasil) como também seqüências endógenas.



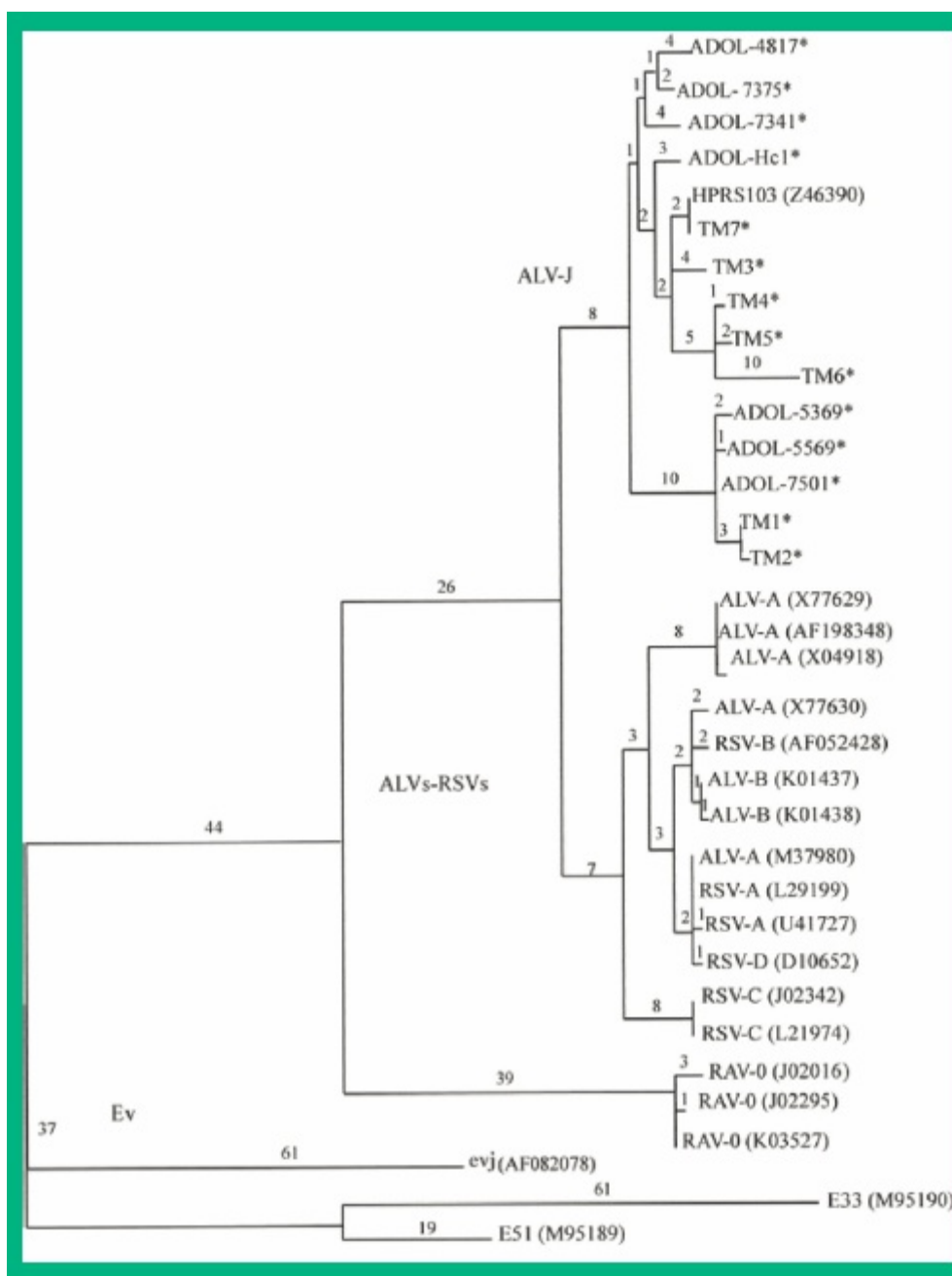


Figura 6 - Relação entre seqüências da LTR (long terminal repeats) de ALVs exógenos, Rous sarcoma virus (RSV) e genes virais endógenos (ev). As seqüências com asteriscos (\*) foram determinadas neste estudo. Seqüências obtidas no GenBank possuem número de acesso entre parêntesis. TM1 à TM7 (amostras provenientes do Brasil) estão relacionadas com tumores de fígado, baço, ossos. ADOL-Hc1 refere ao ALV-J protótipo Norte Americano e HPRS-103 ao protótipo inglês. As seqüências foram distribuídas em 3 grandes ramos: o primeiro incluem ALVs exógenos subgrupos A, B, J e RSV subgrupos A, B, C e D. O segundo ramo inclui o ALV endógeno RAV-0, e num ramo separado as seqüências endógenas evj, E33 e E51.

A filogenia representa o polimorfismo entre seqüências da LTR (*long terminal repeats*) de ALV/RSV e genes virais endógenos. Baseada neste alvo, foi desenvolvida metodologia rápida e eficiente para detecção direta e específica de ALVs exógenos (Fonseca *et al.*, 1998; Garcia *et al.*, 1998; Garcia *et al.*, 2003) através da PCR-RFLP. A análise de seqüências permitiu a escolha de enzimas de restrição que diferenciam ALV-J dos demais subgrupos via RFLP.

Dentre as principais aplicações da PCR/RFLP na detecção do ALV J, destacam-se as investigações de:

**Tumores** - na confirmação do ALV J como agente etiológico - particularmente interessante quando em uso consorciado com as técnicas de detecção de MDV e REV.

**Albúmen** - na evidenciação da transmissão vertical.

**Mecônio ou sangue total anticoagulado (ou soro/plasma) de pintos** - como a anterior, na evidência da transmissão vertical. Possibilita identificar aves infectadas em seus primeiros dias de vida proporcionando

- a. informações para implementação de programas de erradicação e/ou;
- b. definição da prevalência do patógeno no lote (através de uma amostragem com bases estatísticas). A definição da prevalência do ALV-J por transmissão vertical tem implicações prognósticas, por estabelecer potencial de expressão de ocorrência de neoplasias.

**Sangue total anticoagulado (ou soro/ plasma)** - para definição da incidência e prevalência do patógeno no lote.

**Suabe cloacal** - para definição da incidência e prevalência do patógeno no lote e caracterização de aves transmissoras do ALV-J.

No início do ano de 1998, foram investigados no Brasil (Simbios Biotecnologia) vários plantéis de avós, matrizes e frangos de corte. Em todas as linhagens de corte investigadas, foi evidenciada a ocorrência do vírus. Naquela circunstância, destacou-se uma interessante particularidade: grande heterogeneidade de resultados, inclusive numa mesma linhagem, com lotes ocasionalmente negativos, enquanto, outros, com prevalência em percentuais muito variados (de 2 a 3% a 10 a 30%, chegando a extremos de 60 a 70%).

Estudos de seqüenciamento e filogenia demonstraram que as cepas encontradas aqui (TM 1-7) são semelhantes aos descritos nos EUA e Inglaterra ([Figura 6](#)).

## Tipagem de IBDV

O vírus da doença de Gumboro (*infectious bursal disease virus* - ibdv) é o agente causal de doença imunossupressora altamente contagiosa que afeta principalmente aves jovens. O controle desta doença é realizado através de programas de vacinação e aplicação de normas de biossegurança.

A caracterização dos subtipos pode ser realizada por soroneutralização ou através de métodos moleculares (El-Attrache *et al.*, 2002; Ikuta *et al.*, 2001; Jackwood & Nielsen, 1997). Estas metodologias avaliam o VP2 viral, responsável pela produção de anticorpos neutralizantes.

Através da técnica de tipagem molecular é possível caracterizar e distinguir cepas vacinais, cepas de referência e amostras de campo provenientes de diferentes regiões do país (Ikuta *et al.*, 1998; Jackwood & Nielsen, 1997). A metodologia de tipagem possibilita agrupar vacinas comerciais com cepas de referência ([Figura 7](#)) (Fonseca *et al.*, 1997).

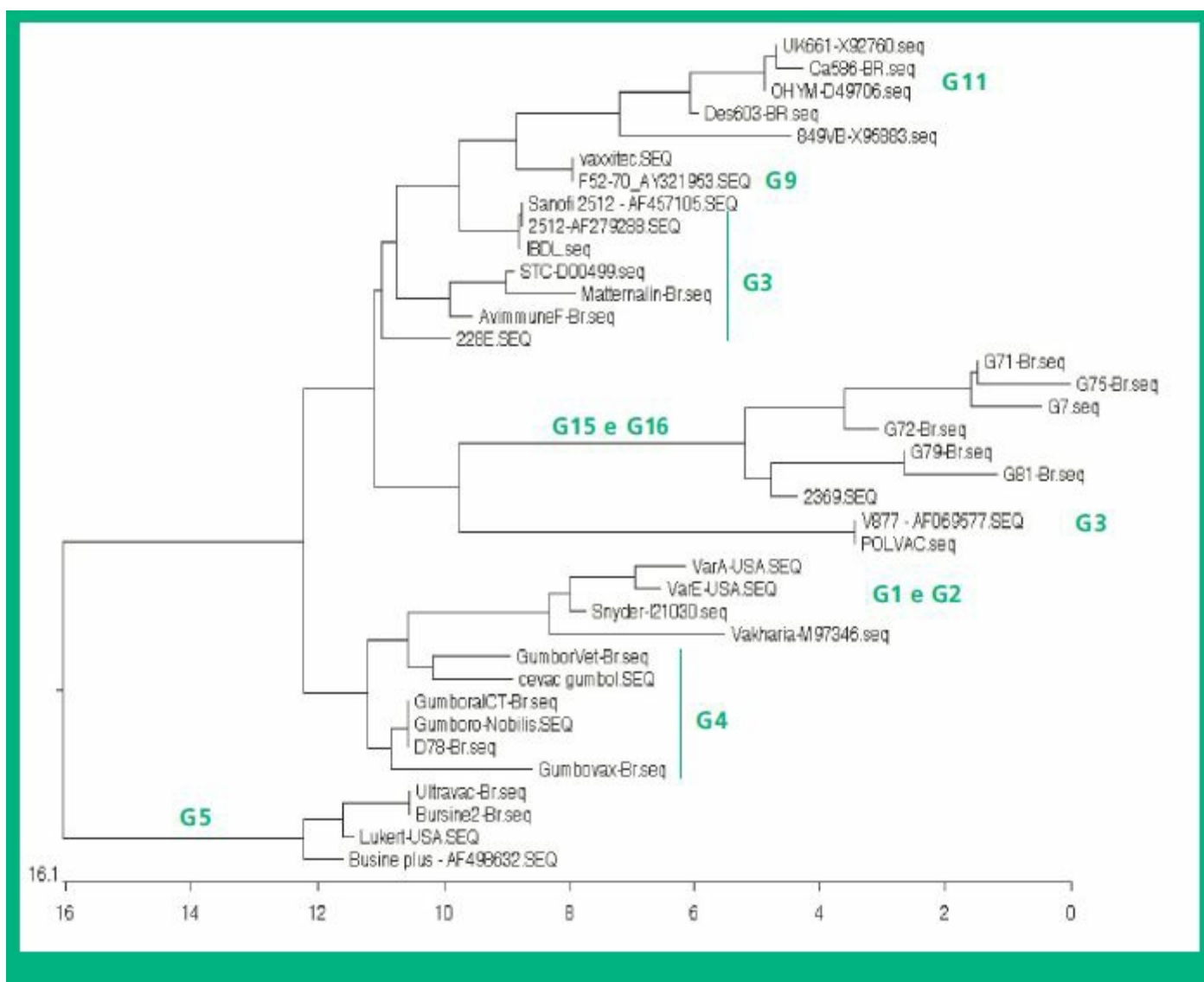


Figura 7 - Filogenia do vírus da doença de Gumboro baseada na composição de VP2.

Muitas cepas de campo apresentam padrão de VP2 viral distinto das vacinais, das cepas clássicas e das variantes descritas em outros países; o grupo de cepas brasileiras classificado como G15 mostrou-se bastante disseminado em todas as regiões do país. E com G16 atualmente ocorre o mesmo, apesar de que este mostrava-se originalmente restrito à região Sul (Ikuta *et al.*, 1997, 1998 e 2001). Estudos posteriores de seqüenciamento de nucleotídeos e aminoácidos de VP2 confirmam que nossas cepas de campo são distintas antígenicamente de cepas vacinais e de cepas clássicas e variantes descritas nos EUA. Foram estudadas também cepas altamente virulentas isoladas de estados da Região Sudeste, Sul, Centro Oeste e Nordeste, em focos de alta mortalidade com sintomas clínicos severos (Ikuta *et al.*, 2001), evidenciando padrão compatível com as cepas de alta virulência (vvIBDV) encontradas em várias regiões da Europa e Ásia - G11. Além disso, a metodologia desenvolvida tem sido utilizada para caracterizar amostras clínicas da Europa, Estados Unidos e América Latina (Majo *et al.*, 2002; Banda *et al.*, 2003).

Recentemente, nova geração de vacinas baseadas na tecnologia de DNA recombinante para o controle da doença de Gumboro foi introduzida no Brasil com a Vaxxitec®, em 2006; consiste de um vírus de Marek (HVT) que expressa VP2 de cepa clássica de Gumboro. A análise filogenética da seqüência de VP2 da Vaxxitec®, demonstrou 100% de identidade com a seqüência da cepa do Grupo Molecular 9 (G9) Farahger 52/70. A cepa vacinal pôde ser detectada em amostras clínicas como baço, folicúlos de pena e também na bursa de Fabricius. Novas vacinas são constantemente

desenvolvidas e a inclusão em grupos moleculares deverá ser realizada, analogamente, a partir de análises filogenéticas baseadas na comparação de seqüências de VP2.

### Detecção e tipagem de *Mycoplasma gallisepticum*

O isolamento de micoplasmas é realizado em poucos laboratórios de nosso país devido a dificuldades de cultivo deste microrganismo. As técnicas moleculares (PCR convencional e do *Real Time PCR*) possibilitam a obtenção mais rápida dos resultados, com uma sensibilidade analítica equivalente ou até mesmo superior a esta técnica (Callison *et al.*, 2006), principalmente na presença de algumas espécies intercorrentes (outros micoplasmas, ureaplasmas, entre outros).

Comparando-se as técnicas moleculares com as técnicas sorológicas, as primeiras detectam com maior precocidade, indicando seu uso no monitoramento dos lotes (Garcia *et al.*, 2005). Além disto, possibilitam detectar MG em lotes infectados com cepas vacinais ou atípicas que apresentam baixos títulos para SAR, HI e ELISA (Kleven *et al.*, 2004).

No Brasil, a vacinação com cepas vivas é ferramenta de controle desta enfermidade em aves de postura. Estão disponíveis no mercado três vacinas vivas, baseadas nas cepas F, TS-11 e 6/85. A diferenciação molecular das cepas vacinais com as de campo pode ser utilizada como um dos parâmetros para monitoria da eficiência de vacinação.

O desenvolvimento de nossa técnica diagnóstica baseou-se na caracterização de dois genes de MG - Lipoproteína e MGC2. DNA de cepas vacinais e de isolados de campo foram amplificados pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e submetidos à análise de perfil de restrição (RFLP). A análise destes genes permitiu a identificação de polimorfismos específicos para cada uma das cepas vacinais e também de padrões de cepas de campo (Ferguson *et al.*, 2005).

Suabes de traquéias de aves infectadas com MG, submetidas à análise pela metodologia proposta, demonstraram-se também passíveis de diferenciação molecular.

A técnica desenvolvida mostrou-se rápida, dispensando cultivo celular, permitindo não só detectar a presença do MG em aves infectadas, como também diferenciar cepas em grupos compatíveis com TS11, F, 6/85 e cepas de campo.

Nosso grupo tem realizado estudos de comparação de cepas e isolados de MG, baseados no seqüenciamento de genes relacionados com antígenos de superfície. A análise filogenética ([Figura 8](#)) ilustra o grau de semelhança entre as cepas e isolados de MG. Este tipo de comparação é a base para o contínuo aprimoramento das técnicas de tipificação.

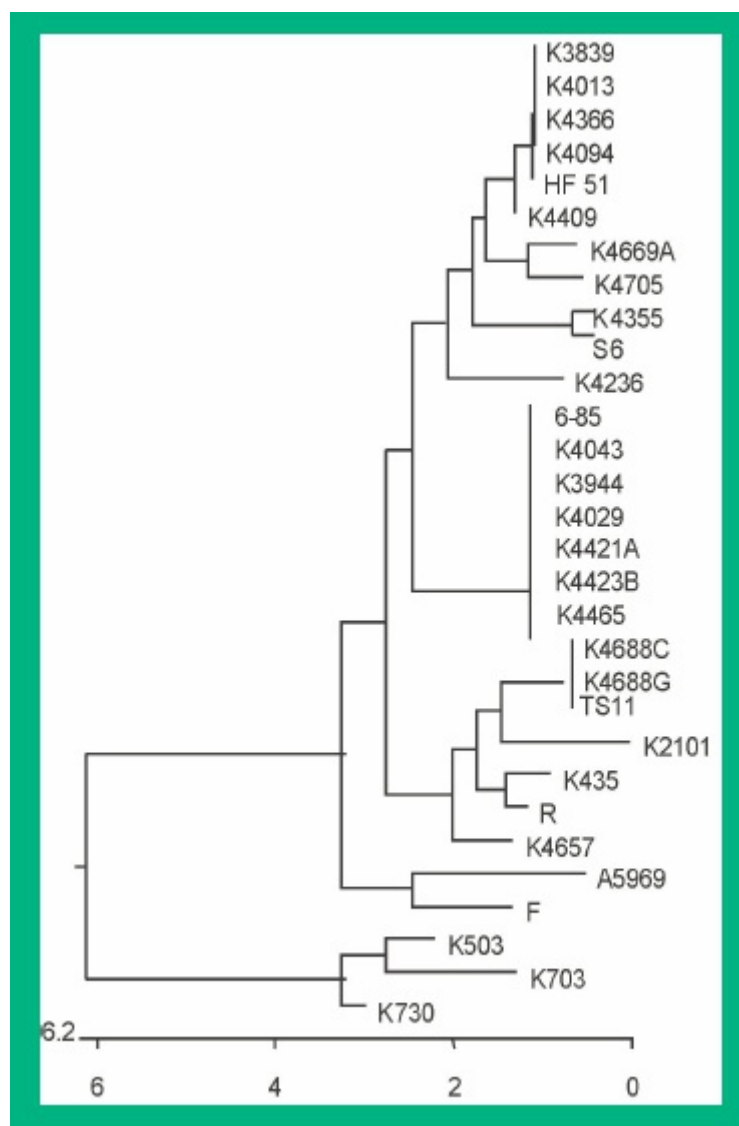


Figura 8 - Filogenia de cepas e isolados de MG isolados a partir de pássaros ornamentais, galinhas e perus.

## Detecção e identificação de sorotipos de *Salmonella*

Já foram descritos mais de 2.000 sorotipos de *Salmonella*. Alguns destes, distinguem-se pela adaptação a hospedeiros específicos nos quais causam patologias definidas (Gallinarum e Pullorum em aves e perus, Dublin em bovinos, Colerasuis em suínos, Typhi em humanos). Um segundo grupo, se caracteriza pela adaptação a diferentes espécies animais, podendo causar infecções de grau variável na sua gama de hospedeiros (principais exemplos são Enteritidis e Typhimurium). Finalmente, um terceiro grupo, não associado a patologias graves, pode ocorrer em animais domésticos, alimentos para consumo humano e em componentes utilizados na alimentação animal (farinha, ração).

A prevenção e controle dos sorotipos de *Salmonella* que representam risco para a segurança, produtividade e rentabilidade da agroindústria avícola, bem como ameaça para a saúde pública por meio da contaminação de alimentos, depende de um efetivo instrumento de detecção e caracterização destes microorganismos.

Metodologias moleculares para detecção e caracterização de *Salmonella* têm sido descritas e utilizadas em laboratórios comerciais desde a década passada (Lunge *et al.*, 1996a e b; Lunge *et al.*, 1997a e b; Marsiglia *et al.*, 1997). Recen- temente, a técnica de PCR em tempo real foi

descrita com a finalidade de detecção a partir de caldo de pré-enriquecimento (água peptonada), aprestando maior sensibilidade do que o método microbiológico completo seja na análise de alimentos (Boeira *et al.* 2006) ou na monitoria de lotes comerciais de reprodutoras (Koerch, 2006). Nestes casos, a técnica possibilitou uma obtenção rápida dos resultados, com alta capacidade de processamento de amostras.

Para identificação de sorotipos de relevância avícola, as metodologias descritas prevêm ampliações de genes distintos, principalmente invasina (*invA*), flagelina (*fliC*) e fimbrias (*sefA*, *pefA*). Conforme o produto de amplificação gerado, consegue-se identificar especificamente os sorotipos Enteritidis e Typhimurium. E com a análise de restrição destes alvos (RFLP), pode-se distingüir os sorotipos como Gallinarum e Pullorum (Lunge, 2000).

## Perspectivas

Análises de detecção e tipagem molecular de patógenos avícolas têm sido oferecidas em nosso País desde meados da década de 90. Desde então, o diagnóstico molecular tem contribuído para o desenvolvimento da nossa avicultura. Entre alguns exemplos, podemos citar a identificação de patógenos exóticos em nosso país como o ALV-J, o vírus da laringotraqueíte e a cepa Gumboro de alta virulência (vvIBDV – G11). Por outro lado, foram caracterizados também cepas variantes de Gumboro (IBDV G15 e G16) e vírus de bronquite (IBV) presentes exclusivamente em nosso país. Em outros estudos, foram descartados a ocorrência em nosso País de cepas variantes européias e norte americanas de IBV e IBDV, endossando a não utilização de cepas vacinais exóticas.

Restam como pendentes, importantes contribuições como a detecção e tipificação molecular de patógenos, particularmente os vírus da doença de Newcastle e da influenza aviária. Estas técnicas já estão descritas e são recomendadas internacionalmente (Organização Internacional de Epizootias / OIE – [www.oie.int](http://www.oie.int) cap 2.1.14 e 2.1.15). Como os vários exemplos aqui descritos, é possível a detecção rápida destes patógenos por PCR com posterior tipificação molecular. Isto poderia contribuir para um manejo eficiente com minimização do risco de disseminação destas graves patologias em nosso País.

A universalização do diagnóstico molecular na avicultura brasileira já está se tornando uma realidade. Para tanto, é necessário o desenvolvimento de procedimentos que possam ser utilizados nas próprias empresas, que tenham como características a alta capacidade de processamento de amostras, a fácil execução e obtenção de resultados reprodutíveis e a fácil interpretação. O diagnóstico molecular em nosso país já não é uma curiosidade científica – tem-se demonstrado efetivo na área acadêmica e nas agroindústrias, que estão incorporando estas metodologias no controle de qualidade de alimentos (detecção molecular de *Salmonella*, *Listeria monocitogenes*, *Campylobacter* etc) e, num futuro próximo, no diagnóstico e na monitoria de plantéis avícolas.

## Bibliografia

Abbas F, Andersen JR. Comparison of diagnostic tests for infectious laryngotracheitis. **Avian Diseases** 1995; 40:290-295.

- Arnold Jr. LJ, Hammond PW, Wiese WA, Nelson NC. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. **Clinical Chemistry** 1989; 35:1588-1594.
- Banda A, Villegas P, El-Attrache J. Molecular characterization of infectious bursal disease virus from commercial poultry in the United States and Latin America. **Avian Diseases** 2003; 47:87-95.
- Boeira TR, Lunge VR, Herrmann SM, Ikuta N, Fonseca ASK. Detecção de salmonela em alimentos pela técnica de PCR em tempo real. **Brazilian Journal of Poultry Science** 2006; 8:218-218.
- Boddinghaus B, Rogall T, Flohr T, Blocker H, Bottger EC. Detection and identification of mycobacteria by amplification of rRNA. **Journal of Clinical Microbiology** 1990; 28:1751-1759.
- Britten RJ, Davidson EH. **Hybridization Strategy**, P 3-14. In: Hames BD, Higgins SJ, editors. *Nucleic acid hybridization: a practical approach*. Oxford: IRL Press; 1985.
- Callison SA, Riblet SM, Sun S, Ikuta N, Hilt D, Leiting V, Kleven SH, Suarez DL, Garcia M. Development and validation of a real-time Taqman polymerase chain reaction assay for the detection of *Mycoplasma gallisepticum* in naturally infected birds. **Avian Diseases** 2006; 50:537-544.
- Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Nguyen PN, Caskey CT. Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. **Nucleic Acids Research** 1988; 16:11141-11156.
- Cohen ND, Wallis DE, Neiberghs HL, Mcelroy AP, Mcgruder ED, Deloach JR, Corrier DE, Hargis BM. Comparison of the polymerase chain reaction using genus-specific oligonucleotide *primers* and microbiologic culture for the detection of *Salmonella* in drag- swabs from poultry houses. **Poultry Science** 1994; 73(8):1276-81.
- El-Attrache J, Villegas P, Ikuta N, Banda A, Majo N. Molecular characterization of Spanish infectious bursal disease virus field isolates. **Avian Diseases** 2002; 46:859-868.
- Ferguson NM, Hepp D, Sun S, Ikuta N, Levisohn S, Kleven SH, García M. Use of molecular diversity of *Mycoplasma gallisepticum* by gene-targeted sequencing (GTS) and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis for epidemiological studies. **Microbiology** 2005; 151:1883-1893.
- Ferreira ME, Grattapaglia D. **Introdução ao Uso de Marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA- CENARGEN; 1995. 220p.
- Fonseca ASK, Ikuta N, Lunge VR, Marques EK, Garcia M. **Diagnóstico molecular do vírus da leucose aviária - subgrupo J**. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1998; Campinas, SP. Brasil. 1998.
- Garcia M, El-Attrache J, Riblet SM, Lunge VR, Fonseca AS, Villegas P, Ikuta N. Development and application of reverse transcriptase nested polymerase chain reaction test for the detection of exogenous avian leukosis virus. **Avian Diseases** 2003; 47:41-53.

García M, Riblet S, Ikuta N, Lunge VR. **Molecular diagnosis and differentiation of Avian Leukosis Virus subgroup J (ALV-J)**. The 135th Annual Convention American Veterinary Medical Association; 1998; Baltimore, Maryland, USA. 1998.

García M, Ikuta N, Levisohn S, Kleven SH. Evaluation and Comparison of Various PCR Methods for Detection of *Mycoplasma gallisepticum* Infection in Chickens. **Avian Diseases** 2005; 49:125-132.

Gibson UEM, Heid CA, Williams PM. A novel method for Real Time quantitative RT-PCR. **Genome Research** 1996; 6:995-1001.

Haqqi TM, Sarkar G, David CS, Sommer SS. Specific amplification with PCR of a refractory segment of genomic DNA. **Nucleic Acids Research** 1988; 16:11844.

Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real Time quantitative PCR. **Genome Research** 1996; 6:986-994.

Ikuta N, Fonseca ASK, Lunge VR, Garcia M, Marques EK, Villegas P. **Estudo da composição antigênica de variantes do vírus da doença de Gumboro (IBDV)**. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1998; Campinas, SP. Brasil.

Ikuta N, Fonseca ASK, Verdi Filho R, Oliveira C, Chiaramonte V, Lunge VR. **Caracterização de genótipos de campo do vírus da doença de gumboro (IBDV) no Brasil**. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola; 1997; São Paulo, SP. Brasil.

Ikuta N, Marques EK, Garcia M, El-Attrache J, Fonseca ASK, Villegas P, Oliveira C, Lunge VR. Molecular characterization of Brazilian infectious bursal disease viruses. **Avian Diseases** 2001; 45:297-306.

Jackwood DJ, Nielsen CK. Detection of infectious bursal disease viruses in commercially reared chickens using the reverse transcriptase/ polymerase chain reaction-restriction endonuclease assay. **Avian Diseases** 1997; 41(1):137-43.

Jestin V, Jestin A. Detection of Newcastle disease virus RNA in infected allantoic fluids by in vitro enzymatic amplification (PCR). **Archives Virology** 1991; 118 (3-4):151-61.

Kleven SH, Fulton RM, Garcia M, Ikuta N, Leiting VA, Liu T, Ley DH, Opengart KN, Rowland GN, Wallner-Pendleton E. Molecular characterization of *Mycoplasma gallisepticum* isolates from turkeys. **Avian Diseases** 2004; 48:562-529.

Koerich PKV. **Comparação entre Real Time PCR e dois métodos microbiológicos semi-sólido Rappaport-Vassiliadis e duplo enriquecimento, para detecção de Salmonella, em reprodutoras de frango**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Luterana do Brasil, Canoas. RS.

Kwon HM, Jackwood MW, Brown TP, Hilt DA. Polymerase chain reaction and a biotin-labeled DNA probe for detection of infectious bronchitis virus in chickens. **Avian Diseases** 1993a; 37(1):149-56.



Kwon HM, Jackwood MW, Gelb J. Differentiation of infectious bronchitis virus serotypes using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. **Avian Diseases** 1993b; 37:194-202.

Livak KJ, Flood SJA, Marmaro J, Giusti W, Deetz K. Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. **PCR Methods and Applications** 1995; 4:357- 362.

Lunge VR. **Desenvolvimento de técnicas de biologia molecular para a detecção e identificação de *Salmonella* e *Listeria monocytogenes***. Tese (Doutorado). Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS; 2000.

Lunge VR, Ikuta N, Fonseca ASK, Garcia M, Jackwood M, Marques EK, Villegas P. **Caracterização de variantes do vírus da bronquite infecciosa (IBV)**. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1998; Campinas, SP. Brasil.

Lunge VR, Ikuta N, Fonseca ASK, Irino K, Marques EK. Diversidade genética de isolados de *Salmonella enterica* subespécie enterica. **Revista Brasileira de Genética** 1997; 20:51.

Lunge VR, Ikuta N, Fonseca ASK, Irino K, Veiga AB, Marques EK. **Desenvolvimento de testes para detecção molecular e diferenciação de sorotipos de *Salmonella* para controle de plantéis e de alimentos de origem animal**. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola; 1996a; Curitiba, PR. Brasil.

Lunge VR, Veiga AB, Ikuta N, Fonseca ASK, Marques EK. *Salmonella* species and serovars characterization by PCR-RFLP of the invAgene. XLII Congresso Brasileiro de Genética. Caxambú, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Genética** 1996b; 19(3):C.342.

Lunge VR, Miller BJ, Livak K, Batt CA. Factors affecting the performance of 5' nuclease PCR assays for *Listeria monocytogenes* detection. *Journal of Microbiological Methods* 2002; 51(3):361-8.

Majo N, El-Attrache J, Banda A, Villegas P, Ramis A, Pages A, Ikuta N. Molecular characterization of Spanish infectious bursal disease virus field isolates. **Avian Diseases** 2002; 46:859-868.

Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory; 1982.

Marsiglia ML, Ikuta N, Fonseca ASK, Schuch DT, Hötzel I, Ozaki LS, Lunge VR. Development of a Combined Selective Enrichment Method and Polymerase Chain Reaction (PCR) Assay for Sensitive Detection of *Salmonella* in Food Samples. **World Journal of Microbiology Biotechnology** 1997; 13 (6):649-654.

Molloy JB, Eaves FW, Jeston PJ, Minchin CM, Stewart NP, Lew AE, Jorgensen WK. Detection of *Eimeria acervulina* using the polymerase chain reaction. **Avian Diseases** 1998; 42(1):119-23.

Moseley SL, Huq I, Alim ARMA, So M, Samadpour-Motalebi M, Falkow S. Detection of

enterotoxigenic *Escherichia coli* by DNA colony hybridization. **Journal of Infectious Diseases** 1980; 142:892-898.

Mullis KB. Process for amplifying nucleic acid sequences. US Patent 4.683.202. 1987.

OIE Office International Des Epizooties. **Manual of standards for diagnostic tests and vaccines**. 4th ed. Available from: [http://www.oie.int/eng/publicat/en\\_standards.htm](http://www.oie.int/eng/publicat/en_standards.htm)

Pollard-Knight D, Read CA, Downes MJ, Howard LA, Leadbetter MR, Pheby SA, Mcnaughton E, Syms A, Brady MA. Nonradioactive nucleic acid detection by enhanced chemiluminescence using probes directly labeled with horseradish peroxidase. **Analytical Biochemistry** 1990; 185:84-89.

Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim H. Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for the diagnosis of sickle-cell anemia. **Science** 1985; 230:1350-1354.

Salomon RN. Introduction to quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. **Diagnostic Molecular Pathology** 1995; 4:82-84.

Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. **Journal of Molecular Biology** 1975; 94:441-448.

Schwartz DC, Cantor CR. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. **Cell** 1984; 37: 67-75.

Senne DA, Panigrahy B, Kawaoka Y, Pearson JE, Suss J, Lipkind M, Kida H, Webster RG. Survey of the hemagglutinin (HA) cleavage site sequence of H5 and H7 avian influenza viruses: amino acid sequence at the HA cleavage site as a marker of pathogenicity potential. **Avian Diseases** 1996; 40 (2):425-37.

Silva RF. Differentiation of Pathogenic and Non-Pathogenic serotype 1 Marek's Disease Viruses (MDVs) by the Polymerase Chain Reaction Amplification of Tandem Direct Repeats within the MDV Genome. **Avian Diseases** 1992; 36:521-528,

Silva R. **PCR as a tool for differential diagnosis of avian tumor viruses and tumors**. In: Fadly AM, Shat KA, Spencer JL. Symposium on Diagnosis and Control of Neoplastic Diseases of Poultry. Kennett Saquare: American Association of Avian Pathologists; 1997.

Silveira RM, Fiorentin L, Marques EK. Polymerase Chain Reaction optimization for *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* diagnosis. **Avian Diseases** 1996; 40:218-222.

Silveira RM, Fiorentin L, Marques EK, Fonseca ASK. **Otimização do diagnóstico de *Mycoplasma gallisepticum* através da técnica de PCR**. Anais da Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola; 1995; Curitiba, SP. Brasil. p.181-182.

Soiné C, Watson SK, Rybicky E, Benjamín L. Determination of the Detection Limit of the polymerase chain reaction for chicken infectious anemia virus. **Avian Diseases** 1993; 37:467-476.

Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. **Journal of Molecular Biology** 1975; 98:503-517.

Swaminathan B, Matar GM. **Molecular typing methods**. In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC, White TJ, editors. Diagnostic molecular microbiology: principles and applications. Washington: ASM Press; 1999.

Tang YW, Persing DH. **Molecular detection and identification of microorganisms**. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington: ASM Press; 1999.

Tenover FC, Unger ER. **Nucleic acid probes for detection and identification of infectious agents**. In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC, White TJ, editors. Diagnostic molecular microbiology: principles and applications. Washington: ASM Press; 1993.

Tenover FC. Diagnostic deoxyribonucleic acid probes for infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews** 1988; 1:82-101.

Wallace RB, Shaffer J, Murphy RF, Bonner J, Hirose T, Itakura K. Hybridization of synthetic oligodeoxyribonucleotides para fX174 DNA: the effect of single base pair mismatch. **Nucleic Acids Research** 1979; 6:3543-3557.

Wetmur JG. DNA probes: applications of the principles of nucleic acid hybridization. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology** 26; 227-259.

Witter RL. **Neoplastic diseases: reticuloendotheliosis**. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997.

Xie Z, Fadl AA, Girshick T, Khan MI. Amplification of avian reovirus RNA using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. **Avian Diseases** 1997; 41:654-660.

Zabeau M. **Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting**. European Patent Application n° 0534858 A1. 1993.

<b>Nota do autor</b>	<b>123</b>
<b>Introdução</b>	<b>124</b>
<b>Processamento das amostras teciduais a campo</b>	<b>124</b>
<i>Diagnóstico diferencial macroscópico entre necrose e autólise post-mortem</i>	124
<i>Histopatologia diferencial entre necrose e autólise post-mortem</i>	125
<b>Coleta de amostras clínicas</b>	125
<i>Fixação do material</i>	126
<b>Algumas considerações sobre os aspectos celulares do processo inflamatório em aves</b>	<b>126</b>
<b>Histopatologia especial do trato respiratório</b>	<b>127</b>
<i>Doenças bacterianas</i>	128
<i>Doenças micóticas</i>	129
<i>Doenças virais</i>	129
<i>Doenças parasitárias</i>	130
<i>Doenças neoplásicas pulmonares</i>	130
<b>Histopatologia especial do tecido linfóide/hematopoiético</b>	<b>131</b>
<b>Histopatologia especial do sistema digestivo</b>	<b>133</b>
<b>Histopatologia especial do sistema urogenital</b>	<b>137</b>

<i>Doenças virais</i>	137
<b>Órgãos reprodutores</b>	<b>138</b>
<b>Histopatologia especial do sistema circulatório</b>	<b>139</b>
<b>Histopatologia especial do sistema locomotor e da pele</b>	<b>141</b>
<b>Histopatologia especial do tecido muscular</b>	<b>143</b>
<b>Histopatologia especial da pele</b>	<b>144</b>
<b>Histopatologia especial do sistema nervoso e olhos</b>	<b>145</b>
<b>Histopatologia especial do globo ocular</b>	<b>146</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>147</b>

## Capítulo 2.3 - Diagnóstico histopatológico

**Edson Luiz Bordin**

### Nota do autor

O tema *Diagnóstico Histopatológico*, da maneira como disposto, aborda, da forma mais prática possível, as alterações histopatológicas registradas nas mais importantes doenças que comprometem as aves domésticas de interesse zootécnico.

Sabe-se que para um perfeito diagnóstico histopatológico concorre uma série de fatores complementares, por vezes bastante heterogêneos, e que o padrão de qualidade destes em muito o afeta. Entre esses fatores, situam-se aqueles ligados à própria avaliação da ocorrência a campo, incluindo o histórico, a necropsopia e a sua interpretação anatomopatológica e, também, a coleta das amostras clínicas.

Esse texto contempla algumas das implicações acima, incluindo informações adicionais importantes, e embora não se trate de um texto específico sobre coleta de amostra para exames laboratoriais, algumas referências são da mesma forma direcionadas a essa prática, especificamente aquelas que mais afetam a qualidade do exame histopatológico e o próprio laudo laboratorial.

Objetivando também propiciar ao médico-veterinário de campo o máximo de auxílio quanto à interpretação das lesões e do laudo no qual constam, foi incluída uma breve revisão sobre o processo inflamatório e outras reações de defesa às noxas que freqüentemente acometem a espécie.

Finalmente, embora essa obra pretenda descrever as alterações histopatológicas sistêmicas de importância diagnóstica registradas nas doenças mais importantes, não cobre todas aquelas que comprometem as aves, nem todos os sistemas orgânicos. Isso se deve a fatores correlacionados com a própria diagramação dos capítulos, bem como com o espaço gráfico disponível. Também procurou-se imprimir à revisão algumas considerações práticas extraídas de quase 20 anos de atividade setorial, além da bibliografia disponível, que aliás não é muita extensa, já que trabalhos em histopatologia aviária são relativamente escassos em termos de publicações indexadas em *Patologia Animal*.

Deseja-se que esse item do Livro *Patologia Aviária*, disponibilizado pela FACTA, seja plenamente útil ao médico-veterinário de campo em seu trabalho rotineiro. Para encerrar, convém enfatizar que os conhecimentos em patologia e em diagnóstico estão se expandindo rapidamente, de modo que uma revisão do texto será seguramente requerida em alguns anos.

### Introdução

O diagnóstico histopatológico, sobretudo quando bem substanciado em laudos claros e bem

orientados, na medida em que tenta relacionar causa-efeito, pode constituir-se num elemento de inestimável suporte ao clínico, quer de forma isolada, ou como parte de outros métodos diagnósticos investigativos de patologias de campo ou experimentais.

A clareza com que as descrições histopatológicas estão providas num laudo laboratorial pode contribuir ou não com a interpretação do problema e sua resolução e, dessa forma, influir, em maior ou menor proporção, na própria percepção da utilidade do exame e na frequência posterior com que o mesmo é solicitado. Outro aspecto, também bastante relevante e que deve ser referenciado quando se consideram as implicações diretas ou indiretas do diagnóstico histopatológico e sua interpretação, está afeito ao nível com que o médico- veterinário maneja seus conhecimentos em patologia básica. Portanto, a preparação acadêmica em patologia constitui-se em pilar fundamental, não somente concorrendo a uma apropriada interpretação do laudo, o qual, infelizmente, nem sempre contempla uma relação causa-efeito como desejável, como também conferindo as bases para a descrição da patologia macroscópica de extrema importância, sobretudo ao pré-diagnóstico e suas medidas decorrentes, além de orientar sobre a coleta do material. Convém agora abordar alguns aspectos importantes correlacionados à coleta e à conservação do material destinado ao exame histopatológico.

Muito provavelmente, a situação ideal seria o estudo de tecidos vivos, fato praticamente impossível no atual momento tecnológico padrão que dispomos. Dessa forma, a excelência da coleta deve sempre contemplar os objetivos abaixo:

- preparação de cortes de tecidos, os mais finos possíveis, preferencialmente envolvendo uma ou duas camadas de células;
- manutenção da arquitetura normal do tecido;
- boa diferenciação das estruturas celulares e fixação do corante;
- preparação final (cortes de tecidos) factível de ser mantida por extensos períodos.

## Processamento das amostras teciduais a campo

Inicia-se a abordagem deste tema pela revisão minuciosa de alguns aspectos importantes ligados à diferenciação entre necrose e autólise *post-mortem*. Isso é de interesse prático imediato, já que não são poucas as ocasiões em que material autolisado é fixado e enviado para análise microscópica, o que, evidentemente, invalida todo o processo de investigação, além de implicar em perda importante de tempo e em custos adicionais.

### Diagnóstico diferencial macroscópico entre necrose e autólise *post-mortem*

Numa necrópsia e/ou num procedimento de coleta de amostras clínicas para exame histopatológico, tem-se que considerar há quanto tempo o animal morreu. Tanto a autólise como a putrefação são retardadas se o cadáver for mantido em baixa temperatura. Assim, no verão, as alterações *post-mortem* dão-se em algumas horas e quando o animal é mantido em geladeira ou câmara frigorífica, só ocorrem após muitos dias. Aves mais obesas, como reprodutoras, em alguns casos, evidenciam alterações *post-mortem* mais precoces pelo efeito isolante da gordura. Por outro lado, sabe-se que as alterações cadavéricas são aceleradas quando a temperatura corporal é muito alta no momento da morte, como ocorre quando bactérias potencialmente putrefativas são

disseminadas pelo sangue, o que é registrado principalmente no decurso de algumas *clostridioses* (enterite necrótica e enterite ulcerativa, eventualmente).

Quando as alterações *post-mortem* estão muito avançadas, as superfícies mucosas dos órgãos digestivos como o esfíncter, o pró-ventrículo, além dos intestinos, tornam-se facilmente destacáveis ou descamáveis com a inspeção manual. Nesses casos, é necessário saber se o tecido necrosou antes da morte somática do organismo ou se a alteração é produto de autólise. Tal diferença é feita através de análise histopatológica. Outros tecidos, como o muscular estriado, também exibem sinais característicos, tornando-se moles, decorados, aquosos, assemelhando-se à carne ligeiramente cozida. Quando a autólise *post-mortem* não está muito avançada, um sinal importante é a embebição sangüínea. As hemácias contidas nos vasos sangüíneos sofrem hemólise e, ao mesmo tempo, as paredes dos vasos tornam-se mais permeáveis aos líquidos. Conseqüentemente, o plasma corado pela hemoglobina em vermelho escuro infiltra-se nos tecidos. Isso resulta numa orla vermelho-escura ao longo do curso dos vasos, facilmente perceptível nos tecidos brancos, tais como o mesentério.

Se a embebição sangüínea ocorre no trato intestinal, o hidrogênio sulfurado proveniente da putrefação combina com o ferro da hemoglobina, formando o sulfureto de ferro que cora os tecidos em azul-cinza, verde ou preto. É a chamada pseudo-melanose, vista freqüentemente no peritônio, notadamente, o visceral. A embebição pela bile é uma infiltração semelhante de material biliar através das paredes biliares autolisadas, corando tecidos hepáticos ou não, adjacentes, em cor esverdeada.

Outros detalhes são observados ao se abrir o coração. Ordinariamente, a rigidez cadavérica contrai fortemente o ventrículo esquerdo, esvaziando-o. O ventrículo direito, no entanto, permanece mais ou menos repleto de sangue, e quando esse sangue é hemolisado poucas horas após a morte, a superfície do ventrículo adquire uma coloração vermelho intensa, sem brilho e que não desaparece com a lavagem. Se o ventrículo esquerdo contiver sangue e esse não estiver coagulado, isso indica que a rigidez cadavérica ainda não começou e a morte é recente. Entretanto, já 24 horas após a morte, dependendo da temperatura, a rigidez cadavérica desaparece, deixando o sangue escuro, hemolisado, procedente de coágulos desintegrados, escorrer de volta ao ventrículo. Isso indica autólise *post-mortem* prolongada. Se o ventrículo esquerdo contiver coágulo sangüíneo, tal fato indica extrema debilidade, afetando a manifestação da rigidez cadavérica. Essa ocorrência não é infreqüente nos casos de doenças mais prolongadas e em algumas cardiopatias.

### Histopatologia diferencial entre necrose e autólise *post-mortem*

É extremamente importante, tanto para o patologista como para o médico-veterinário clínico, conhecer algumas considerações extraídas das opiniões de vários especialistas:

**1-** Encontrando-se num mesmo corte tecidos normais ao lado de tecidos com características de morte, parece evidente que a parte morta deveria resultar da necrose e não de autólise *post-mortem*. Infelizmente, os fatos não são tão simples. A autólise *post-mortem*, às vezes, mostra distribuição focal, que é enganosa e justifica a exigência de outros critérios para decidir entre tecido morto antes e depois da morte somática do organismo.



**2-** Deve-se examinar as hemácias presentes dentro dos vasos sanguíneos para verificar a nitidez de seus limites e a intensidade com que absorvem o corante. A hemólise intravascular ocorre após a morte e, dessa forma, indica um certo grau de autólise post- mortem. Na coloração pela hematoxilina- eosina, as hemácias normais fixadas pelo formol se coram em vermelho brilhante. É importante lembrar que as hemácias expulsas da circulação nos casos de hemorragias sofrem hemólise por hipóxia no organismo ainda vivo. Dessa maneira, não se prestam para determinar se houve ou não autólise *post-mortem*.

**3-** É provável que critério mais importante relativo ao diferencial entre ambas as condições resida no fato de que o tecido necrosado tende sempre a atuar como um agente irritante. Isso ocorre porque libera mediadores de um processo inflamatório, determinando uma vasodilatação, o que atrai as células inflamatórias, notadamente heterófilos, também denominados de neutrófilos, ao local. Dessa maneira, observa-se amiúde uma ligeira área de hiperemia e infiltrado inflamatório circundando o tecido morto /necrosado, quando a lesão for ante- mortem.

## Coleta de amostras clínicas

O primeiro passo no processamento da coleta envolve a seleção e remoção das amostras de tecidos mais apropriadas para o estudo histopatológico. Abaixo, listam-se algumas sugestões que, caso seguidas, determinam um melhor processamento laboratorial e um melhor

exame, cujos resultados poderão ser mais úteis:

**1-** Colete o material clínico o mais imediatamente após a morte ou sacrifício. A autólise, como anteriormente citado, normalmente tem seu início imediatamente após a morte e prossegue rapidamente em alguns órgãos. Como visto, o intestino, por exemplo, requer uma atenção maior, devendo ser o primeiro material a ser devidamente coletado. A mucosa da vesícula biliar é também particularmente sensível, seguida por outros órgãos parenquimatosos, como o tecido linfóide.

**2-** Esteja certo de incluir porções representativas das lesões. Não se restrinja, por exemplo, a áreas centrais de um tecido necrosado ou hemorrágico.

**3-** Sempre inclua uma porção de tecido aparentemente sadio, observado nas bordas das lesões aparentemente ativas.

**4-** Inclua amostras de vários tecidos se suspeitar de uma doença que envolva vários sistemas. O valor da histopatologia pode estar comprometido nos casos de coletas apenas parciais. Ao cortar os tecidos selecionados, use instrumental adequado e em condições de uso. Evite esmagar ou triturar as amostras.

## Fixação do material

Trata-se de um processo seqüencial de extrema importância, já que também interfere, em última instância, na qualidade do exame laboratorial, ou seja, em seus benefícios. Uma boa fixação assegurará os seguintes objetivos:

- rápida difusão tecidual;
- rápida estabilização das atividades enzimáticas, prevenindo autólise;
- mínimo comprometimento das células e arranjos das organelas celulares;
- ótimo enrijecimento do tecido prevenindo distorção durante os outros estágios de processamento laboratorial;
- compatibilidade ótima com uma ampla variedade de técnicas de coloração;
- custo realístico.

O agente químico mais apropriado à fixação é a formalina. Algumas das fórmulas mais utilizadas e algumas observações constam abaixo:

### **Formol tamponado neutro a 10% ( Fixa entre 12 a 24 horas)\***

Formalina comercial ( aldeído fórmico 37-40 vol.) 100,0 ml

Água destilada 900,0 ml

Fosfato de sódio monobásico 4,0 g

Fosfato de sódio bibásico 6,5 g

OBS: Corrigir o PH para 7,5 utilizando papel indicador e NaOH a 10%.

### **Formol salino a 10%**

Formalina comercial ( aldeído fórmico 37-40 vol.) 100,0 ml

Cloreto de sódio 9,0 ml

Água comum filtrada 900,0 ml

### **Bouin (Fixa em 4 a 12 horas. Requer lavagem em álcool 70% por 4 a 6 horas)**

Ácido pícrico, solução aquosa saturada 150,0 ml

Formalina comercial ( aldeído fórmico 37-40 vol.) 250,0 ml

Ácido acético glacial 50,0 ml

Uma vez que as amostras estejam devidamente coletadas, fixadas e remetidas ao laboratório, resta o processamento do material, que pode envolver a inclusão em parafina ou o corte imediato através de micrótomo de congelação. A tarefa seguinte é a coloração. O corante mais utilizado como rotina em histopatologia é a *hematoxilina-eozina*. É importante lembrar que os corantes ácidos tendem a corar estruturas celulares nas quais predominam cátions, enquanto os corantes básicos concentram-se em estruturas nas quais predominam os ânions. A *hematoxilina* é um corante básico e se concentra no núcleo onde os ácidos nucléicos são abundantes. Já a eozina é um corante ácido e se concentra no citoplasma onde predominam cátions (potássio, cálcio etc). Dessa forma, o citoplasma celular é tido como acidófilo ou eozinofílico. Já o núcleo é basofílico. Outros corantes podem ser usados, dependendo do que se busque. Assim, o PAS presta-se bem à coloração de alguns patógenos, o Sudam à identificação de depósitos de gordura e etc.

## **Algumas considerações sobre os aspectos celulares do processo inflamatório em aves**

A análise do processo inflamatório em aves faz-se muito importante, já que a maioria das patologias registradas, de forma imediata ou não, determinam reações inflamatórias variáveis, cujo entendimento depreende uma melhor interpretação do laudo histopatológico. Assim, trata-se de tema estratégico por ser uma reação encontrada tanto nas agressões antigênicas comuns, como virais, bacterianas, micóticas, parasitárias, como também nas toxicoses, distúrbios metabólicos, doenças neoplásicas etc. Aliás, a interpretação dessas lesões constitui um desafio importante também ao patologista que procede com a análise de material de aves, principalmente quando sua experiência prévia confina-se a doenças de outras espécies, não aviárias.

Sabe-se que as aves respondem aos estímulos antigênicos de forma similar aos mamíferos. Ocorre, portanto, a produção de imunoglobulinas IgG, IgM e IgA e, assim, o envolvimento com reações, tais como aquelas ligadas à hipersensibilidade, notadamente a retardada. Outro aspecto importante do processo inflamatório reacional é a resposta celular, e ela envolve a ativação de macrófagos, granulócitos, células da linhagem T, quer sejam *helper* ou supressoras, além de células citotóxicas. Apesar de existir um sistema linfóide, não há linfonodos, sendo que esses estão representados por agrupamentos linfocíticos dictomizados, ou seja, de dupla origem, bursais ou tímicos.

Os granulócitos citados representam dois tipos particulares de células da mesma origem. Os heterófilos equivalem-se aos neutrófilos dos mamíferos e aos eosinófilos, ambos diferenciáveis histologicamente, desde que adotada a metodologia apropriada. Os heterófilos contêm lisosomas e são, portanto, capazes de exercer alguma fagocitose ativa e rápida degradação de uma ampla variedade de bactérias e de outros patógenos. Aliás, os mecanismos de fagocitose desempenham importante linha de defesa do organismo da ave. Já as funções dos eosinófilos não são tão claras como as identificadas nos mamíferos. Acredita-se que estejam afeitas com as reações de hipersensibilidade retardada. Aparentemente, não se associam às agressões parasitárias por exemplo, tão bem caracterizadas em outros animais.

Considerando-se as reações inflamatórias quanto a sua agudeza, sabe-se, atualmente, que os processos dessa natureza envolvem edema, hiperemia e outras reações vasculares mediadas por aminas vasoativas liberadas pelos basófilos e mastócitos. São frequentemente observáveis nos tecidos, para onde são transportadas, estimuladas pelos próprios produtos da injúria.

Basicamente, seguido ao estímulo, a reação é inicialmente dominada por afluxo de heterófilos dentro das 3 horas iniciais, sendo que a degranulação dessas células parece ser aspecto comum. Em termos de diagnóstico histopatológico, nem sempre se deparam com essas células, já que a maior concentração delas se dá, conforme citado, em fases bastante precoces. Os linfócitos, independentemente da origem, além de células derivadas (células plasmáticas), acumulam-se na periferia das áreas afetadas após aproximadamente 6 horas da injúria e dominam a reação por 2 a 5 dias. Dessa forma, deduz-se que tecidos coletados nessa fase apresentam, geralmente, uma resposta não purulenta, tendendo à proliferativa. Evidentemente, isso torna proporcionalmente mais difícil a relação causa-efeito, razão pela qual alguns patologistas baseiam-se apenas no diagnóstico morfológico, o que requer esforço interpretativo extra do médico- veterinário de campo remetente das amostras.

Na medida em que o processo evolui, espera-se uma caracterização ainda mais proliferativa da lesão. Essa fase é concomitante ao desaparecimento gradual dos heterófilos, bem como de

algumas células mononucleares, os linfócitos, incluindo as células plasmáticas, referidas acima. Nesse momento, os macrófagos tornam-se abundantes, fundindo-se, o que acaba por gerar células gigantes multinucleadas. Os macrófagos teciduais são diferenciados a partir dos monócitos sangüíneos, tendo sua origem na medula óssea. Atualmente, sabe-se que os fagócitos mais ativos no processo inflamatório em aves, independentemente do curso do mesmo, são esses macrófagos teciduais, já que aparentemente reacionam mais que os heterófilos. Referente ao granuloma, é fato bastante comprovado que as aves os desenvolvem muito mais freqüentemente e com muito mais rapidez que os mamíferos.

As características específicas ligadas aos processos reacionais inflamatórios das aves, conforme acima referido, justificam o predomínio das exsudações fibrino-caseosas com células mononucleares sobre aquelas predominantemente purulentas, como observadas entre os mamíferos, tanto do ponto de vista macroscópico como histológico.

## **Histopatologia especial do trato respiratório**

Enquanto o trato respiratório superior das aves é razoavelmente idêntico ao dos mamíferos, o segmento posterior é bastante diferente. Assim, a cavidade nasal, os sinus e a traquéia são bastante similares e não representam maiores dificuldades em termos de interpretação das lesões. Os pulmões não são lobulados nem elásticos e estão intimamente relacionados às costelas, de modo que impressões dessas, no parênquima do órgão, são normais. Os brônquios dividem-se em primários, secundários e terciários, sendo que a unidade básica do órgão corresponde aos terciários. Histologicamente, essas estruturas correspondem a um lumem, circundado por um parênquima composto de capilares- alvéolos. Não há nas aves um diafragma verdadeiro, o que impede a expulsão voluntária de ar ou excreta, de modo que a fagocitose se constitui na única maneira efetiva de remover material irritante, seja ele de natureza biológica ou não. As lesões, motivadas por doenças que afetam o trato respiratório das aves, estão fartamente documentadas em função da importância econômica das mesmas. A classificação adotada nesse momento é adaptada daquela elaborada por Helmboldt em revisões prévias (1970), e basicamente referencia o agente etiológico em primeira instância.

Em geral, as respostas lesivas às diversas noxas agressivas são as mesmas, situando-se no segmento superior ou inferior, envolvendo, desde cavidade sinusal, a porção média da cavidade nasal, até as ramificações bronquiais nos pulmões. Abaixo, listam-se as respostas patológicas mais freqüentes e os locais do trato nos quais se assentam:

### **Epitélio**

- hiperplasia das células produtoras de muco;
- perda cilial;
- metaplasia;
- necrose.

### **Lâmina própria**

- hiperemia-congestão;

- edema;
- hemorragia;
- infiltração de células inflamatórias por:
  - heterófilos
  - linfócitos
  - células plasmáticas
  - macrófagos
  - fibrose
  - hiperplasia de glândulas mucosas

Considerando as doenças quanto à etiologia e suas conseqüências lesionais, tem-se:

### • doenças bacterianas

- a) Coriza Infecciosa (*Hemophilus gallinarum*)
- b) Micoplasmose (*Mycoplasma gallisepticum*)
- c) Pasteurelose (*Pasteurela multocida*; *P. hemolitica*)
- d) Salmonelose (*Salmonella spp*)

### • doenças micóticas

- a) Aspergilose (*Aspergillus fumigatus*)

### • doenças virais e ornitose

- a) Bronquite infecciosa (mixovírus)
- b) Laringotraqueite infecciosa (*Herpesvírus*)
- c) Doença de Newcastle (paramixovírus)
- d) Pneumovirose (pneumovírus)
- e) Buba aviária (poxvírus)
- f) Ornitose (*Clamidia psittaci*)

### • doenças parasitárias

- a) Singamíasis (*Syngamus tracheae*)

### • doenças neoplásicas

- a) Linfomatoses
- b) Hemangiomas
- c) Carcinomas

## Doenças bacterianas

**Coriza infecciosa:** essa é uma enfermidade basicamente da cavidade nasal, sinus, conjuntiva e traquéia. Ocorre principalmente lesão exsudativa do sinus infra-orbital e cavidade nasal. Histologicamente e inicialmente, observa-se o lumem sinusal preenchido por detritos purulentos e copioso afluxo de fibrina, o epitélio apresenta-se bastante hiperplasiado e a lâmina própria

infiltrada por células mononucleares difusas, predominantemente linfócitos. Nos casos menos severos, a presença de fibrina e exudação purulenta é substituída por um depósito seroso, porém persiste, também nesse nível, o acúmulo linfóide na sub-mucosa. Nesses casos, o envolvimento traqueal tende a ser moderado, observando-se hiperemia da mucosa do órgão. O diagnóstico diferencial histopatológico inclui principalmente a micoplasmose, a pneumovirose e, mais afastada, a pasteurelose. A micoplasmose respeita mais os sinus e o encontro de nódulos linfocíticos é histologicamente característico na mucosa da cavidade nasal. No decorso da pasteurelose aguda, a infiltração heterofílica, em qualquer parte do parênquima dos órgãos respiratórios, é extraordinária e acompanhada, freqüentemente, de hemorragias petequiais. Já na pneumovirose, os sinus, embora afetados, não o são da mesma forma, embora nesse observe-se também alguma hiperplasia e exfoliação focal do epitélio ciliar, geralmente acompanhada de congestão e edema. Outros tecidos, como a mucosa nasal e o epitélio palatal, mostram-se mais lesados na pneumovirose, sendo que o diagnóstico diferencial histopatológico deve contemplar essas diferenças.

**Micoplasmose:** essa ocorrência, desde que não complicada, determina lesões discretas no trato respiratório. A cavidade nasal e os sinus infra-orbitais, além da conjuntiva ocular, podem apresentar leve inflamação catarral. Conforme referido acima, considera-se patognomônica a presença de marcada infiltração linfocítica com formação folicular na mucosa da cavidade nasal. A traqueíte é caracterizada por perda ciliar e moderada à severa infiltração linfocítica. Tal lesão também atinge os brônquios e seus ramos. Por outro lado, sabe-se que a micoplasmose normalmente se apresenta complicada, associada à colibacilose, quer na forma de uma septicemia ou na forma de uma coligranulomatose. Nesses casos, o comprometimento respiratório, envolvendo também os sacos aéreos, é bem mais severo. No processo inflamatório, quando o quadro é complicado por cepas geradoras de septicemia, predomina, principalmente na fase inicial, além dos linfócitos referidos, também uma infiltração heterofílica mesclada à exsudação fibrino-necrótica pleural, ou seja, uma pleurite. A característica lesional citada atinge também a traquéia/ramos bronquiais, e não são infreqüentes a presença de macrófagos e hemácias no lumen dos órgãos cavitários respiratórios. Na coligranulomatose, nota-se freqüentemente uma pneumonia proliferativa, com formação de granulomas de variados tamanhos, estando os sacos aéreos mais poupados.

O diagnóstico histopatológico diferencial inclui principalmente a bronquite infecciosa, a qual também determina uma traqueíte bastante similar. No entanto, se a micoplasmose se mostrar complicada, as outras lesões referenciadas acima auxiliam ao critério diferencial.

**Pasteurelose:** essa rara ocorrência, sobretudo em sua forma aguda ou hiperaguda, apresenta características septicêmicas, facilmente identificáveis, sobretudo pelas lesões hemorrágicas que determina, as quais afetam, entre outros órgãos, os da cavidade torácica. Quando na sua forma crônica, eventualmente determina lesões purulentas isoladas no parênquima pulmonar (pneumonia intersticial) e na mucosa bronquial terciária (bronquite necrotizante).

É freqüente o achado de heterófilos e exsudação fibrino-necrótica na mucosa do órgão. Há, nesses casos, lesões inflamatórias em outros tecidos, como abscessos em tecido conjuntivo frouxo (pálpebra e barbeta), artrite fibrinosa etc.

**Salmonelose:** eventualmente, sobretudo em pintos novos, no decorso da salmonelose, notada-

mente relacionada às *Salmonella pullorum*, *Salmonella gallinarum*, e menos freqüentemente à *Salmonella arizonae*, pode-se observar, associada ou não a outras lesões sistêmicas, uma característica pneumônia. Nessa, observa-se reação proliferativa envolvendo sobretudo macrófagos, os quais dispõem-se ao redor de restos teciduais produtos de necrose, coagulativa ou de caseificação, mesclados, muitas vezes, ao agente patogênico. Essas lesões assemelham-se àquelas observadas na aspergilose. O diferencial reside no fato de que, freqüentemente, na doença micótica, os sacos aéreos podem estar comprometidos. Observa-se também, dependendo da qualidade do corte histológico, a presença das hifas e/ou conidiófaros do fungo na aspergilose.

## Doenças micóticas

**Aspergilose:** conforme já referido, trata-se de uma pneumonia proliferativa, freqüentemente granulomatosa, que compromete pintos novos. Essas lesões proliferativas, atingem, com alguma freqüência, os sacos aéreos e mais raramente podem ser observadas por sobre os rins e na cavidade peritoneal. Histopatologicamente, observa-se, no interstício do parênquima pulmonar, a presença de necrose coagulativa/caseificação, focal ou multifocal, em cujo centro, freqüentemente, nota-se a presença de hifas do fungo causador. Quando o crescimento micótico atinge os sacos aéreos, e dependendo do momento em que a amostra for coletada, pode-se também observar, além da reação predominantemente proliferativa, resposta à presença das hifas, também conidióforos, os quais representam um momento mais avançado do desenvolvimento do fungo. A coloração com H&E basta para evidenciar o agente. No entanto, corantes mais específicos (PAS-H) prestam-se melhor para a visualização. O diagnóstico diferencial envolve outras etiologias, como algumas das bacterioses acima referidas. Em geral não apresenta dificuldade.

## Doenças virais

**Bronquite infecciosa:** a rigor, trata-se de uma bronquite, serosa ou sero-purulenta. Histopatologicamente, observa-se amiúde uma traqueo-bronquite com marcado edema da parede do órgão e uma intensa infiltração linfóide difusa das mucosas. Perda cilial tem sido freqüentemente citada como lesão importante. Hiperemia e /ou hemorragias são freqüentes. Em alguns dos seus aspectos, essa lesão se aparenta àquela registrada na micoplasmose não-complicada e constitui-se em um problema diferencial importante em nível histopatológico. Nos casos não complicados de bronquite infecciosa, os pulmões tendem a se mostrar inalterados. O diagnóstico diferencial inclui, sobretudo, a micoplasmose não-complicada. Há também a possibilidade do envolvimento de outros órgãos e outras patologias em ambas as situações.

**Laringotraqueíte infecciosa:** a traquéia é o órgão de eleição. Basicamente, trata-se de uma traqueíte necrotizante. No início da infecção e do processo inflamatório, quando ainda se mostra íntegra a mucosa traqueal, é possível a visualização de corpos de inclusão intranucleares. Nesse momento, já ocorre notável perda cilial. Na medida em que o epitélio traqueal descama, sobrevêm as hemorragias do órgão, as quais associam-se à exsudação fibrinosa. Também nesse nível são freqüentes os heterófilos, e o achado dos corpos de inclusão, considerados patognômicos, torna-se proporcionalmente mais difícil.

Em termos de dificuldades diferenciais diagnósticas, deve-se considerar que nenhuma das outras enfermidades respiratórias das aves determina lesão traqueal tão severa. Os corpos de inclusões intranucleares apresentam notável valor diagnóstico, já que são específicos da ocorrência,

embora, como citado, nem sempre invariavelmente constantes.

**Doença de Newcastle:** basicamente, entre os órgãos respiratórios, a traquéia e os brônquios são os mais afetados. Observa-se também perda ciliar ocorrendo também hiperplasia da mucosa do órgão. Edema e hemorragias podem ser freqüentes. Já a necrose é bastante incomum e somente ocorre em infecções por cepas extremamente patogênicas. A infiltração linfóide é difusa e não tende a formar nódulos. Em termos pulmonares, nota-se pneumonia intersticial não purulenta. Em relação ao diagnóstico diferencial, deve-se considerar principalmente a micoplasmose e a bronquite infecciosa. Anamnese, além dos sinais clínicos com isolamento, é muito útil na especificação diagnóstica. Deve-se considerar que, na doença de Newcastle, há a possibilidade de ocorrência de lesões importantes em outros órgãos, principalmente hemorrágicas, além das lesões eventuais de S.N.C. (encefalite).

**Pneumovirose:** experimentalmente, no decurso dos estudos com patologia induzida, observa-se que a traquéia e os pulmões tendem a estar menos afetados nessa infecção viral. Os turbinatos nasais, por outro lado, evidenciam lesões severas, com os sinus discretamente comprometidos. A infiltração mononuclear da lâmina própria da cavidade nasal com perda ciliar já é observada no início da infecção. A exsudação catarral é copiosa, assim como é intensa a hiperemia e o edema. Os sinus podem eventualmente exibir exfoliação do epitélio ciliado, edema e infiltração mononuclear, além das hemorragias. A região do palato, ao exame histopatológico, registra palatite não purulenta, não raras vezes acompanhada de edema agudo do órgão com microulcerações. A traquéia, caso afeta, o é de forma bastante suave, ocorrendo perda ciliar focal, hiperemia, edema e alguma infiltração mononuclear. Basicamente, nenhuma das outras doenças respiratórias das aves afetam tão severamente a mucosa dos turbinatos nasais, e isso tem valor diagnóstico. O parênquima pulmonar, por vezes, exibe apenas uma discreta pneumonia intersticial não purulenta com alguma congestão, porém não se trata de lesão invariavelmente presente. Assim, essas características auxiliam uma pré-diferenciação histopatológica.

**Bouba aviária:** ocasionalmente, o vírus da bouba aviária envolve a traquéia superior. Observa-se uma notável hiperplasia da mucosa, infiltração linfóide que pode ser difusa e a presença de numerosos corpos de inclusão intracitoplasmáticos. Nos casos de complicações bacterianas ou nas infecções por cepas bastante patogênicas, pode ocorrer traqueíte pseudomembranosa, por vezes fibrino-necrótica. Os pulmões em geral não são afetados. A confirmação diagnóstica repousa na evidência dos corpos de inclusão. Afeta também a pele e/ou outras mucosas.

**Ornitose:** sua importância é maior entre os perus. Determina uma rino-sinusite muco-fibrinosa, por vezes associada à conjuntivite catarral. Histologicamente, também é freqüentemente observada infiltração mononuclear, e, mais raramente, linfoheterofílica. A rigor, nessa ocorrência, o que mais chama a atenção é o quadro de poliserosite fibrinosa, no qual serosas como o pericárdio, sacos aéreos, pleura etc, mostram-se bastante comprometidas. Além da poliserosite, existem outras lesões, como aquelas registradas no fígado e baço (sobretudo necrose) que se prestam a um pré-diagnóstico diferencial histopatológico.

## Doenças parasitárias

**Singamíase:** é bastante rara. Uma traqueíte catarral purulenta, perfeitamente visualizada macroscopicamente, com confirmação microscópica, é o desfecho usualmente observado nessa



parasitose. Evidentemente, trata-se de uma ocorrência, cujo diagnóstico pode prescindir do exame histopatológico.

## Doenças neoplásicas pulmonares

**Linfomatose:** por vezes, células linfoblásticas de distribuição difusa ocorrem no decurso da leucose linfóide (às vezes acompanhando lesões miocárdicas) e também na doença de Marek e na reticuloendoteliose. Na doença de Marek, o caráter blástico do infiltrado tumoral comum à leucose linfóide é substituído por uma distribuição celular mais heterogênea, composta principalmente de linfócitos pequenos, médios e grandes.

**Hemangioma:** não são raros. Podem ocorrer como uma manifestação do próprio complexo leucótico aviário. Sua histologia é idêntica àquela constatada em mamíferos, ou seja, evidenciam-se angioblastos com formações capilares (variável). Quando na forma cavernosa, a neoplasia apresenta dilatações sacciformes em meio a um estroma conjuntivo. Há uma tendência invasiva, ao contrário dos hemangiomas da pele e das hamártias que tendem a apresentarem-se encapsulados. Por vezes, os hemangiomas, como ocorre com os carcinomas, constituem-se em metástases de neoplasias primárias. Já os carcinomas primários são raríssimos.

## Histopatologia especial do tecido linfóide/hemato-poiético

Sabe-se que o perfeito funcionamento desses tecidos pode ser afetado por vários agentes infecciosos e não-infecciosos. Entre os agentes virais, encontram-se aqueles causadores da doença de Gumboro (birnavirus), doença de Marek (herpesvirus), leucose linfóide e reticuloendoteliose (retrovírus), doença de Newcastle (paramixovirus), o circovírus, causador da anemia infecciosa das aves, e o adenovírus (envolvido como causa de hepatite, associado ou não ao agente da anemia) e etc.

Algumas bactérias causadoras de septicemia são também importantes. Entre elas, algumas cepas de *Escherichia coli*, notadamente determinantes de colibacilose, podem também determinar agressões severas aos parênquimas dos órgãos linfóides. Entre os agentes não-infecciosos, são importantes algumas micotoxinas, além de outras substâncias tóxicas, algumas iatrogênicas, como o cloranfenicol, entre outros, seguidos pelas diversas situações de estresse. Outro agente relacionado a lesões de órgão linfóide é o *Cryptosporidium sp*, embora de forma mais rara. Danos ao parênquima linfóide freqüentemente determinam imunossupressão. Danos à medula óssea determinam deficiência qualitativa e quantitativa em termos de resposta fagocítica, já que conduzem à leucopenia/agranulocitose, anemia aplástica e/ou trombocitopenia (essa última determinante de hemorragias generalizadas). Assim, o controle desses fatores de injúria e sobretudo um monitoramento racional das funções imunes são práticas efetivas que concorrem à manutenção da produtividade.

A bolsa de Fabrícus é o órgão essencial para a prática do monitoramento. Esse órgão cresce rapidamente durante as primeiras três semanas de vida e posteriormente declina até à inatividade por ocasião da maturidade sexual em função da ativação dos esteróides sexuais. Por outro lado, o timo cresce rapidamente e atinge seu tamanho maior com 16 semanas de idade. Ele também regride por influência dos hormônios da reprodução. Pode-se monitorar tais órgãos,

principalmente a bolsa de Fabrícus, a campo e/ou laboratório, através de metodologias distintas. Inicialmente, pode ser feita pela inspeção necroscópica, quando se buscam alterações morfológicas com variação do tamanho, como hiperplasia, hipoplasia ou atrofia (evidentemente anômolas àquela normal e registrada cronologicamente), presença de edema, exsudato, hemorragias, tumorações exofíticas e etc.

Comparações entre os tamanhos da bolsa e do baço, e a relação de peso, entre o órgão e o corpóreo, principalmente essa última, constituem-se em metodologias, em minha opinião, subjetivas de monitoramento, embora a primeira venha tendo seu uso consagrado pela praticidade, em alguns mercados. A comparação morfométrica entre o baço e a bolsa, reporta-se à evidência de campo envolvendo a hiperplasia daquele e o atrofiamento dessa, nos casos de doença de Gumboro. Sabe-se que durante os primeiros 35 dias de vida, a bolsa tende a ser maior que o baço (em condições absolutamente híidas). Pode-se concluir que, nesse período, nos casos em que o baço apresenta-se maior, a imunossupressão pode ser suspeitada. Já a relação peso do órgão e peso corpóreo, requer um grupo de controle não vacinado e não desafiado, e é bem menos usado.

A histopatologia da bolsa de Fabrícus, e mais afastada, a do timo, é sem dúvida, a maneira mais racional de efetuar o monitoramento. Com ela, pode-se avaliar alterações circulatórias, necróticas, inflamatórias e neoplásicas desses órgãos de forma bem mais definitiva, confirmando o que foi visualizado macroscopicamente. Atualmente começa a ser difundido o uso de processador de imagem para monitoramento de patologias da bolsa, no entanto, esta prática está limitada pelo equipamento requerido.

A revisão da patologia microscópica desses órgão enfatizarão aquelas enfermidades que apresentam tropismo pelo tecido linfóide, sendo que, à parte, alguma menção será feita às alterações que comprometem o tecido hematopoiético, outro, que não linfóide.

**Doença de Gumboro:** assume-se que tanto as formas clínicas como sub-clínicas determinam o mesmo tipo de lesão, sendo as mais dramáticas localizadas na bolsa, e, secundariamente, no timo, baço e tonsilas cecais. Entre 24 e 36 horas após a infecção, ocorre necrose linfocítica com picnose ou cariorex nuclear. Nesse momento, alguma infiltração heterofílica é constatada, além de proliferação de macrófagos e presença de células plasmáticas um pouco mais tarde. À destruição dos linfócitos segue-se intenso edema (às vezes são concomitantes), e por vezes hemorragias. Mais tarde, a medular do folículo exhibe cavidades pseudocísticas em função da necrose intensa e eliminação (descamação) dos produtos resultantes. Fibroplastia perifolicular é concomitante a essa fase terminal de lesão e é responsável pela hipoplasia ou atrofia do folículo, que, por volta de 8-12 dias, chega a medir apenas 25% de seu tamanho original. Posteriormente, se houver chances de recuperação e o animal sobreviver, inicia-se a repopulação da bolsa. Curiosamente, nem todos os folículos apresentam-se igualmente lesados, existindo momentos em que ocorrem folículos alterados com folículos normais ou variações entre eles. Esse aspecto interessa ao patologista que deve examinar todo o tecido, evitando-se exames parciais. Além da bolsa de Fabrícus, há comprometimento, com necrose, no baço e no timo. O tecido linfóide periférico também exhibe alterações estruturais, notadamente necrose das tonsilas cecais. No entanto, a causa de tais lesões pode derivar ou de um vírus proveniente da doença ou de uma agressão secundária.

**Doença de Newcastle:** nessa enfermidade, além das alterações encontradas no trato respiratório,

digestivo e/ou SNC, ocorrem lesões necrotizantes esplênicas e/ou tonsilares. Lesões necrotizantes bursais têm sido também descritas no decurso da doença e devem ser encaradas com a devida importância diagnóstica. Estruturalmente, não há diferenciação com aquelas que ocorrem na doença de Gumboro.

**Anemia Infecciosa das Aves:** trata-se de outra virose importante que afeta o tecido linfóide e medula óssea, principalmente. Compromete linfócitos B e T, periféricos ou não. Produz atrofia transitória da bolsa de Fabrício e também do timo, fruto da necrose que determina nesses parênquimas. Por vezes, a agressão pelo vírus da anemia infecciosa associa-se primariamente à adenovirose, levando a um quadro lesional mais severo, com patologia importante em nível hepático, além de secundarismos bacterianos. Assim, não é rara a observação de dermatite e/ou miosite necrótica em animais infectados. Em termos lesivos, considero mais importante e específico na anemia infecciosa a aplasia medular que resulta nas já citadas trombocitopenia e agranulocitose. Essa lesão é facilmente detectada macroscopicamente e se caracteriza pela medula pioide, ou seja, o tecido não-funcional do canal medular sobrepuja a atividade eritoblástica total. Infelizmente, tal lesão passa despercebida pela freqüente parciabilidade das operações de necropsia. Em relação aos casos complicados (que envolvem adenovírus e circovírus), o encontro histológico de inclusões basófilas intranucleares nos hepatócitos ajuda a inferir pela presença do adenovírus.

**Criptosporidiose:** o *Cryptosporidium sp* tem sido identificado como causador de bursite focal em frangos de corte. Como coccidia que é, o agente tem tropismo epitelial. Assim, tende a situar-se nesse componente, levando à hiperplasia do mesmo e freqüentemente acompanha-se de infiltrado heterofílico. Por vezes é alesional. Como vimos acima, o agente tende a respeitar o parênquima reticular, e entende o autor que esse agente não deve ser encarado como essencialmente imunossupressor no mesmo nível das outras etiologias.

**Micotoxicose:** é universalmente aceito o papel das micotoxinas, notadamente a aflatoxina, a ocratoxina e os tricotecenos (T2, DAS) como agentes lesivos, diretos ou indiretos, aos tecidos linfóide e hematopoiético. Assim, demonstrou-se experimentalmente que a aflatoxina reduz a capacidade fagocítica dos granulócitos, além de interferir com a ação de complementaridade do soro. Em termos de lesão reticular, observa-se eventualmente alguma depleção linfocítica, ocorrendo necrose, não somente bursal, como esplênica e tímica. Também a capacidade de ativação linfocítica em células plasmáticas mostra-se comprometida, resultando em baixa síntese de IgC, IgM e IgA. Toxinas desenvolvidas por fungos do gênero *Fusarium* são potencialmente irritantes aos tecidos epiteliais e não são agentes primários comuns de lesões reticulares. No entanto, por afetarem a síntese protéica como também o faz a aflatoxina, podem comprometer a repopulação da linhagem dessas células. A ocratoxina vem sendo responsabilizada como importante agente de depleção da medula óssea, daí incorrendo em efeitos negativos sobre a série celular ali produzida. Da mesma forma, induz a lesões necrotizantes dos parênquimas linfóides. Sendo assim, torna-se também importante agente patogênico, por vezes associado à aflatoxina. Histopatologicamente, a confirmação dessas ocorrências é difícil pela similaridade lesional com outras afecções. Talvez o encontro de hiperplasia ducto-biliar seja o que mais se aproxime de uma tipicidade lesional no caso da aflatoxicose.

**Neoplasias linfóides:** quatro diferentes doenças neoplásicas em aves são caracterizadas por

neoplasias no tecido linfóide. São elas: a leucose linfóide, a doença proliferativa dos perus, a reticulo- endoteliose e a doença de Marek. A apresentação macro e microscópica desses tumores é muito similar, embora os vírus causantes sejam entidades distintas. Na leucose linfóide e na doença linfoproliferativa dos perus, há evidência de que a lesão inicia em órgãos específicos, como a bolsa de Fabrícus. Já na reticuloendoteliose e na doença de Marek, aparentemente a lesão tumoral é de origem multicêntrica. Na leucose linfóide ocorre inicialmente uma transformação maligna das células B da bolsa de Fabrícus, que posteriormente metastisa para outros órgãos, principalmente o fígado, baço, pulmões, miocárdio, rins, intestinos, poupando os olhos, a pele o SNC, ou periférico. Na bolsa, ocorre formação tumoral a partir dos folículos, a qual consiste de linfoblastos com núcleos gigantes e nucléolos proeminentes, principalmente quando corados pelo Giemsa ou Romanowski. Aliás, a estrutura tumoral se mantém inalterada, quer no tumor primário, quer nos secundários. Na doença de Marek, os tumores infiltram vários tecidos e aparentemente têm origem nas células timo- dependentes. Assim, podem ser observados no baço, fígado, rins, gônadas, pró-ventrículo, pulmões, pele, SNC e periférico, além dos olhos, principalmente através de uma uveíte. Na bolsa de Fabrícus, o *Herpesvírus* causador da doença de Marek determina necrose centro-folicular, sendo que, entre os folículos, observa-se infiltração tumoral (infiltração interfolicular). Nesse caso, a citologia dos tumores revela um infiltrado pleomórfico composto de linfócitos grandes, médios e pequenos, os quais constituem a maioria das células, além de linfoblastos e eventualmente células reticulares, bastante basófilas, com núcleo escuro e gigante, também denominadas de células da doença de Marek. A rigor, a infiltração tumoral na leucose linfóide é considerada mais anaplásica e bizarra que aquela observada na doença de Marek. Essa diferenciação é importante quando dos casos que requerem maior refinamento em termos de diagnóstico diferencial histopatológico.

A reticuloendoteliose determina transformação tumoral da bolsa de Fabrícus, afetando secundariamente fígado, baço, pró-ventrículo, intestino, e interessantemente não poupa os nervos periféricos e os olhos. O tumor é composto de células mononucleares, incluindo células reticulares e células linfoblastóides. Na doença proliferativa dos perus, os tumores, já macroscopicamente, são observados no baço, pâncreas, fígado e timo, envolvendo também o sistema nervoso periférico. O infiltrado tumoral é pleomórfico e lembra aquele da doença de Marek. Encerra-se esse item lembrando que nem sempre as lesões tumorais verdadeiras apresentam-se de forma a serem facilmente identificáveis. Um desafio ao patologista é a distinção entre a freqüente hiperplasia linfóide focal ou multifocal hepática esplênica e cutâneas, das manifestações neoplásicas propriamente ditas, mormente nos casos de doença de Marek, em que a anaplasia e a bizarria celular não são tão intensas. Também, nas doenças envolvendo o complexo leucótico, não são poucos os casos em que as lesões apresentam-se *in situ*, como ocorre por exemplo na bolsa de Fabrícus, onde se observam tumorações linfóides focais já em animais novos, lesões essas que evoluirão no momento etário propício. Neoplasia *in situ* são freqüentemente observadas pelo autor também no fígado, rins e pele. Essa é mais uma razão para que se qualifique o máximo a tarefa de coleta de material também em termos de amostragem suficiente para representar o lote comprometido e assim cobrir as lesões em todas as suas dimensões e distribuições.

**Neoplasias que afetam a medula óssea:** são consideradas doenças tumorais específicas englobadas entre aquelas que compõem o Complexo Leucótico Sarcomatoso Aviário. Assim temos a eritroblastose, a mieloblastose e o mielocitoma. De acordo com a literatura, a eritroblastose é

bastante esporádica e nunca foi observada pelo autor. Afeta fígado e baço, e os eritroblastos que a identificam apresentam núcleos grandes e redondos, com um citoplasma bastante basófilo. São encontrados nos sinusóides hepáticos e esplênicos na forma proliferativa e na forma anêmica, principalmente na medula. Essa última forma é considerada verdadeiramente leucêmica. A mieloblastose, bastante rara também, compromete o fígado, baço e rins, e os tumores que a compõem são extravasculares e compostos por mielócitos e promielócitos. É considerada uma doença pseudoleucêmica. Recentemente, foi identificado um retrovírus, subgrupo J de ALVs exógeno em matrizes pesadas após a maturidade sexual. Essa linhagem determina um tipo de mielocitoma que afeta severamente a medula e a superfície óssea, envolvendo o esterno, costelas, pélvis, mandíbula e crânio, eventualmente afetando órgãos parenquimatosos, como o fígado e o baço, além do ovário. Ocorrem massas sólidas compostas microscopicamente de mielócitos maduros com citoplasma bastante granuloso e acidófilo repleto de figuras mitóticas. Essa ocorrência, embora de etiologia recentemente estabelecida, foi identificada já há mais de 50 anos, sendo objeto de citação por Campbell já em 1942.

## Histopatologia especial do sistema digestivo

Os parasitos e bactérias constituem os agentes patogênicos mais lesivos ao trato digestivo das aves, e entre os parasitos predominam os coccídios. Lesões causadas por vírus, quer sejam neoplásicas, tóxicas etc, embora importantes como parte de um contexto lesivo que abrange outros sistemas, não representam a mesma dimensão econômica que as protozooses. A avaliação anatomopatológica, macro ou microscópica dos órgãos digestivos luminiais confere alguma dificuldade, sobretudo pelo processo autolítico (já abordado) que afeta notadamente a interpretação das lesões a campo, como os artefatos, que afetam as preparações histológicas, e que necessitam ser evitados. Já os órgãos parenquimais, aos quais também interessa o fenômeno autolítico, tendem a resistir melhor à transformação cadavérica (dentro de certos limites, evidentemente).

Serão abordadas as conseqüências lesivas atribuíveis às enfermidades mais importantes. Antes, porém, convém que se revisem alguns aspectos práticos ligados às enterites, já que o diagnóstico macroscópico das mesmas são muito freqüentes e, no entanto, muitas vezes, não confirmados histologicamente.

Anatomopatologicamente, as enterites correspondem à inflamação do intestino envolvendo as camadas que o formam. Macroscopicamente, determinam edema da parede intestinal o qual pode estar associado de exsudação inflamatória, que pode ser catarral, catarral hemorrágica, fibrinosa, fibrinonecrótica, puramente hemorrágica ou proliferativa-granulomatosa, dependendo do agente causante. Evidentemente, espera-se que o interventor reconheça essas manifestações lesivas para elaborar o diagnóstico, além de realizar uma perfeita distinção entre o normal e o patológico. Exemplo clássico de equívoco diagnóstico macroscópico é considerar como uma enterite as freqüentes manchas avermelhadas, circulares, multifocais que se observam já pela serosa do intestino delgado, e que nada mais são que uma congestão capilar passiva, ou hiperplasia de focos extramedulares de hematopoiése. Existem ainda outras manifestações puramente normais de segmento intestinal, rotuladas como patológicas e que devem ser consideradas nas avaliações a campo.

As patologias mais frequentes do sistema digestivo das aves, estão abaixo listadas:

## **Protozooses**

*Eimeria* spp

*Histomonas meleagridis*

## **Helmintoses**

*Ascaridia galli*

*Heterakis gallinarum*

*Capillaria contorta*

*Capillaria obsignata*

*Davainea proglottina*

*Raillietina tetragona*

## **Doenças virais**

Coronavirose

Rotavirose

Reovirose

Doença de Newcastle

## **Bacterioses**

Salmonelose

Colibacilose

*clostridiose*

Pasteurelose

Campilobacteriose

Micobacteriose

Micose/Micotoxicose

Candidiase / Mucormicose

Aflatoxicose / Tricotecenos

Doenças neoplásicas

Leucose linfóide

Doença de Marek

Reticuloendoteliose

Miscellaneous

Síndrome do fígado e rins graxos

Fígado graxo/síndrome hemorrágica

**Eimeriose das aves:** o histórico da avicultura é também o histórico da coccidiose. Essa ocorrência pode ser diagnosticada pelos sinais clínicos, patologia macroscópica e estudos de

esfregaços a fresco. A avaliação histopatológica é bastante útil, principalmente para as quatro espécies mais importantes. A *Eimeria tenella* causa lesões confinadas aos cecos, uma tiflite muco-hemorrágica. Evidencia-se a presença das fases evolutivas, notadamente esquizontes de segunda geração de grande tamanho, merozoítos livres, além de elementos sexuais como macrogametócitos e de inúmeros oocistos, desde que no momento da coleta do material tenha havido tempo para a fase sexuada da reprodução do patógeno. A *Eimeria necatrix* afeta patologicamente o segmento intestinal médio, ocorrendo profundamente na parede intestinal, embora em termos biológicos chegue a comprometer os cecos onde ocorre a fase sexuada da reprodução e a oocistogênese. Determina uma enterite granulomatosa, com a presença de gerações de esquizontes envolvidas por reação fagocítica. Além dos esquizontes de grande tamanho, observam-se também inúmeros merozoítos livres associados a hemácias mesclados aos produtos da inflamação, como infiltração linfoheterofílica e exsudação mucosa intensa. A *Eimeria acervulina* e também a *Eimeria mivati* multiplicam-se principalmente no topo das vilosidades, incitando a pouca reação inflamatória, embora freqüentemente determinem atrofia das vilosidades. Observam-se massas de pequenos esquizontes e gametócitos, além de, eventualmente oocistos. Reação entérica com exsudação catarral pode ser observada. Quanto à *Eimeria maxima*, de diagnóstico difícil, o grande tamanho das fases sexuadas, principalmente dos macrogametas e dos oocistos, serve como elemento diferencial importante, principalmente em esfregaços a fresco. Histopatologicamente, nota-se enterite muco-hemorrágica e os macrogametócitos apresentam corpos esféricos eosinofílicos periféricos, bastante típicos. Os esquizontes (menores que os oocistos e macrogametócitos) são encontrados acima do núcleo das células infectadas. Há acúmulo linfoheterofílico no segmento afetado. A identificação dessa espécie em programas de monitoramento exige o auxílio histopatológico, que envolve a graduação quantitativa da presença das fases evolutivas por campo microscópico avaliado. Entre os perus, 4 das 7 espécies são consideradas patogênicas. A *E. adenoides* e a *E. gallopavonis* infectam o íleo terminal, os cecos e o reto e determinam enterite catarral/fibrinosa, dilatando bastante o segmento envolvido. Observam-se fases assexuadas e notadamente um grande número de oocistos. A *E. meleagritidis* afeta o intestino delgado e médio. Normalmente, determina enterite fibrinosa ou fibrinonecrótica com as fases evolutivas envolvidas com as fases assexuadas ou sexuadas, aprofundando-se na parede do órgão. Por fim, a *E. dispersa* também lesiona o intestino delgado, porção superior onde determina uma intensa enterite catarral, a qual pode estender-se aos segmentos inferiores do órgão. Fases evolutivas, assexuadas ou sexuadas podem ser vistas.

**Histomoníase:** macro e microscopicamente, ocorre nos cecos uma tiflite fibrinonecrótica. Infiltração mononuclear é comum na lâmina própria. A patologia hepática registra, principalmente em perus, uma hepatite proliferativa, precisamente um linfogranuloma de grande tamanho, focal ou multifocal. Quanto ao diagnóstico diferencial, as lesões histopatológicas cecais podem lembrar aquelas causadas por *E. tenella*, e o diferencial está no encontro das fases evolutivas típicas da coccídia. No fígado, a lesão lembra a coligranulomatose e a lesão tuberculosa. O diferencial baseia-se no grande número de linfócitos, sugestivos da histomoníase, sendo que também nessa não ocorre reação gigantocítica como na doença bacilar.

**Helmintoses:** a *Ascaridia galli* determina atrofia vilal discreta com hipertrofia muscular. Há intenso afluxo linfocítico. A patologia hepática nesses casos pode registrar uma hepatite traumática reacional à passagem do parasito. O *Heterakis gallinae* raramente causa lesão, tendo o autor encontrado apenas uma citação de granuloma cecal. A *Capillaria obsignata*, assim como

descrito para a *Ascaridia galli*, determina atrofia vilal. A *Capillaria contorta* afeta o ínglúvio e não determina maiores alterações histológicas. Por vezes, causa uma ínglúvite não purulenta. Ambas as tenias, *Davainea proglottina* e *Raillietina tetragona* causam alterações suaves, principalmente na forma de uma enterite serosa. O diagnóstico de todas as parasitoses listadas é sobretudo macroscópico, com a visualização dos patógenos.

**Viroses:** a coronavirose produz doença importante nos perus. Determina enterite catarral aguda. Associa-se a ela, histopatologicamente, hiperplasia mononuclear multifocal hepática, pancreatite multifocal não purulenta e nefrose. Essa última ocorre em função dos uratos formados pela intensa desidratação. Na rotavirose do frango causada pelo sorotipo A (comum aos mamíferos) e sorotipo D (apenas aviário), ocorre um atrofiamento das vilosidades com intensa descamação da superfície mucosa. A doença é autolimitante desde que o animal sobreviva à desidratação e/ou complicações secundárias. O *Reovírus*, os enterovírus, astrivírus, calicivírus, arenavírus têm sido incriminados como agentes da síndrome de má absorção. Nessa, uma característica pró-ventriculite é constatada já macroscopicamente. Microscopicamente, ocorre edema da mucosa do órgão e um misto de alterações necrotizantes da mucosa com uma reação inflamatória não purulenta. Enterite catarral com atrofiamento vilal tem sido constatada pelo autor em casos confirmados. O quadro hepático de hiperplasia mononuclear focal ou multifocal não é raro, sendo lesão apenas auxiliar. Por vezes, ocorrem lesões metabólicas secundárias, como a malácia cerebral conseqüente à avitaminose E e patologia óssea. Aliás, uma hiperplasia linfóide focal pode ser também encontrada em vários órgãos digestivos, como pró-ventrículo, ventrículo, fígado e pâncreas, e apresenta valor diagnóstico na encefalomielite aviária, causada por picornavírus. O paramixovírus, causador da doença de Newcastle, notadamente as cepas velogênicas, pode determinar intensa enterite muco-hemorrágica e comprometimento necrótico dos grupos linfóides associados aos intestinos, quer em áreas do intestino delgado, quer no intestino grosso, onde as tonsilas exibem necrose linfocítica intensa e hemorragias de mucosa. Há hepatite não purulenta intersticial.

**Doenças bacterianas:** na salmonelose, ocorre principalmente uma hepatite proliferativa-necrótica. Observa-se reação proliferativa histiocítica/mononuclear envolvendo áreas de necrose coagulativa ou de caseificação. A pasteurelose, embora em outros órgãos incite à uma reação purulenta, no fígado determina lesão similar à salmonelose, portanto dificilmente distinguível histologicamente, requerendo-se à cultura bacteriológica e provas sorológicas, entre outras. A pasteurelose e eventualmente a colibacilose determinam enterite muco-hemorrágica intensa, confinada ao duodeno. Infiltração heterofílica é comum em ambas. Na coligranulomatose, a lesão típica são granulomas ocorrendo no intestino e fígado. Histologicamente, assemelham-se àquelas observadas na salmonelose, diferenciando-se quanto ao teor de mononucleares, com abundantes linfócitos, ocorrendo a presença de discreto número de histiócitos e/ou macrófagos, que são freqüentes na salmonelose. Na colisepticemia, observa-se peritonite e perihepatite fibrinosa típicas e facilmente identificáveis na macroscopia, dispensando, assim, avaliação microscópica.

Na enterite necrótica, observa-se no segmento intestinal médio intensa exsudação fibrinonecrotica com formação de pseudomembranas (toalha turca, macroscopicamente). Histologicamente, além da necrose superficial da mucosa e exsudação de fibrina, nota-se também intensa inflamação linfopurulenta. Na enterite ulcerativa, também de origem clostridial, ocorrem ulcerações no íleo terminal e cecos. As úlceras visualizadas microscopicamente contêm detritos celulares e



infiltração purulenta na base, podendo ser observados bacilos desde que se empregue coloração adequada. O fígado, nesses casos, pode apresentar necrose focal coagulativa, principalmente na fase terminal da doença. Na infecção pelo campilobacter, ocorrem lesões hepáticas necrotizantes, sem reação proliferativa. As células que compõem o infiltrado inflamatório são basicamente heterófilos e ocorrem sobretudo na fase aguda da doença. Por último, na infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*, são observados granulomas típicos, notadamente hepáticos e no baço. Reação gigantocítica com a presença de células multinucleadas é típica e freqüente. A coloração com Ziehl-Neelsen facilita a visualização dos bacilos.

**Doenças micóticas/micotoxicose:** a candidíase, sobretudo em animais novos, afeta principalmente o Inglúvio. A mucosa do órgão mostra-se bastante edemaciada e já perceptível macroscopicamente. Há multiterosões, em cujas bases evidencia-se a presença de detritos celulares e infiltração linfopurulenta. A visualização da *Candida albicans* depende do corante empregado, e o PAS nesse caso cora melhor que a H&E. A identificação do agente diferencia essa ocorrência da capilariose e da, atualmente raríssima, avitaminose A<sup>a</sup>. Essa, como se recorda, é caracterizada pela intensa hiperqueratose do epitélio. *Mucor* spp raramente afeta o sistema digestivo das aves e quando o fazem determinam enterite. O uso de corantes adequados identifica o agente. Ambas as ocorrências tendem a ser iatrogênicas quanto à origem. Na micotoxicose, principalmente na aflatoxicose, ocorrem lesões digestivas, como enterite catarral, a mais freqüente delas, e que desencadeia uma cascata de processos secundários ligada à síndrome de má absorção. As lesões atingem por vezes toda a extensão do órgão, tanto macro como microscopicamente. Lesões de pró-ventrículo como inflamação não purulenta e do ventrículo, na forma de ventriculite erosiva, são citações freqüentes, apesar de não possuírem características patognomônicas que o campo freqüentemente atribui. No fígado, é bastante comum um misto de lesões degenerativas e proliferativas, com predomínio unilateral de um ou outro dependendo do curso, se agudo ou crônico. Assim, observa-se degeneração graxa e/ou necrose perilobular ou fibrose com reação mononuclear associada à hiperplasia ducto-biliar. Para o pré-diagnóstico, concorre a associação das lesões, embora a detecção da aflatoxina tenha atributo definitivo. Os tricotecenos compreendem um grupo de aproximadamente 100 toxinas produzidas pelo *Fusarium* sp, que inibem a síntese protéica e a multiplicação celular por afetarem a síntese de ADN e ARN. Assim, comprometem os tecidos de multiplicação rápida, como os epiteliais (mucosa oral, intestinal e pele). Resultado: necrose com formação de pseudomembranas. Essas lesões são indicativas, mas não absolutas quanto ao diagnóstico. Para tal, concorre a detecção da toxina no substrato suspeito de contê-la.

**Doenças neoplásicas:** o comprometimento dos órgãos digestivos nas neoplasias sistêmicas já foi objeto de revisão quando se discutiu a patologia do tecido reticular. Convém apenas recordar que na doença de Marek ocorre um comprometimento bastante intenso do pró-ventrículo, estando as células mononucleares infiltrantes, comprometendo a mucosa e a sub-mucosa do órgão, chegando à muscular. Por vezes, constitui-se em lesão isolada. Observação freqüente, por parte do autor, é a infiltração neoplásica atingindo a porção glandular da mucosa do órgão. Outros tumores, secundários ou primários, são raros. O autor reporta um caso isolado de adenocarcinoma pancreático em uma ave reprodutora pesada e um hepatoma numa ave ornamental.

**Miscellaneous:** revisam-se alguns distúrbios metabólicos importantes que afetam principalmente o fígado aos quais o diagnóstico histopatológico se constitui em elemento de real valor. No caso

da síndrome do fígado e rins graxos, sabe-se que ocorre um prejuízo à glucogenese e os animais morrem por hipoglicemia. Uma das conseqüências é a deposição de lipídios em tecidos, assim como uma vacuolização hepatocítica (a gordura perde-se na preparação do corte deixando apenas sua imagem negativa). Tal lesão é também constatada no citoplasma das células epiteliais dos túbulos contornados nos quais, sob uso de corantes especiais para gordura, principalmente o Sudan IV, os depósitos de gordura são mais identificáveis. Essa patologia é atualmente atribuível à deficiência de biotina. Por outro lado, a síndrome do fígado graxo das aves de postura é ainda mais importante. Associa-se freqüentemente a hemorragias, embora nem sempre encontrem-se obrigatoriamente correlacionadas. Nota-se vacuolização hepatocítica com ou sem necrose. Os núcleos das células mantêm-se respeitadas (o que não ocorre com intoxicações por venenos clássicos em que a degeneração graxa é apenas uma conseqüência da morte celular). Há fibrose nas áreas centrais lobulares. Essa síndrome é atribuída ao excesso de consumo energético e/ou deficiência de fatores lipotrópicos. Na aflatoxicose, essa lesão também ocorre, e o diagnóstico diferencial entre elas é importante tendo como base outros detalhes lesionais ligados à toxicose e já revistos.

## Histopatologia especial do sistema uro-genital

As aves possuem uma abertura comum a ambos os sistemas: a cloaca. Nos machos, os testículos são encontrados no interior da cavidade abdominal, no polo anterior dos rins, e o órgão peniano ou está ausente ou bem menos desenvolvido quando comparado ao dos mamíferos. Nas fêmeas, somente o ovário e o oviduto esquerdo se desenvolvem. O oviduto possui glândulas bastante desenvolvidas para produção de albumina, assim como membrana e casca dos ovos. Essas doenças, quando afetam o trato urinário, confinam-se aos rins. O parênquima renal das aves não apresenta córtex ou medular verdadeiros, e os glomérulos são mais celulares em seus centros e parecem menos vasculares que os glomérulos dos mamíferos. Patologia renal é observada em várias das enfermidades das aves, e algumas delas estão listadas abaixo:

### Doenças virais

**Glomerulonefrite/nefrite intersticial:** aparentemente, alguns vírus estão implicados com a glomerulopatia, principalmente em pintos novos. São classificadas entre as glomerulonefrites proliferativas. Já a nefrite intersticial é lesão importantíssima e a forma mais comum de alteração inflamatória do órgão. Deve-se normalmente ao sorotipo urinário do vírus causador da bronquite infecciosa. Esse vírus determina, na infecção aguda, degeneração granular, vacuolização e descamação do epitélio associado à intensa infiltração heterofílica intersticial. Essa lesão conduz à uremia. Nas fases mais crônicas ou durante a eventual recuperação, os heterófilos dão lugar à células mononucleares (linfócitos e células plasmáticas) podendo eventualmente ocorrer infiltração de células gigantes envolvendo material necrótico, e/ou fibrose intensa. Nessa fase, abundam as figuras de mitose do epitélio tubular. Além do coronavírus, também os do grupo picorna vêm sendo responsabilizados por induzirem lesões semelhantes.

**Doenças bacterianas:** no decurso de algumas toxemias e/ou infecções bacterianas pode ocorrer uma glomerulonefrite tromboembólica, sendo então identificadas as bactérias nas alças glomerulares. Nas clamidiose e colibacilose, essa lesão não é rara.

**Distúrbios metabólicos:** esses distúrbios freqüentemente afetam os túbulos renais e o exemplo clássico é a gota úrica visceral. Essa ocorrência afeta também o peritônio. Por vezes, os depósitos de uratos são vistos apenas em alguns poucos túbulos, já que a preparação do corte histológico os eliminam. Há reação heterofílica. Na privação de água, ocorre característica necrose tubular, sendo freqüente a reação proliferativa com o envolvimento de células multinucleadas. Outra doença metabólica que afeta os túbulos é a degeneração graxa hepato-renal, causada pela deficiência de biotina. O citoplasma das células epiteliais mostra-se tomado de gotas de gordura, concomitantes às lesões idênticas encontradas no fígado e miocárdio.

**Doenças tóxicas:** algumas substâncias tóxicas podem determinar necrose tubular epitelial. A ocratoxina é a mais importante delas e produz engrossamento da membrana basal glomerular e necrose nos túbulos proximais. Outras lesões importante são a depleção linfóide e aplasia medular, já referidas. A aflatoxicose pode também causar lesão renal quando ocorre concomitante- mente um engrossamento da membrana glomerular, no entanto, lesa pouco os túbulos. Também, como visto, afeta os órgãos reticulares. Mais recentemente, vem sendo notificada em aves ornamentais uma necrose tubular relacionada ao uso de antibióticos aminoglicosídeos, mais especificamente a gentamicina.

**Neoplasias:** na doença de Marek, leucose linfóide e reticuloendoteliase, pode ocorrer o comprometimento renal, principalmente na doença de Marek. Ocorre uma notável infiltração intersticial por células mononucleares, principalmente células linfóides, padrão heterogêneo. Na leucose linfóide, essa infiltração é dominada por células uniforme- mente blásticas. Na reticuloendoteliase, o infiltrado é também homogêneo, mononuclear/linfoblástico e se assemelha àquele já citado no estudo da patologia de outros órgãos. Considerando os tumores primários, tem-se o nefroblastoma, o qual basicamente não metastisa. Pode ser causado por vírus do grupo leucose-sarcoma. Histologicamente, varia de uma configuração epitelial a um tumor misto. Os tumores epiteliais variam de adenomas císticos a adenocarcinomas, repletos de pérolas córneas. Os tumores mistos são basicamente mesen- quinomas, nos quais observa-se um abundante estroma fibroso com eventuais nódulos cartilaginosos.

**Miscellaneous:** basicamente, a patologia da monocitose será revisada, já que uma das suas manifestações é o comprometimento renal (outros órgãos afetados são: pâncreas, fígado e musculatura esquelética, além do ovário). A lesão renal varia de uma marcada hipertrofia à gota úrica. Nota-se histologicamente a presença de necrose tubular com descamação. Há eventualmente a presença de cristais hialinos no lúmen dos túbulos com envolvimento que varia de uma infiltração hetero- fílica a uma reação proliferativa reacional com acúmulo de células multinucleadas. Em nível glomerular, ocorre engrossamento da membrana basal. Deve ser diferenciada da gota úrica visceral, sendo que nessa ocorrem depósitos gotosos em outras vísceras, além não afetar músculos e o parênquima pancreático. A etiologia da monocitos é multifatorial.

## Órgãos reprodutores

**Viroses/bacterioses (Oviduto/ovário/ testículos):** a salpingite é componente importante lesional de viroses reprodutivas e ajuda a explicar o porquê da redução de produção de ovos e/ou alterações morfológicas desses. Sem dúvida, o exemplo mais clássico de doença viral afetando a

salpinge é a bronquite infecciosa. Algumas cepas do vírus causador dessa importante enfermidade apresentam tropismo por esse órgão, e, notadamente em aves com deficiência imunológica específica, o vírus determina degeneração de células epiteliais no oviduto. Há hipoplasia epitelial com hiperplasia reticular e formação de centros germinais na submucosa do órgão. A hipoplasia pode persistir até a maturidade sexual, assim, as fêmeas, apesar de ovularem, não produzem ovos. Reprodutoras maduras infectadas apresentam dilatação das glândulas tubulares, perda cilial, infiltração por células mononucleares e fibroplastia da mucosa em todo o oviduto. Na síndrome da queda de postura, de etiologia adenoviral, as lesões inflamatórias igualmente severas restringem-se ao útero. Há degeneração e descamação das células epiteliais nas quais observam-se corpúsculos de inclusão intranucleares, além de atrofiamento glandular e infiltração da lâmina própria por linfócitos, células plasmáticas, além de macrófagos. Quanto às bactérias que mais infectam o oviduto, temos o *Mycoplasma gallisepticum* e a *Escherichia coli*. Em aves jovens, a salpingite causada por micoplasma pode ser produto de uma areosaculite. Ocorre importante inflamação fibrinopurulenta. Tal lesão também pode ocorrer na septicemia pelo coliforme. No que se refere ao ovário, a doença de Newcastle determina uma intensa ooforite necro-hemorrágica, com intenso afluxo de células mononucleares. Os processos infecciosos que normalmente mais lesionam o ovário são os causados por bactérias, principalmente as *Salmonella pullorum* e *Salmonella gallinarum*. Há intensa retração folicular e predomínio dos heterófilos entre as células infiltrantes. Mais raramente, uma ooforite exsudativa purulenta é observada na pasteurelose e também na colibacilose.

No que se refere aos processos infecciosos, virais ou bacterianos que afetam os testículos, esses são raros. Talvez a orquite causada pelo vírus que causa a doença de Newcastle ou a orquite bacteriana determinada por *Salmonella gallinarum* ou por *Escherichia coli* sejam os mais importantes, já que conduzem à infertilidade. No caso da doença viral, há necrose do parênquima associada a hemorragias e intensa infiltração linfocítica. Já nas bacterioses, ocorre orquite supurativa na qual observam-se lesões multicêntricas nos túbulos seminíferos com prejuízo à espermatogênese.

**Neoplasias:** tanto nos testículos, como no ovário, os tumores linfóides relacionados à doença de Marek são os mais comuns. O infiltrado tumoral típico pleomórfico acomete os interstícios dos órgãos, levando à atrofia do parênquima útil. Já os tumores primários desses órgãos são bastante raros. A literatura reporta alguns casos de adenocarcinoma ovariano e leiomiomas que se originam da camada muscular lisa do oviduto, nunca observados pelo autor.

**Miscellaneous:** revisa-se a degeneração testicular. Essa, histopatologicamente, corresponde a uma marcada fibrose intersticial associada com degeneração do epitélio do túbulo seminífero e afluxo de células mononucleares. Tal lesão pode ocorrer na senilidade e antes disso na avitaminose E, assim como também nas intoxicações pelo chumbo e pelo cádmio. Interessante degeneração cística pode ocorrer nos testículos e pode ser devida à intoxicação salina. Há edema e dilatação epitelial com notável pressão no interstício. São bastante raras.

## Histopatologia especial do sistema circulatório

A exemplo do adotado em todo o texto, serão somente referenciadas as situações patológicas de importância diagnóstica. Apenas a patologia cardíaca e suas conseqüências serão objetos da

revisão, a qual terá como base os agentes etiológicos ou causas determinantes ou concorrentes. Antes de correlacionar lesões a causas definidas, total ou parcialmente, convém abordar alguns tópicos gerais correlacionados à morte súbita entre as aves.

Essa ocorrência freqüentemente afeta frangos de corte, preferencialmente machos, embora também se registre em animais mais velhos. Há uma plêiade de supostos fatores que a determina, e a variação é ampla, estando correlacionada à faixa etária dos animais e ao ambiente em que vivem. Incluem desde doenças infecciosas, dietéticas, tóxicas, tumorais e degenerativas ao estresse crônico e à síndrome geral de adaptação, ligada ao estresse agudo, passando por anóxia ligada a altas altitudes (hipovolemia) e/ou temperaturas elevadas.

Em algumas dessas ocorrências, evidentemente, há uma cardiopatia a qual está suportada por lesões que variam de uma miocardite à degeneração gordurosa e/ou necrose hialina das fibras. Seqüencialmente à lesão cardíaca podem ocorrer outras, secundárias, como o são os processos edematosos pulmonares, fibrosamento hepático e a ascite. Somente uma investigação ampla e criteriosa pode determinar a gênese das lesões e diferenciá-las. Há, no entanto, morte cardíaca súbita, lesionais, e também incluídas entre os denominados ataques cardíacos, cujas causas são ainda mais obscuras e não se relacionam necessariamente com boa parte dos fatores acima listados. Evidentemente requerem investigações futuras e o aconselhamento que se dá, quando dos casos enquadráveis (e o apoio laboratorial é imprescindível), é o de não especular causas, preferindo mantê-las temporariamente idiopáticas, sob pena de ferir aspectos éticos e de conduta profissional. Nas considerações abaixo, algumas dessas ocorrências são discutidas.

**Doenças virais/PPLO:** a inflamação do miocárdio, que ocorre principalmente em função de alguma doença sistêmica e mais raramente por propagação de alguma pericardite, pode acompanhar algumas das mais importantes doenças virais da espécie. A doença de Newcastle determina, além de necrose de fibras isoladas e hemorragias interfibras, também uma miocardite focal não purulenta. Em outras viroses respiratórias, tal lesão pode ocorrer, sendo difícil estabelecer um diferencial histopatológico entre elas. Na encefalomielite, ocorre, concomitantemente às outras lesões viscerais e nervosas, um miocardite não purulenta multifocal. A tenosinovite causada por *Reovírus* ou por *Mycoplasma synoviae* ou por *Mycoplasma gallisepticum* vem sendo historicamente relacionada a uma miocardite focal ou multifocal purulenta, e tal lesão vem servindo como conceito diagnóstico rotineiro em patologia aviária, inclusive pelo autor. No entanto, tal fato já é discutível por alguns que consideram aqueles acúmulos heterofílicos como focos extramedulares de hematopoiese ectópica. É de opinião do autor que em pintos novos, até 15 dias de idade aproximadamente, os focos ectópicos citados realmente são freqüentes no miocárdio, porém tendem a desaparecer com o crescimento etário, além de representarem uma linhagem de células mais jovens que aquelas observadas, se o processo for realmente de miocardite verdadeira. Desse modo, apesar da discussão conceitual, o autor não pretende diferir em sua conduta, também porque, lesões de tenosinovite não são atributos obrigatórios de animais jovens e factíveis de apresentar a ectopia citada.

**Doenças bacterianas:** interessam não só ao miocárdio, mas também afetam o pericárdio e o endocárdio. Uma pericardite fibrinocaseosa é freqüente na poliserosite determinada pela colibacilose ou na micoplasmose complicada pelo coliforme. Já na micoplasmose isolada, a pericardite tende a ser serosa. Em outras doenças septicêmicas, independentemente da causa,

porém notadamente nas septicemias por *Coccos* ou pasteurela, uma miocardite tromboembólica é comum. Aliás, nas infecções sistêmicas por estreptococos ou pelo agente da erisipela, principalmente em perus, também o endocárdio mostra-se freqüentemente lesado (endocardite verrugosa ou ulcerativa). A *Salmonella pullorum* comumente determina uma miocardite proliferativa típica, com presença de granulomas, lesão essa semelhante a que ocorre em outros órgãos e já estudada.

**Distúrbios metabólicos/degenerativos:** na deficiência de vitamina E, principalmente e/ou de selênio, ocorre necrose de fibras miocárdicas associada a lesões semelhantes na musculatura esquelética e na da moela. Também ocorre edema subcutâneo e outros edemas como o hidropericárdio. Há miocardite não purulenta-proliferativa. Em perus, o aminoácido cistina é também responsabilizado na gênese da lesão.

Recentemente, vem sendo reportada uma cardiomiopatia associada com morte súbita em poedeiras comerciais. Nela há hipertrofia seguida de dilatação. Histopatologicamente, ocorre necrose de fibras isoladas do miocárdio e infiltração mononuclear. Curiosamente, não há ascite e isso provavelmente se deve à agudeza do processo. É idiopática.

Finalmente, temos a *doença do coração ovóide*. Tal doença ocorre em galinhas e em perus e também não apresenta causa específica. Nas galinhas, afeta animais com mais de 4 meses de idade e determina morte súbita. Há lesão hipertrófica miocárdial e palidez do órgão. Histologicamente, identifica-se uma vacuolização de fibras notadamente ao redor dos núcleos. Basicamente, trata-se de infiltração gordurosa, que se dissolve com a preparação do corte histológico. A reação inflamatória é discreta. O autor não concorda com a citação de que tal lesão seja causada pela deficiência de Se. Nessa, a patologia é mais dramática, embora nem sempre apresente conseqüências proporcionais. Nos perus, a doença do coração ovóide incide em animais de até 1 mês de idade. Há marcada dilatação ventricular que afeta o coração direito, ocorrendo palidez hepática e, muitas vezes, ascite. Na hipótese do animal sobreviver, acaba também por ocorrer o comprometimento do coração esquerdo. Histopatologicamente, não há lesões típicas. São por vezes inflamatórias, por vezes degenerativas no miocárdio e fígado, porém não típicas. Nesses casos a macroscopia e o histórico prestam-se melhor ao diagnóstico.

**Doenças tóxicas:** uma cardiomiopatia está relacionada com a intoxicação por furazolidona e furazolidona mais zoalene. Também tem sido identificada pelo autor com alguns coccidiostáticos ionóforos. Nesse caso, podem ocorrer lesões degenerativas das fibras com inflamação proliferativa, podendo culminar na dilatação do órgão e eventualmente ascite. Lesões musculares podem também ocorrer nessa intoxicação. Por vezes, as lesões não são típicas e a morte pode também ocorrer subitamente ou precedida de paralisia. Na há cardiomegalia com miocardiose e miocardite, acompanhada de ascite e edema subcutâneo. Na Europa e Américas, tem sido também descrita em animais consumindo gorduras tóxicas, compostos clorinados e crotalaria.

Uma síndrome ascítica de animais em grandes altitudes, superiores a 1000 m, tem sido diagnosticada em frangos de corte. Além da hidropsia abdominal e torácica, há também dilatação cardíaca, ocorrendo histopatologicamente miocardite não purulenta e degeneração isolada de fibras do miocárdio que se inicia com desorganização das miofibrilas. Lesões edematosas pulmonares e hepáticas, na forma de uma fibrose, têm sido também relacionadas entre as eventualmente presentes nesses casos. Essa ocorrência vem sendo discutida à exaustão, e uma

corrente de pesquisa a relaciona com uma micotoxina produzida por fungos do gênero *Fusarium*. Postula-se que o fator altitude é circunstancial uma vez que as baixas temperaturas favorecem o desenvolvimento do fungo. Evidentemente, o fator altitude é também importante na medida em que há correlação com a demanda de oxigênio, o que colaboraria na lesão miocárdica. Importante lembrar que fatores nutricionais primários ou secundários exercem algum tipo de influência quando se considera a patogenia da síndrome. Assim, algumas publicações referenciam que essa ocorrência pode ser prevenida com a restrição alimentar.

**Doenças neoplásicas:** principalmente na leucose linfóide, o miocárdio mostra-se comprometido por intensa infiltração blástica, homogênea. Na doença de Marek visceral essa lesão pode ser encontrada na forma de coleções heterogêneas de células linfóides. Na reticulo-endoteliiose, pode ser também um achado importante, e o infiltrado tumoral é homogêneo e mais blástico.

## Histopatologia especial do sistema locomotor e da pele

Sendo o osso calcificado, é muito difícil reduzi-lo a cortes delgados sem antes remover os minerais de sua substância intercelular. Assim, como um

prelúdio da inclusão dos blocos de tecido ósseo, é comum emergi-los num agente descalcificante. Posteriormente, tanto o agente descalcificante como a parte mineral dissolvida podem ser lavados e o tecido fica em condições de ser desidratado e reduzido a cortes delgados coráveis. A descalcificação de fragmentos de tecido ósseo pode ser realizada pela imersão em soluções de diversos ácidos. Em geral, é usada uma solução de 15% de ácido fórmico. O osso descalcificado mantém todas as células presentes e as substâncias orgânicas excretadas.

Nesse capítulo, tenciona-se revisar inicialmente o tecido ósseo, cuja patologia a campo com freqüência origina a necessidade de apoio laboratorial. Logo após, revisam-se as ocorrências que mais lesionam o tecido articular, muscular e a pele, sempre considerando aquelas em que o exame histopatológico apresenta algum valor imediato. Casos omissos serão de citação breve.

## Tecido ósseo (algumas características)

### Tipos de ossos:

Intramembranosos: formação óssea sem a presença de cartilagem ( ossos do crânio).

Endocondral: formação óssea a partir da matriz cartilaginosa.

### Áreas mais importantes do tecido ósseo:

Epífise: área acima da fisis incluindo cartilagem articular.

Metáfise: corresponde às áreas de transformação óssea.

### Crescimento ósseo (características):

Epífise: cresce pluridimensionalmente.

Fisis: área cartilaginosa em descanso, cresce por oposição. Área cartilaginosa proliferativa, cresce por divisão intersticial.

Metáfise: área espongiosa primária e secundária, absorvida por osteoclasia e subperiosteal osteoclasia reduz o diâmetro transversal.

Diáfise: feixes de tecido ósseo. Aumenta em diâmetro por engrossamento do cortex e expansão do canal medular.

## Osteólise

Não osteoclástica reabsorção do osso. Observada comumente com a morte.

## Osteomalácia

Amolecimento ósseo caracterizado histologicamente pela hiperatividade osteóide. Observada no raquitismo primário e na osteíte fibrosa. Não se trata de uma osteoporose, mas pode coexistir com a mesma.

## Osteoporose

Patogenicamente é uma falha dos osteoblastos na formação da matriz óssea. Não é uma osteomalácia. Macroscopicamente, o osso é mais poroso. Histopatologicamente, há menos trabécula. É observada em algumas formas de osteíte fibrosa, etc.

**Distúrbios metabólicos:** na dieta deficiente em proteína-caloria, ocorre um crescimento retardado do osso. Histopatologicamente, observa-se pequena placa epifiseal, decréscimo de atividade osteoblástica e osteoporose. A relação cinza-matriz é alta. Referente aos elementos inorgânicos, o Ca é necessário para a mineralização do osteóide. Deficiência de Ca resulta em raquitismo na ave jovem e osteomalácia na adulta. Se os níveis de Ca são baixos, osteodistrofia fibrosa (hiperparatiroidismo nutricional secundário) é o resultado, independente se o animal é jovem ou adulto. Histologicamente, observa-se desorganização e engrossamento da placa epifiseal, falha na remoção da cartilagem e uma hiperatividade osteoblástica. A deficiência de P resulta em raquitismo e osteomalácia e a deficiência de Cu, em osteoporose. A vitamina D é responsável pela absorção de Ca do intestino ao soro e de volta ao lúmen intestinal. Relaciona-se com o paratormônio na conservação do P renal e na mobilização de Ca ósseo. Auxilia na calcificação da matriz óssea. Hipovitaminose D resulta em raquitismo e/ou osteomalácia. Hipervitaminose D com suficiente Ca e P aumenta a densidade óssea.

A osteodistrofia fibrosa pode ocorrer pelo hiperparatiroidismo secundário, nutricional ou renal (mais raro). Já o hiperparatiroidismo primário, ligado a tumores verdadeiros na glândula, é extremamente raro. No distúrbio metabólico, ocorre osteoclasia intensa com reabsorção óssea e osteólise. Essa é seguida por fibrose difusa e por uma fase reparativa com intensa formação osteóide. Por vezes há formação cística. Outro distúrbio metabólico menos freqüente é a perose, envolvida com deficiência de ácido fólico, Zn, colina e Mn. Basicamente ocorre desorganização da placa epifiseal.

A não rara osteomiosclerose é um distúrbio associado com a postura e produção de estrógenos, que coincide com a maturação ovariana. Os estrógenos aumentam o Ca e o P sérico, os quais são depositados nos ossos, comprometendo a lacuna medular. É melhor observada macroscopicamente.



Na fadiga das aves de postura ocorrem uma osteoporose e uma osteomalácia. Não há alterações histológicas das paratireóides. Lesões ósseas incluem osteoporose. A gota articular, outro distúrbio metabólico importante e que pode ser observado isolado ou associado à forma visceral da doença, determina depósitos articulares de cristais típicos associados à exuberante reação proliferativa. Trata-se de alteração nunca observada pelo autor, porém considerada patologia clássica.

Pode-se ainda considerar nesse capítulo a espondilolitese, que afeta a T5-T7 causando constrição do canal medular levando à paralisia. Essa ocorrência, de causa mais genética que metabólica, é mais facilmente notificada pela patologia morfológica macroscópica. O mesmo pode se dizer da necrose da cabeça femural, de causa múltipla (desbalanço mineral por exemplo) na qual histopatologicamente observa-se osteoporose. A discondroplasia tibial é outra ocorrência metabólica, porém mais factível, ainda de diagnóstico histológico. Observa-se hipertrofia não funcional da camada cartilaginosa na extremidade tibiotársica proximal. Há a presença de placas cartilaginosas anormais sendo observados condrócitos degenerados com citoplasma e núcleos displásicos. Não ocorre vascularização a partir do substrato vascular da metáfise. Essa ocorrência, assim como a imediatamente precedente, tem causas múltiplas, e para essa, tem sido também atribuída como gênese, toxinas de fungos do gênero *Fusarium*, principalmente o *Fusarium roseum*.

**Doenças virais/bacterianas ósseas/ articulares:** alguns vírus lesionam as articulações, principalmente o *Reovirus*. A tenosinovite resultante é sero-fibrinosa, podendo ocorrer por vezes filamentos de material sanguinolento. Há usualmente ulcerações nos cartílagos e por vezes rupturas de fragmentos tendinosos. Histologicamente, as lesões de miocardite purulenta multifocal observadas podem ser de valor diagnóstico auxiliar. Já as septicemias bacterianas lesionam a medula determinando osteomielite. São basicamente piogênicas e iniciam na metáfise óssea. Além das causas sistêmicas, existem as causas traumáticas a serem consideradas. As sinovites bacterianas são freqüentes e normalmente relacionam-se a doenças septicêmicas que podem atingir as articulações e tecidos limítrofes. Por osteomielite entende-se a inflamação óssea a qual inicia-se na metáfise e é em geral conseqüente a infecções hematógenas e mais raramente a traumas. Muito importante é a tenosinovite causada por *Mycoplasma spp* que determina a presença de exsudato fibrino ou fibrinocaseoso e acúmulo heterofílico copioso. As lesões miocárdicas ocasionadas pelo agente já foram objeto de revisão. Lesões com a mesma morfologia patológica registram-se quando da infecção articular por *Mycoplasma gallisepticum*. Entre as doenças bacterianas que também promovem lesões nos tecidos articulares, temos as salmoneloses, a erisipela e a infecção sistêmica por cocos. Evidentemente, na pasteurelose e na erisipela, o exsudato é de natureza fibrinocaseosa, sendo menos fibrinoso e mais celular, proliferativo, na salmonelose. A histopatologia local não apresenta características acentuadamente definitivas em termos diagnósticos, apresentando carácter apenas auxiliar nesses casos, ao menos na prática do autor.

## Histopatologia especial do tecido muscular

**Distúrbios metabólicos:** miopatias nutricionais constituem-se lesões clássicas, embora muito mais freqüentes no passado que atualmente. As deficiências de Se e vitamina E, notadamente essa última, determinam lesão das fibras musculares em áreas como a musculatura peitoral e outros

músculos esqueléticos, podendo também comprometer o miocárdio. Há perda de estriações, degeneração hialina, necrose e infiltração mononuclear, notadamente, macrófagos. Posteriormente, ocorre fibrose do tecido necrosado. Quando a lesão combina-se com a diatese exsudativa, a qual é mais dependente do Se, ocorre edema intenso do tecido sub-cutâneo, com os vasos bastante dilatados, sendo não rara a observação de trombos com degeneração da parede arteriolar.

Embora não definida como uma miopatia metabólica, porém aqui considerada, merece menção uma lesão encontrada na musculatura profunda peitoral em frangos de corte e perus. Ocorre necrose focal das fibras, a qual aparentemente é de origem isquêmica. Posteriormente, ocorre resposta proliferativa a cargo do tecido de granulação que envolve a lesão em conjunto a células inflamatórias, principalmente macrófagos. Alterações vasculares como trombos são também comuns. Há quem atribua uma causa funcional à lesão, como nos exercícios, com o que não concorda o autor, já que a fisiopatologia da atividade muscular, desde que não estressante, resulta num maior aporte vascular-celular ao tecido. Entretanto, não deve ser esperado, com isso, um mecanismo isquêmico, salvo se previamente presente alguma condição patológica propiciante. Há ainda outras miopatias degenerativas na literatura e com as mesmas características descritas. São no entanto idiopáticas. Entre elas pode-se citar a síndrome edematosa locomotora do peru, na qual se observa edema sub-cutâneo inguinal e ao redor das pernas. Nessa síndrome, também ocorrem lesões musculares, porém mais disseminadas. A resposta inflamatória, no entanto, deixa de ser puramente proliferativa para ser proliferativa-purulenta. É comum registrar-se essa ocorrência durante o processamento dos animais ao abate.

**Doenças virais/bacterianas/protozooses:** lesões da musculatura esquelética podem ocorrer em algumas viroses sistêmicas, principalmente quando o vírus envolvido determina lesões vasculares, daí constituindo-se as hemorragias em alterações freqüentes. A presença do *Sarcocystis* maturo já foi constatada pelo autor em aves ornamentais com mínima reação inflamatória resultante. Miosites bacterianas propagadas a partir de dermatite não são infreqüentes. Assim, no decurso da dermatite necrótica, com envolvimento clostridial, não é rara uma lesão de miosite necrótica hemorrágica, com presença de inúmeros heterófilos e células mononucleares entre as fibras necrosadas. Miosite focal abscedante é freqüentemente observada ligada a traumas de aplicação de drogas parenterais, principalmente antibióticos ou vacinas. Observa-se necrose de fibras e infiltração inflamatória como a citada.

**Doenças tóxicas:** intoxicação por cloranfenicol e sulfas determinam hemorragias petequiais ou em sufusões, o mesmo podendo se registrar na intoxicação por aflatoxinas. Essas lesões por vezes não são facilmente visíveis macroscopicamente, assim o diagnóstico auxiliar histopatológico é importante. Ionóforos podem ser tóxicos se usados incorretamente. Alguns relatos incluem degeneração de fibras musculares, com perda das estriações e infiltração de macrófagos. Essa lesão pode ser observada também no miocárdio, conforme descrito.

**Doenças neoplásicas:** a mais comum manifestação neoplásica do tecido muscular é aquela observada na doença de Marek, embora também possa ocorrer na leucose linfóide. No primeiro caso, o infiltrado é predominantemente heterogêneo, e no segundo caso é basicamente homogêneo. Rbdomiomas, rbdomiosarcomas e fibrosarcomas já foram relatados na literatura, porém são raríssimos e nunca observados pelo autor.

# Histopatologia especial da pele

Pretende-se ater somente às lesões com algum valor diagnóstico histopatológico. Inicialmente, convém lembrar que a pele das aves é mais fina que a dos mamíferos. Aves não possuem glândulas na pele, exceção ao uropígio.

A rigor, os casos de patologia cutânea que mais envolvem o trabalho do patologista são aqueles ligados à complementação diagnóstica da boubá aviária e da doença de Marek. Evidentemente, a patologia cutânea é importante no decurso de uma série bem maior de afecções que afetam aves. No entanto, nesses casos, a especificidade lesional está mais afeita a outros órgãos. Assim, a pele, quando incluída, tem a sua histopatologia, nesses casos, um elemento meramente auxiliar.

**Distúrbios metabólicos:** hiperqueratose e acantose são ocorrências atribuíveis à deficiência de biotina e de Zn. A resposta inflamatória é mínima nesses casos. Classicamente, na deficiência de biotina, a lesão é freqüente na superfície plantar, com o estrato córneo do epitélio registrando notável hipertrofia papilar. Por vezes ocorrem microulce- rações. Na deficiência do mineral, a lesão é mais generalizada e inclui algumas mucosas. Histologicamente, há engrossamento do extrato espinhoso. A falta marginal do ácido pantotênico também determina paraqueratose, além das alterações acima listadas. As lesões tendem a confinar-se peri-ocularmente e na implantação do bico. Na deficiência de vitamina E e Se, sobretudo esse último, ocorre edema subcutâneo. Histologicamente, há também lesões vasculares (veias), observando-se trombos hialinos e hemorragias. As arteríolas exibem degeneração da camada média. Pode-se também citar que a deficiência de alguns aminoácidos afeta qualitativamente os fâneros, mas não há lesões cutâneas específicas.

Doenças virais, bacterianas e micóticas: entre os vírus, o da boubá aviária é o mais importante. As lesões macro e microscópicas confinam-se geralmente na cabeça e pescoço. Histologicamente, ocorre hipertrofia de células epiteliais, as quais contêm, no citoplasma, os corpos de inclusão eosinofílico que tipificam a etiologia.

Um quadro de vasculite não purulenta acompanha processo inflamatório no tecido subcutâneo, a cargo de intensa reação mononuclear. A doença de Newcastle pode produzir dermatite, a qual macroscopicamente aparece na forma de microvesículas, também na região de cabeça e pescoço. Histologicamente, correspondem à degeneração hidrópica das células epiteliais. Há infiltração heterolinfocítica na derme, sobressaindo-se uma vasculite difusa. As doenças bacterianas, como algumas *clostridioses*, determinam dermatite necrótica já comentada quando se revisou a patologia do tecido muscular. É importante também a dermatite gangrenosa, que determina necrose cutânea intensa com edema, hemorragias e infiltração purulenta. Tanto alguns *clostridios* como alguns *cocos* estão implicados. Essa ocorrência é secundária a alguma deficiência imunológica previamente adquirida. Já as lesões micóticas, normalmente determinam acantose e hiperqueratose e são acompanhadas de processo inflamatório não purulento/proliferativo.

**Doenças tóxicas:** dermatite necrótica pode ser ocasionada por toxinas de fungos, basicamente tricotecenos produzidos por *Fusarium*. Na aflatoxicose, pode observar-se dermatite hemorrágica. Substâncias irritantes, notadamente químicas, podem induzir a uma dermatite indeterminada na qual há reações à irritação, principalmente acantose e hiperqueratose, além de afluxo linfocítico

freqüente.

**Doenças neoplásicas:** a doença Marek é sem dúvida a mais importante. Histologicamente, ocorre infiltração linfóide pleomórfica, ou seja, constituída de células pequenas, médias e grandes ao redor dos vasos e dos folículos das penas. Por vezes, nas situações mais típicas, também se observam corpúsculos de inclusão intranucleares, sobretudo nas células foliculares. Como já citado, o infiltrado tumoral nessa doença não é tão anaplásico ou indiferenciado como em outras neoplasias. Assim, a presença do infiltrado pleomórfico, quando avaliado isoladamente, não significa necessariamente doença de Marek, podendo representar apenas uma dermatite não purulenta de causa irritativa ou então idiopática. Evidentemente, se a lesão macrosocópica que originou a amostra for tipicamente tumoral e havendo outros tumores macroscópicos, o quadro histológico é definido complementarmente. Já nos casos em que a patologia macroscópica é indefinida, o encontro das lesões histológicas não apresenta, na opinião do autor, o mesmo peso diagnóstico. Como há uma certa correspondência lesiva entre as lesões cutâneas e as lesões nervosas (nervos periféricos e SNC), indica-se que sempre que se requeira exame histopatológico da pele para confirmar a doença é imprescindível que também se envie material nervoso.

Outras neoplasias mesenquimais são raras, e entre elas pode-se citar a já estudada reticulo-endoteliose, que também afeta a pele, e os hemangiomas. Entre os processos não mesenquimais, descrevem-se os carcinomas, epidermoides ou basocelulares, os quais tendem a se apresentar como processos ulcerativos crônicos. Histologicamente, no primeiro caso, há proliferação epitelial com certo grau de anaplasia e intensas figuras mitóticas. Cordões de células neoplásicas infiltram-se na derme formando as pérolas córneas. No basolioma, a indiferenciação celular não atinge a mesma proporção e as células neoplásicas dispõem-se tipicamente em forma de paliçada. As figuras mitóticas são mais raras. Ambos os tumores incitam a respostas inflamatórias, basicamente purulentas.

**Miscellaneous:** apenas para lembrar as dermatites irritativas, principalmente as podais, relacionadas a traumas mecânicos ou químico dos mais variados. Histologicamente, nos casos clinicamente detectáveis, já há uma degeneração epitelial seguida de necrose. A eliminação do material necrótico determina ulcerações, em cuja base infiltram-se, a princípio, células purulentas, as quais são substituídas por células mononucleares. Hemácias são também freqüentes. Contaminações freqüentemente ajudam a definir a natureza da resposta inflamatória secundária.

## Histopatologia especial do sistema nervoso e olhos

Aves domésticas estão bastante sujeitas a agressões que incidem sobre o tecido nervoso, seja central ou periférico, e sobre órgãos sensoriais, como os olhos. Sabe-se que o encéfalo das aves reage à irritação da mesma forma que o encéfalo dos mamíferos. Assim, observam-se gliose, proliferação vascular, perivasculite, necrose neuronal, leptomeningite etc. Reações purulentas encefálicas são raras, assim como os infiltrados perivasculares não são tão proeminentes como nos mamíferos devido à falta de um amplo espaço de Robin-Virchow.

**Distúrbios metabólicos:** nesse item, pode-se englobar a encefalomálacia, a deficiência de riboflavina, vitamina A, tiamina e ácido pantotênico. Evidentemente, a primeira é de importância maior. Nessa ocorrência, observam-se basicamente lesões vasculares como dilatação, formação

de trombos com edema, hemorragias e necrose neuronal. Há focos de malácia. A reação inflamatória vascular é discreta, observando-se alguma vasculite. Há gliose. O diagnóstico diferencial não se reveste de maiores problemas pela especificidade lesional. Na deficiência de vitamina A, bastante rara, também ocorre uma leucoespongiose com vacuolização. Essa lesão se deve à compressão do SNC devido à proliferação periostal craneal e vertebral. Na deficiência de riboflavina, as lesões estão mais afeitas a nervos periféricos, como o ciático, o qual exhibe degeneração com proliferação das células de Schwann. Lesão desmielinizante é também observada na deficiência de tiamina e ácido pantotênico.

**Doenças virais/bacterianas/micóticas:** as doenças virais que afetam o tecido nervoso das aves podem também afetar, com menor importância, outros tecidos. Na encefalomielite causada por picornavírus, podem ocorrer lesões severas notadamente em pintos com menos de 6 semanas de idade. Há cromatólise central, sateletismo (dentro de certos limites é uma observação normal em aves), gliose nodular ou difusa e vasculite e perivasculite não purulenta intensa. A lesão inflamatória também ocorre na medula, raízes de troncos nervosos e nervos periféricos. Como já citado, há também hiperplasia mononuclear no fígado, pró-ventrículo, pâncreas, miocárdio e outros órgãos cavitários. Na arbovirose, que afeta mais aves selvagens, o processo é o de uma meningoencefalite não purulenta difusa. Há intensa vasculite e perivasculite, já as lesões parenquimais são menos expressivas. Na doença de Newcastle, podem ocorrer lesões encefálicas com o quadro típico que inclui: lesões neuronais, gliose, vasculite e perivasculite disseminadas. As meninges também tendem a se mostrar afetadas por infiltrados mononucleares. Nessa doença, outros órgãos se mostram comprometidos (sistema respiratório e digestivo, principalmente). As lesões histopatológicas nessas viroses determinam, exceto no diagnóstico da encefalomielite por picornavírus, apenas uma complementaridade. Talvez o diagnóstico diferencial dessas patologias virais com a encefalomalácia correlacionada à vitamina E preocupe alguns técnicos. No entanto, tal diferencial não oferece maiores problemas, já que as reações de vasculites e perivasculite tão pronunciadas nas viroses, se presentes na doença metabólica, são bastante discretas. Por outro lado, a exuberante malácia observada nessa falta naquelas.

Entre as bactérias, principalmente a *Salmonella* e a *Pasteurella*, além de cocos, podem afetar o tecido nervoso central com lesões necrotizantes com reação purulenta, podendo-se seguir reação proliferativa. Na pasteurelose, é ainda importante uma meningite fibrinopurulenta. Há ainda as manifestações neuropatológicas causadas por *Clamidia* e por micoplasmas. Ocorre encefalite em ambas, porém restrita à vasculatura, com intensa vasculite e perivasculite não purulenta. Principalmente em perus novos, observa-se característica encefalite determinada por fungos do gênero *Aspergillus*. Notam-se lesões necrotizantes envolvidas por reação proliferativa, com células mononucleares e células gigantes. Detecta-se amiúde a presença de micélios do fungo causador o qual é observado no centro das lesões, principalmente quando se usam corantes especiais.

**Neoplasias:** a doença de Marek, a reticuloendoteliose e a doença proliferativa dos perus lesionam, em escala maior ou menor, o tecido nervoso, central ou periférico das aves. No SNC (sistema nervoso central), a doença de Marek determina notável vasculite e sobretudo uma perivasculite, observando-se que todo o espaço de Robin-Virchow se mostra infiltrado por mononucleares, principalmente linfócitos. Comumente, várias camadas de células envolvem o vaso (entre 2 a até mesmo 8 em vasos mais calibrosos, de acordo com a observação do autor).

Pode também ocorrer uma leptomeningite não purulenta. Lesões degenerativas e outras reacionais como gliose não tendem, principalmente a primeira, a ser de maior importância diagnóstica. Os nervos periféricos, como o nervo ciático e as raízes de troncos nervosos (plexo braquial por exemplo) mostram-se também variavelmente afetados. Na lesão do tipo A, a infiltração mononuclear é maciça, observando-se também desmielinização. Nesse tipo de lesão, não é infreqüente o encontro das células da doença de Marek, as quais, como já citado, são mononucleares grandes, bastante basofílicas. Na lesão do tipo B, a infiltração é bem menor e predominam linfócitos pequenos, também com edema e desmielinização. No tipo C, os linfócitos são escassos e se confinam a áreas perivasculares. O autor ultimamente vem identificando lesões muito mais compatíveis com o tipo B e C do que propriamente do tipo A, mais clássica.

A reticuloendoteliose e a doença proliferativa dos perus, embora determinem apenas sintomas nervosos discretos, causam eventualmente lesões no SNC e freqüentemente em nervos periféricos. Esse autor reporta o encontro de endoneurite focal em casos de campo diagnosticado como “doença de Marek precoce”. Na doença linfoproliferativa dos perus, também é reportada pela literatura uma endoneurite não purulenta multifocal.

## Histopatologia especial do globo ocular

Antes de revisar a patologia morfológica microscópica do olho, convém enfatizar a importância de uma fixação qualitativa quando do processamento da amostra. O globo ocular deve ser totalmente enucleado e devidamente imerso na solução fixadora. O ideal é mantê-lo por 7 a 10 dias fixado, e durante esse período, a cada 24 e 48 horas, deve ser inoculado através de uma agulha de fino calibre, com o líquido fixador ou o líquido de Bouin, que melhor se prestam a esse fim. Uma perfeita fixação, um corte histológico perfeito e a manutenção íntegra das camadas é o que se busca, caso contrário o exame fica parcialmente comprometido.

Podemos avaliar a histopatologia básica do órgão, considerando as lesões degenerativas, as inflamatórias de causas infecciosas, bacterianas e virais, e as lesões neoplásicas.

**Distúrbios metabólico/irritativos (lesões degenerativas):** conjuntivite fibrinocaseosa é freqüente na avitaminose A experimental. Sem dúvida, corresponde a alterações secundárias motivadas pela obstrução dos condutos lacrimais, mais especificamente uma metaplasia escamosa do epitélio dos ductos lacrimais. Há também que se considerar aqui as ceratoconjuntivites irritativas por agressão química ambiental, principalmente por amônia. Essas lesões podem levar o animal à cegueira.

**Doenças virais, bacterianas e micóticas:** uma conjuntivite é freqüente numa série de agressões virais entre as aves. Entre eles, temos o vírus causador da doença de Newcastle, pneumovírus, o vírus da laringotraqueíte infecciosa etc. Basicamente, a princípio correspondem a uma conjuntivite ou ceratoconjuntivite serosa, que depois evolui para um processo fibrinoso ou fibrinocaseoso, de acordo com a contaminação secundária. O vírus da boubá aviária determina lesões proliferativas conjuntivais e palpebrais, observando-se processo inflamatório linfopurulento, com presença de inclusões intranucleares. No decurso da encefalomielite frusta ou clínica, podem ocorrer lesões oculares na forma de uma catarata, geralmente unilateral.

Quanto às bactérias, é importante lembrar que a *Salmonella typhimurium*, além da *S. arizonae*, determinam panoftalmia fibrinocaseosa com infiltração heterofílica copiosa, principalmente em animais jovens, e freqüentemente são lesões derivadas de outros focos infecciosos como uma onfalite, por exemplo. Essa lesão pode ser também observada na colibacilose e na pasteurelose, ocorrendo em animais de idade variada. Nessa última, não são raros focos abscedantes no tecido conjuntivo frouxo da região de cabeça e pescoço.

Quanto às doenças micóticas, a aspergilose eventualmente inclui em seu contexto lesional uma ceratoconjuntivite fibrinocaseosa que posteriormente mostra-se proliferativa. Além da lesão, observa-se também a presença da micélia do fungo causador, desde que se use corantes apropriados.

**Neoplasias:** na doença de Marek ocorre comprometimento ocular. Camadas como a retina, a uvea, íris e coróide são freqüentemente comprometidas. O infiltrado tumoral é pleomórfico exatamente como ocorre em outros tecidos nos quais as lesões da doença podem ser encontradas. Outras neoplasias, primárias ou secundárias, são extremamente raras.

## Bibliografia

Bordin EL. **Tratado de Ornitopatologia Sistêmica**. São Paulo: Nobel, 1973.

Campbell JC. **Tumours of the fowl**. Philadelphia: Lippincott Company, 1969.

Gardiner CH. **An Atlas of Protozoan Parasites in Animal Tissues**. United States Department of Agriculture. USA: Agriculture Handbook Number 651, 1988.

Hofstad MS. **Diseases of Poultry**. Iowa State University : Editorial Board for the American Association of Avian Pathologists, 1978.

Helmboldf CF. **Diseases of Respiratory Tract**. USA: University of Connecticut -Notes for a pos graduation course, 1970.

Helmboldf CF. **Diseases of Urinary Tract**. USA: University of Connecticut - Notes for a pos graduation course, 1970.

Helmboldf CF. **Diseases of the Brain and Nervous System**. USA:University of Connecticut - Notes for a pos graduation course, 1970.

Helmboldf CF. **Diseases of Digestive System**. USA:University of Coinnecticut- Notes for a pos graduation course, 1970.

Helmboldf CF. Histopathologic differentiation of diseases of the nervous system of domestic fowl (*Gallus gallus*). USA: **Avian Disease** 1972; 16:229-240.

Leeson S, Diaz G, Summers JD. **Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins**. Ontario: University Books, Guelph.

Moulton JE. **Tumours in Domestic Animals**. California:California Press Ltda, 1990.

Randall CJ. **Color Atlas of Avian Histopatology**. London:Mosby-Wolfe, 1996.

Riddel C. **Avian Histopathology**. American Association Of Avian Pathologists. Kansas:Allen Press Inc, 1987.



<b>3.1 - Anatomia - Fisiologia</b>	<b>153</b>
<i>Renato Luis Furlan</i>	
<b>3.2 - Fisiopatologia do sistema locomotor</b>	<b>175</b>
<i>Cássio Xavier de Mendonça Júnior</i>	
<b>3.3 - Fisiopatologia do sistema tegumentar</b>	<b>191</b>
<i>Luiz Cesar Bello Fallavena</i>	
<b>3.4 - Fisiopatologia do sistema digestório e anexos</b>	<b>215</b>
<i>Nair Massako Katayama Ito, Claudio Issamu Miyaji, Sandra Okabayashi Miyaji, Eduardo de Albuquerque Lima</i>	
<b>3.5 - Fisiopatologia do sistema nervoso e dos órgãos dos sentidos em aves domésticas</b>	<b>267</b>
<i>Maria Beatriz Cardoso de Oliveira</i>	
<b>3.6 - Fisiopatologia do sistema respiratório</b>	<b>281</b>
<i>Alberto Yocytaca Inoue, Antonio Guilherme Machado de Castro</i>	
<b>3.7 - Fisiopatologia do sistema genitourinário</b>	<b>305</b>
<i>Bernadete Miranda dos Santos</i>	
<b>3.8 - Fisiopatologia do sistema reprodutor</b>	<b>315</b>
<i>Luiz Sesti, Nair Massako Katayama Ito</i>	
<b>3.9 - Fisiopatologia do sistema circulatório</b>	<b>381</b>
<i>Marcelo Vasconcelos Meireiles</i>	
<b>3.10 - Fisiopatologia do sistema imune</b>	<b>391</b>
<i>Hélio José Montassier</i>	

<b>Aspectos anatômicos e funcionais do sistema nervoso</b>	<b>153</b>
<b>Aspectos anatômicos e funcionais do sistema digestório</b>	<b>156</b>
<b>Aspectos anatômicos e funcionais do sistema respiratório</b>	<b>161</b>
<b>Aspectos anatômicos e funcionais do sistema renal</b>	<b>163</b>
<b>Aspectos anatômicos e funcionais do sistema cardiovascular</b>	<b>164</b>
<b>Aspectos anatômicos e funcionais do sistema reprodutor</b>	<b>167</b>
<b>Aspectos anatômicos e funcionais das penas e da pele</b>	<b>168</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>170</b>

# Capítulo 3.1 - Anatomia - Fisiologia

**Renato Luis Furlan**

A Avicultura Brasileira é uma indústria que atingiu a maioridade, com indiscutível valor econômico global e que superou o estágio de produzir alimentos para um pequeno número de pessoas. Hoje, a produção avícola é eficiente e com alta produtividade, baseada em um sistema técnico-científico avançado, além da realização de um trabalho profissional em todos os níveis de atuação como produção, comercialização, distribuição e exportação. Este grande desenvolvimento da indústria avícola, no entanto, não se ateve apenas à produtividade, como aumento no número de ovos produzidos e de frangos abatidos, mas também no caráter social, os seja, fornecer proteína de qualidade a baixo custo.

Porém, apesar dos avanços tecnológicos na produção avícola, a fisiologia das aves não tem recebido tanta ênfase. O conhecimento em certas áreas da fisiologia aviária ainda é limitado, fragmentado e muitas vezes confuso. Neste sentido, há a necessidade de um melhor conhecimento dos processos, atividades e fenômenos fisiológicos, tendo em vista que esta área de pesquisa fornece a base racional para o entendimento do funcionamento das aves para obtenção de melhores desempenhos produtivos.

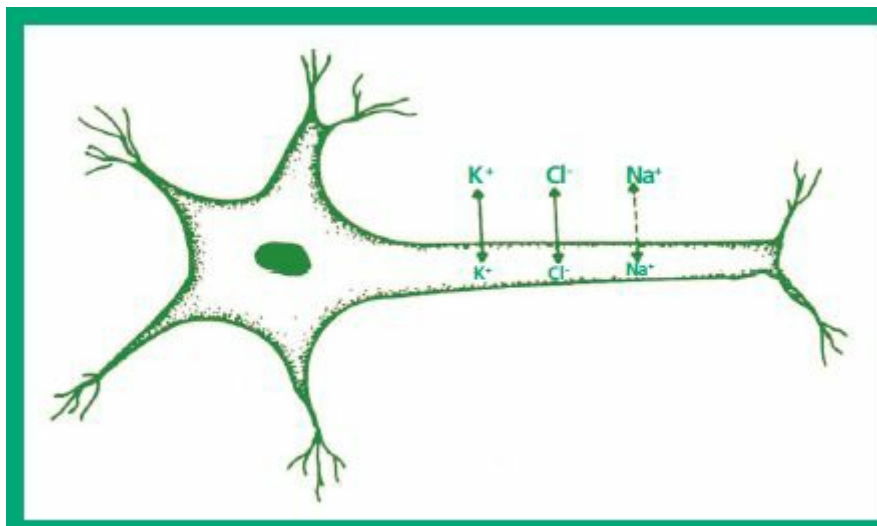
Assim, ao estudar a anatomia e a fisiologia das aves, deve-se ter sempre em mente que o organismo animal é composto por órgãos que formam sistemas interrelacionados entre si. Estes sistemas funcionam de uma forma conjunta, delicada e dinâmica sendo, totalmente dependentes, seja direta ou indiretamente, um do outro para a homeostase orgânica do animal. Neste capítulo serão abordados conceitos básicos de anatomia e fisiologia de diferentes sistemas que compõem o organismo animal, com o intuito de proporcionar ao leitor, informações básicas para uma melhor compreensão de como a ave mantém sua homeostase orgânica.

## Aspectos anatômicos e funcionais do sistema nervoso

O sistema nervoso é um sistema multicelular e constitui um dos principais sistemas coordenadores do organismo animal. Nos vertebrados, o sistema nervoso é responsável pelo contato que o animal tem, tanto com o meio externo como o seu meio interno. Este contato com o meio externo é realizado através de sensores localizados na superfície do corpo, já o meio interno é monitorado por sensores localizados nos músculos, ligamentos, vísceras e glândulas endócrinas (hormônios). Assim, pela integração e coordenação dos diferentes sistemas orgânicos (renal, respiratório, digestório etc.), o sistema nervoso é o responsável pela homeostase orgânica ou manutenção do meio interno. Esta função somente é possível, devido ao fato de o mesmo ser composto por células excitáveis, as quais funcionam como sensores de informações do meio externo (extrínsecas) e meio interno (intrínsecas). As informações sensitivas são transmitidas ao cérebro e, depois de processadas, desencadeiam estímulos para estruturas efetoras (músculos liso e esquelético, glândulas endócrinas, músculo cardíaco), onde a resposta será executada e, desta forma, havendo ajuste das funções normais do organismo de acordo com a intensidade do

estímulo.

A unidade funcional é o neurônio ou célula nervosa (**Figura 1**), cujo formato varia consideravelmente com sua localização no sistema nervoso. Quase todos os neurônios possuem uma área da membrana celular receptora de informações, denominada de dendrito; um corpo celular contendo organelas para a maior parte das atividades metabólicas celular; uma extensão da membrana celular para a transmissão de informações denominada de axônio e um terminal pré-sináptico para o axônio.



**Figura 1** - Ilustração esquemática de um neurônio mostrando as concentrações iônicas intra e extracelular, que propiciam ao neurônio as propriedades de excitabilidade (receber estímulos) e condutibilidade (conduzir impulsos).

Sendo o neurônio uma célula excitável, a membrana do mesmo tem mecanismos intrínsecos para a manutenção desta excitabilidade. Os gradientes iônicos transmembrana são a principal fonte de energia potencial, sendo fundamental para a geração de corrente iônica que é característica dos neurônios. Os principais íons envolvidos neste processo são: sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ) e o cloro ( $\text{Cl}^-$ ). Na condição de repouso, sem estímulos o neurônio é excitável, pois sua membrana é polarizada, isto é, positiva do lado extracelular e negativa no lado intracelular. Esta característica é possível devido ao fato de existir maiores quantidades de sódio no meio extracelular e menor quantidade de potássio no meio intracelular. Quando da estimulação do neurônio, ocorre uma alteração da permeabilidade da membrana, permitindo a entrada de sódio e a saída de potássio, provocando despolarização da célula nervosa. A despolarização percorre a membrana do neurônio, gerando um impulso elétrico à semelhança da corrente elétrica. Passado o impulso, a célula retorna à sua condição de repouso inicial (polarizada), mas este fato só é possível às custas da bomba de Na/K que, com alto custo energético, bombeia sódio para fora da célula e potássio para dentro. Nestas condições, a célula nervosa estará sempre preparada para receber novos estímulos. Acredita-se que este sistema de transporte responda por 25 a 40% de todo o oxigênio consumido pelo cérebro. Portanto, todo e qualquer distúrbio eletrolítico que envolva a participação destes íons, poderá interferir na excitabilidade neuronal e, conseqüentemente, na resposta do animal.

O sistema nervoso nas aves pode ser subdividido anatomicamente em Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Periférico (SNP). O SNC se divide em cérebro e medula espinhal e o

SNP apresenta subsistemas motor (eferente) e sensorial (aferente). O sistema sensorial é composto por neurônios receptores que trazem mensagens, através de potenciais de ação, para o SNC, a partir de receptores periféricos espalhados nas diferentes regiões do organismo das aves. É responsabilidade destes receptores transformar energia ambiental, por exemplo, luz, som, cheiro, estiramento de um músculo, em potenciais de ação que seguem para o SNC, codificando a intensidade da estimulação (energia) no receptor, mediante aumento da frequência de potenciais de ação, à medida que aumenta a intensidade do estímulo. O sistema nervoso motor ou somático, conduz comandos de potencial de ação do SNC para junções sinápticas em fibras musculares esqueléticas. Este sistema tem controle voluntário pelo animal e é o responsável pela emissão das respostas comportamentais através da contração dos músculos esqueléticos.

Os neurônios do sistema nervoso autônomo (não possuem controle voluntário do animal), conduzem potenciais de ação através de sinapses que inervam os músculos lisos, localizados nas vísceras, glândulas, trato gastrointestinal, veias e artérias, e músculo cardíaco das aves. A função básica do sistema nervoso autônomo é a manutenção da homeostase orgânica visceral e demais estruturas que têm fibras musculares lisas. A divisão clássica do sistema nervoso autônomo é: sistema simpático e parassimpático, sendo que a atividade normal de um determinado órgão representa o balanço entre os dois sistemas (**Figura 2**). Com relação aos aspectos fisiológicos, o sistema simpático e parassimpático diferem quanto ao tipo de neurotransmissor na junção mioneural (neurônio-músculo liso). A acetilcolina é o neurotransmissor do sistema parassimpático e a norepinefrina, do sistema simpático. O músculo cardíaco das aves recebe inervação autonômica simpática e parasimpática. De forma diferente dos mamíferos, tanto os átrios como os ventrículos recebem inervações simpáticas e parassimpáticas. Nos mamíferos, os ventrículos recebem apenas inervação autonômica simpática. Os nódulos cardíacos (sino-atrial e atrioventricular) são também inervados pelos dois sistemas autonômicos.

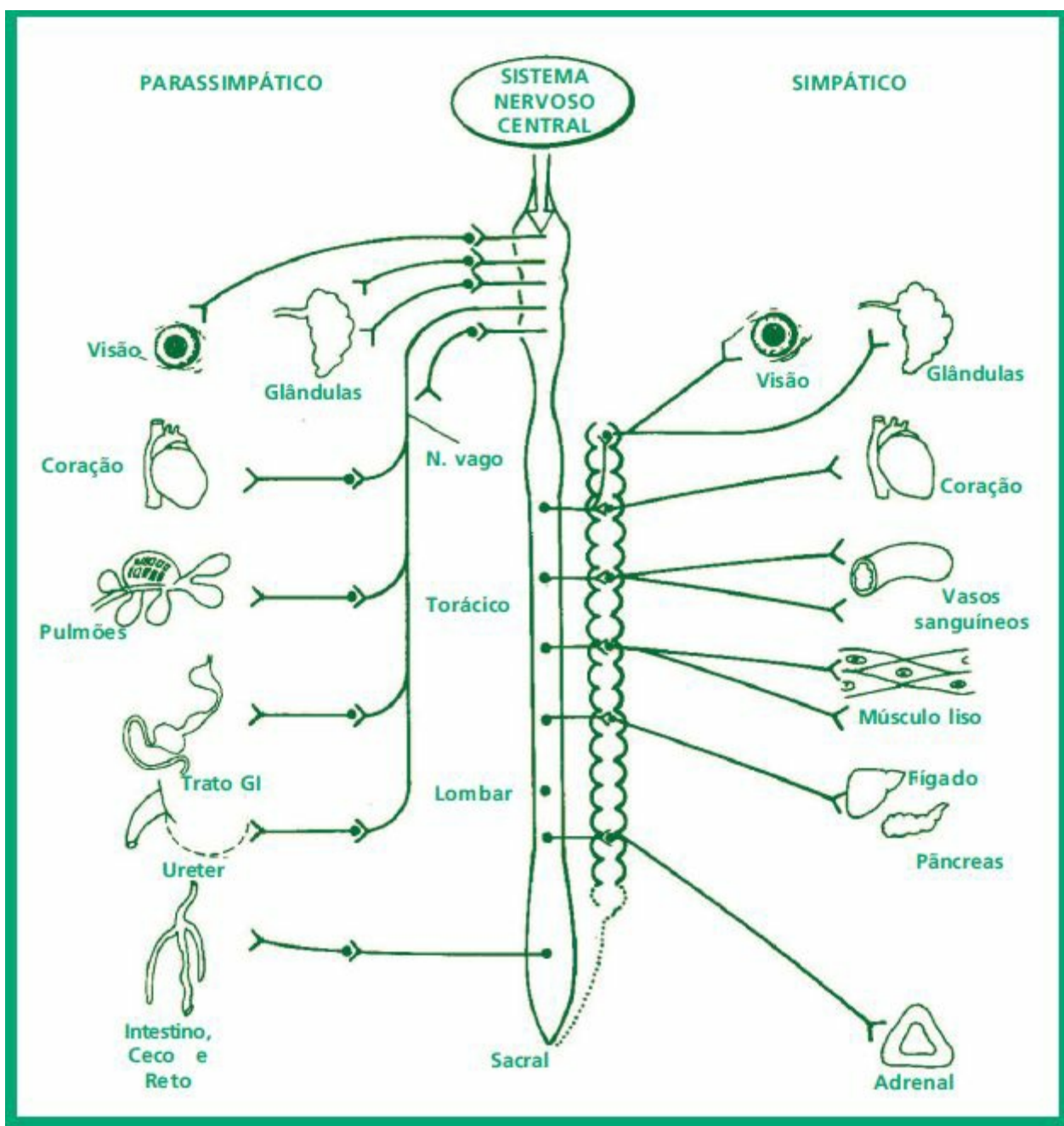


Figura 2 - Ilustração esquemática da subdivisão do sistema nervoso autônomo.

As células nervosas só podem ter duas principais ações sobre as outras células nervosas: excitadora ou inibidora. Como os neurônios estão organizados em redes, os efeitos excitadores ou inibidores podem ser orquestrados em padrões complexos de informações, processamento e fluxo. Nos animais superiores, a complexidade destes padrões depende da interação de muitos fatores, bem como da capacidade do animal reter experiências anteriores (memória) ou mesmo processos fisiológicos adaptativos ao ambiente.

O termo reflexo significa voltar para trás, neste sentido um reflexo pode ser definido como uma resposta específica, invariável e involuntária do sistema nervoso a um determinado estímulo. Arco reflexo seria a descrição do circuito neural envolvido neste processo. A função de um arco reflexo é programada geneticamente e já se encontra completamente desenvolvida ao nascimento, sendo formados basicamente por cinco componentes. Se qualquer um dos componentes funcionar mal, a resposta reflexa será alterada. Portanto, o arco reflexo é fundamental para o exame clínico do sistema nervoso. Os componentes do arco reflexo são:

- Todo arco reflexo tem um receptor, o qual varia amplamente no organismo, porém todos

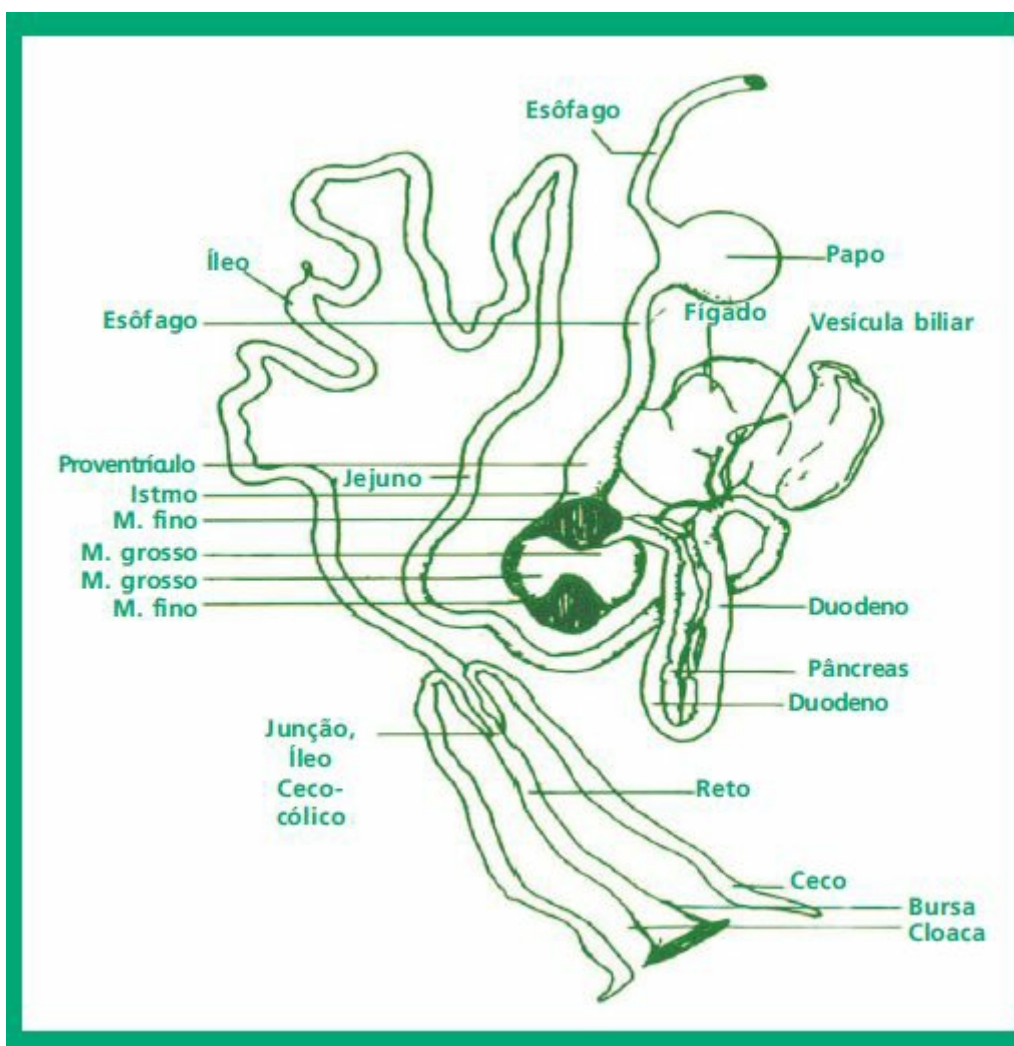
apresentam uma função comum; captam alguma energia e a transforma em potenciais de ação, a única linguagem que o sistema nervoso compreende.

- O outro componente de um arco reflexo é a porção aferente (nervo sensorial) representado pelo corpo celular e axônio do neurônio receptor de estímulos, que conduz os potenciais de ação do receptor para o sistema nervoso central (SNC).
- O terceiro componente é representado pela porção central (medula espinhal ou cérebro) onde os estímulos são integrados, decodificados e originada a resposta.
- O quarto componente é a porção eferente (nervo motor) que conduz potencial de ação do SNC para os órgãos efetores, com diferentes tipos de respostas periféricas.
- O último componente é algum órgão alvo (órgão efector), que produz a resposta reflexa.

Todo este processo, no entanto, só é possível porque os neurônios se comunicam entre si e com outras células do organismo, tais como muscular ou secretoras. Essa comunicação ocorre entre as células em junções especializadas denominadas de sinapses. Por exemplo, a sinapse neuromuscular, que envolve a comunicação entre um neurônio motor e uma célula muscular esquelética. A transmissão sináptica entre células ocorre através da transmissão de impulso elétrico (corrente iônica), de um neurônio para outro, com a participação de substâncias químicas denominadas de neurotransmissores. Os neurotransmissores mais comuns são: acetilcolina, norepinefrina, epinefrina, dopamina, serotonina e ácido gama amino butírico. Portanto, nas aves, as respostas comportamentais, frente aos estímulos ambientais, nada mais são do que arcos reflexos que comandam os órgãos efetores para a manutenção da homeostase orgânica. Assim, é importante o conhecimento da anatomia, da fisiologia e dos sinais clínicos normais previstos nos reflexos comuns, para a realização de um exame neurológico destinado a localizar lesões, uma vez que muitos dos exames clínicos do sistema nervoso envolvem a evocação de respostas reflexas.

## Aspectos anatômicos e funcionais do sistema digestório

A anatomia do sistema digestório das aves domésticas difere notavelmente daquela dos mamíferos principalmente na boca, na presença do inglúvio (papo) no esôfago e pela presença de um estômago muscular ou moela (**Figura 3**). No entanto, independente destas diferenças, as funções primárias do trato digestório e seus órgãos acessórios (fígado e pâncreas) são a secreção, digestão e absorção dos nutrientes, essenciais aos processos metabólicos das aves.



**Figura 3** - Ilustração esquemática do trato digestório das aves domésticas.

O bico (palato superior e inferior) é a principal estrutura que compõe a boca. Este, juntamente com a língua, é importante no que se refere aos mecanismos de seleção de alimentos, existindo muitas adaptações deste órgão nas aves. Trabalhos têm mostrado que as aves apresentam dificuldade em consumir partículas maiores ou menores do que a dimensão anatômica do bico e este seria um importante fator que influenciaria a preferência pelo tamanho da partícula. Não há dentes, sendo suas funções realizadas pelo bico córneo e pela moela. As glândulas salivares e os botões gustativos estão presentes e seu número e localização varia entre as espécies.

O esôfago é o segmento do trato digestório que conduz o alimento da boca para o estômago. É um segmento relativamente longo, com glândulas mucosas para lubrificação e possui uma dilatação chamada de inglúvio ou papo que é originário da distensão da parede ventral do esôfago e possui revestimento similar. No papo, o alimento é umedecido e amaciado, mas pouca ou nenhuma digestão é realizada. Na parede do papo são encontrados receptores de estiramento que estariam envolvidos nos mecanismos de controle da ingestão de alimentos.

O estômago muscular ou moela é altamente especializado para trituração de alimentos duros ou para misturar as secreções digestivas com alimentos em espécies carnívoras. A estrutura muscular lisa da moela é, na maioria das espécies, constituída de dois pares de músculos chamados de intermediários e laterais, ou mais recentemente, denominados de músculos finos e grossos. A camada interna da moela apresenta uma submucosa firme, camada glandular e um revestimento resistente e abrasivo, o qual é constituído por um complexo proteína- polissacarídeo. Sua função



básica é de proteção da mucosa contra eventuais danos provocados pela pressão dos grãos e alimentos sobre a superfície quando da contração da moela, bem como contra o efeito corrosivo das enzimas e ácidos que fluem do estômago glandular.

O intestino delgado das aves é semelhante ao dos mamíferos na sua porção proximal, a qual, em forma de “U”, envolve o pâncreas e é denominado duodeno. Os segmentos seguintes não têm divisão nítida, assim, a porção distal do duodeno é denominada jejuno e o segmento anterior à junção dos cecos é chamado de íleo. A mucosa do intestino delgado possui uma grande área superficial, devido a circunvoluções que podem ser divididas em três níveis. Inicialmente, há dobras de mucosa conhecidas como pregas circulares. Segundo, a superfície da mucosa é recoberta com projeções epiteliais digitiformes conhecidas como vilos. Os vilos são revestidos por epitélios simples, constituídos por três tipos celulares estruturais, funcionalmente distintos: as células caliciformes, os enterócitos e as células entero-endócrinas. Os vilos nas aves em geral são mais altos, mais delgados e mais numerosos quando comparados com mamíferos. Por último, os vilos por si mesmos são recobertos com uma membrana superficial em forma de escova, conhecida como borda em escova. A borda em escova é composta pelas microvilosidades que aumentam ainda mais a área superficial (**Figura 4**). No entanto, as propriedades do intestino delgado (secreção, digestão e absorção) parecem estar associadas com características histológicas da mucosa dos diferentes segmentos. Por exemplo, a estrutura da mucosa varia do duodeno para o íleo, sendo que os vilos, nestes segmentos também apresentam diferenças marcantes, ocorrendo uma redução no tamanho dos mesmos. A capacidade de absorção dos enterócitos não é similar nas três regiões intestinais. O duodeno e jejuno, por exemplo, absorvem mais lipídio que o íleo. A absorção de glicose também segue um gradiente proximal-distal no intestino delgado, sendo maior no duodeno e mínima na porção final do íleo.

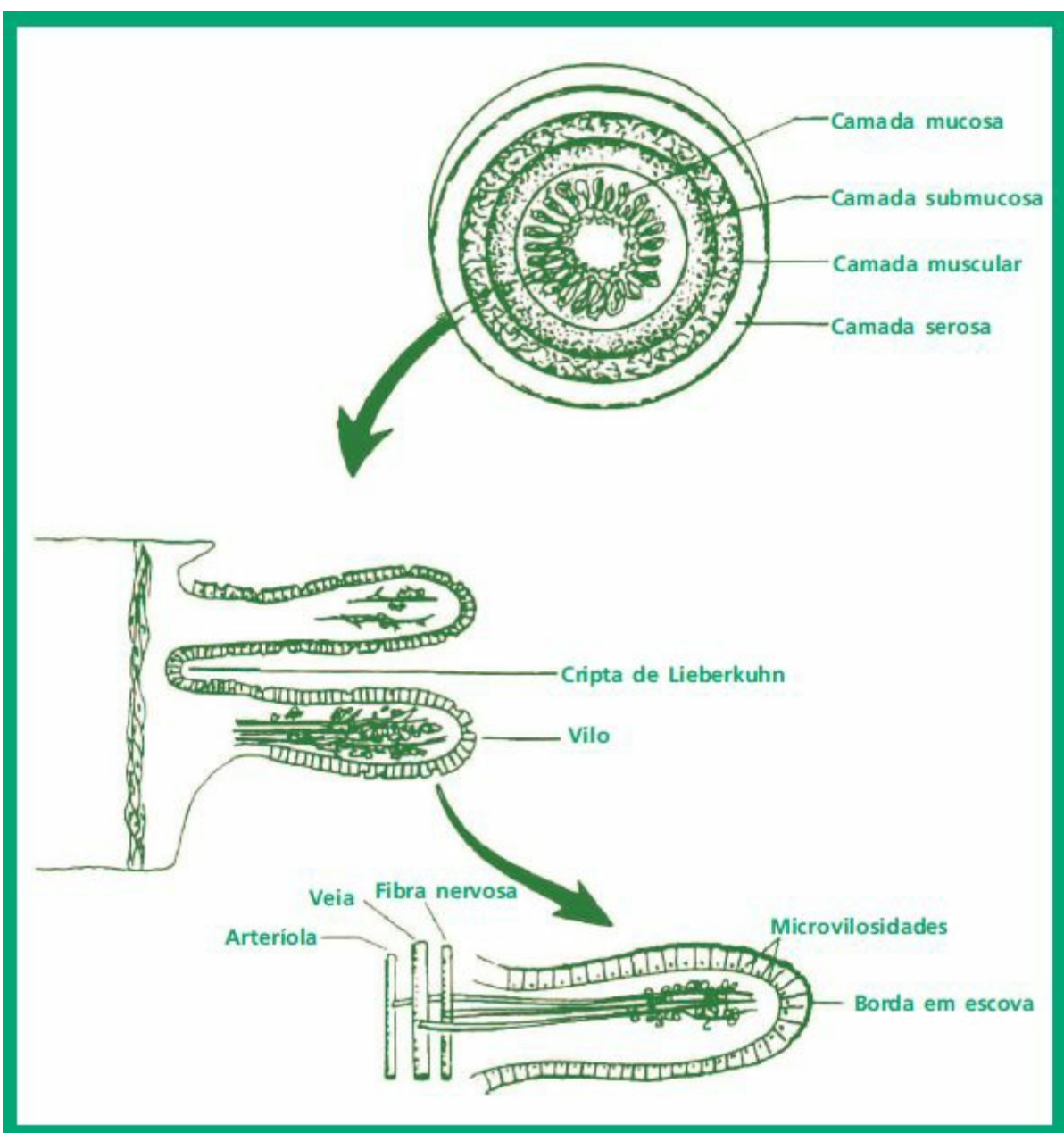


Figura 4 - Ilustração esquemática da organização anatômica do intestino delgado da ave doméstica.

A melhor utilização dos alimentos está diretamente relacionada com a taxa de proliferação e diferenciação celular do epitélio (vilosidades) do intestino, em especial, do intestino delgado, pois quanto maior a altura e densidade das vilosidades, maior será a área de digestão e absorção. Em mamíferos, é conhecido que a zona de proliferação celular restringe-se às criptas, e a zona de diferenciação e maturação celular está localizada na porção basal dos vilos. No caso das aves, foi verificado que as divisões celulares não se encontram restritas apenas às criptas, mas que elas também ocorrem ao longo dos vilos. A taxa de proliferação celular, entretanto, diminui gradativamente da cripta para a região apical do vilo. As divisões mitóticas nas criptas respondem por cerca de 55% da proliferação celular no intestino, a região média dos vilos por 32% e a região apical por 8%. Estes dados têm uma importância funcional, pois a diferenciação e concomitantemente maturação dos enterócitos compreende, entre outras coisas, a morfogênese dos vilos, envolvendo a expressão de proteínas de membrana com função transportadora ou enzimática as quais estão diretamente relacionadas à atividade intestinal de digestão e absorção.

A maioria dos processos de digestão ocorre no lúmen do intestino sob influência das enzimas digestivas. Contudo, parte da digestão ocorre na superfície das células da mucosa (enterócitos)

pela ação de enzimas de membrana ou mesmo dentro delas. As enzimas de membrana, dissacaridasas e oligopeptidasas, estão localizadas na superfície luminal dos microvilos e têm importante papel na digestão de nutrientes. Assim, o estudo das estruturas anatômicas, seus aspectos histológicos e de desenvolvimento dos diferentes segmentos do intestino, devem ser alvos de atenção tendo em vista a incidência de doenças como a coccídiase, onde o agente patológico ataca e destrói as células das paredes dos intestinos.

Do ponto de vista da produção de frango, a manutenção da sanidade intestinal, em especial, às doenças ou agentes que atuam no trato gastrintestinal, é muito importante, pois esta é a via de entrada dos nutrientes para o melhor desenvolvimento da ave. Considerando que a ração representa entre 70 a 80% do custo de produção, a integridade dos mecanismos fisiológicos de digestão e absorção dos nutrientes, isto é, a integridade das células epiteliais da mucosa, assegura o bom desempenho e produção. A mucosa do trato gastrintestinal tem uma característica única entre os tecidos do frango de corte, ou seja, tem a mais alta taxa de turnover de todos os tecidos do corpo. É importante salientar que, ao longo da extensão do intestino delgado, a densidade e o tamanho dos vilos, bem como a taxa de renovação celular, não são as mesmas. O duodeno, além de possuir maior altura de vilo, também tem a maior taxa de renovação da mucosa intestinal. Este rápido turnover duodenal pode ser explicado pelo fato de ser essa uma região onde ocorre a liberação de secreções biliar e pancreática exógenas. Além de ser o primeiro segmento do intestino a receber estímulos físicos, hormonais e químicos, desencadeados pela presença dos nutrientes no lúmen.

O frango de corte está sujeito a uma série de fatores que podem alterar as características morfofuncionais da mucosa intestinal. Assim, lesões ulcerativas, enterites inespecíficas, lesões por microorganismos e lesões mecânicas podem afetar o turnover celular, podendo induzir alterações funcionais, em especial, nos mecanismos absorptivos de nutrientes. No entanto, o frango pode reconstituir a mucosa intestinal, sendo definida como um processo pelo qual a continuidade das células epiteliais é restabelecida rapidamente após injúria. Após a perda de áreas na mucosa intestinal responsáveis pela digestão e absorção de nutrientes, seja ressecção de parte do intestino delgado ou pela ação de agentes patogênicos, o epitélio remanescente torna-se hiperplásico com maior altura de vilo e profundidade de cripta. A produção de células na cripta aumenta e o mesmo ocorrem com o número de células que compõem o vilo, sendo que este processo apresenta velocidade considerável. Assim, devido ao aumento da mucosa intestinal, o intestino como um todo apresenta maior capacidade de absorção de nutrientes e eletrólitos. Apesar do mecanismo proliferativo da mucosa ter sido mostrado já faz algum tempo, o estado de diferenciação celular das células epiteliais (novos enterócitos) tem sido assunto de muitos estudos e ainda não se encontra elucidado. Trabalhos têm sugerido que a proliferação celular na cripta determina o aparecimento de “enterócitos imaturos” que apresentam baixa capacidade absorptiva, bem como reduzida atividade das enzimas na bordadura em escova.

Estudos recentes sobre os mecanismos moleculares da adaptação dos enterócitos têm sido publicados. Assim, Rubin *et al.* (1996) mostraram que 48 horas após a ressecção de parte do intestino delgado, a porção remanescente da mucosa intestinal já apresentava no enterócitos um aumento de até três vezes na expressão de genes responsáveis pelos mecanismos absorptivos da mucosa, ou seja, aumento do mRNA de FABP (proteína carreadora de ácidos graxos) e apolipoproteína A-I (Apo A-I). Estes achados moleculares evidenciam que os enterócitos são capazes de

responder de forma aguda às transformações no intestino delgado, em especial a redução da superfície absorptiva, através da expressão de genes que codificam a síntese de proteínas de transporte de nutrientes. Adams *et al.* (1996) evidenciaram a adaptação molecular da mucosa intestinal quando da afecção com *Eimeria acervulina*, no que concerne à atividade enzimática. Estes pesquisadores mostraram que ocorre um aumento da atividade da maltase na bordadura em escova do jejuno e íleo de frangos experimentalmente infectados. A redução da atividade no duodeno, onde ocorre a lesão, foi compensada pelo aumento da atividade da enzima no jejuno e íleo (regiões com ausência de lesão). Este mecanismo compensatório parece ser induzido pela presença do alimento que ativam genes que transcrevem a síntese da enzima.

O intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) tem função primordial no processo de digestão e principalmente na absorção de nutrientes. Grande parte da função digestiva é devida à ação das enzimas (proteínas) pancreáticas: tripsina, quimiotripsina, amilase, lipase. Neste sentido, nos primeiros dias de vida do frango, a atividade pancreática parece ser determinante em digerir substratos no lúmen intestinal. Os processos de absorção são totalmente dependentes dos mecanismos que ocorrem na mucosa intestinal. É sabido que os carboidratos são absorvidos sob a forma de monômeros (glicose) e, as proteínas de aminoácidos, cujo processo é sódio dependente e ocorre através de transportadores de membrana. Já os lipídeos, absorvidos sob a forma de ácidos graxos livres, também dependem da atividade de transportadores de membrana. Assim, a integridade das células que compõem a mucosa intestinal é de fundamental importância para a absorção dos nutrientes.

O intestino grosso nas aves é relativamente curto e sem demarcações definidas, sendo dividido em ceco, cólon-reto e cloaca. Localizados na junção do intestino grosso e delgado, estão os cecos, que nas aves são em geral em número par, no entanto, não está presente em todas as espécies. O cólon-reto é um tubo curto e estreito que se estende da junção ileo-ceco-cólica até a cloaca, que é separada do cólon por uma ligeira constrição formada por músculo circular espesso. A cloaca é um compartimento comum aos sistemas digestório, urinário e reprodutivo, sendo dividida em três partes: o coprodeum, o urodeum e o proctodeum. O intestino grosso esvazia dentro do coprodeum, atuando como reservatório das fezes, enquanto que o sistema urinário e reprodutivo terminam no urodeum, sendo que a cloaca abre-se externamente através do proctodeum.

A inervação do trato gastrintestinal é composta por fibras do sistema parassimpático e fibras do sistema simpático. As fibras aferentes têm como função, transmitir, por meio de estímulos gerados nos diversos segmentos do trato digestório, impulsos ao sistema nervoso central para controle da atividade visceral. A inervação intrínseca é feita pelo sistema nervoso entérico. Este é um complexo neuronal distribuído na parede do tubo digestivo, estando presente da faringe até a cloaca. Os neurônios entéricos ou intrínsecos constituem dois plexos nervosos ganglionares, sendo um mioentérico e outro submucoso. Portanto, estes sistemas integrados fazem o comando da motricidade do trato gastrintestinal.

As paredes das vias gastrintestinais (GI), em todos os níveis, são musculares e capazes de se movimentar. Assim, os movimentos dos músculos GI possuem ações diretas sobre a ingesta na luz intestinal. Há diversas funções dos movimentos GI como: empurrar a ingesta de um local para outro, reter a ingesta em determinado local para digestão, quebrar fisicamente o alimento e misturá-lo a secreções digestiva e movimentar a ingesta colocando-a em contato com superfícies

absortivas. O movimento da parede intestinal é conhecido como motilidade e no caso das aves possuem padrões de movimentos exclusivos como o reflexo duode- nogástrico, movimentos dos cecos e motilidade da moela.

Uma seqüência complexa de contração gastroduodenal é vista em frangos e perus. Neste sentido, uma breve revisão anatômica se faz necessária para um melhor entendimento deste complexo digestório. O estômago possui dois compartimentos distintos: o proventrículo, ou estômago glandular e a moela, ou estômago mecânico. O estômago muscular é formado pela hipertrofia dos músculos lisos e é composto por dois pares de músculos: um par de músculos finos e um par de músculos grossos. Na seqüência de contração o par de músculos finos da moela contrai-se primeiro. Quando estes músculos iniciam a fase de relaxamento, duas a três ondas peristálticas passam através do duodeno. Em seguida os músculos grossos começam a se contrair. Durante cada seqüência de contrações, a ingesta flui da moela para o duodeno ao final da contração dos músculos finos e oralmente para o proventrículo durante a contração dos músculos grossos. Durante a contração do proventrículo a ingesta retorna a moela. Alterações nos padrões de motilidade podem afetar o tempo de trânsito da ingesta e com isso induzir a diarréias.

Por todo o trato gastrintestinal, as glândulas secretoras atendem a duas funções primárias: inicialmente, enzimas digestivas são secretadas em quase todos os segmentos, desde a boca até a extremidade distal do íleo; posteriormente, glândulas mucosas, presentes desde boca até a cloaca, fornecem muco para a lubrificação e proteção de todas as partes do trato digestório. Estas secreções são produzidas pelas glândulas salivares, proventrículo, pâncreas, fígado e pelo próprio intestino, que são capazes de fornecer diferentes tipos de produtos responsáveis pela digestão dos nutrientes.

As glândulas salivares estão espalhadas no assoalho da boca, língua e faringe, sendo que estas glândulas secretam de 10 a 30mL por dia de saliva mucosa, que serve para lubrificar o bolo alimentar e auxiliar na deglutição. O estômago glandular, proventrículo, secreta muco, ácido clorídrico e pepsinogênio, que estão relacionados com a digestão de proteínas. O pâncreas produz dois tipos de secreções: uma rica em íons bicarbonato e água, para elevar o pH ácido do conteúdo proveniente da moela que flui para o duodeno e, outra, rica em enzimas para a digestão luminal de proteínas, carboidratos e gorduras. O fígado produz e secreta a bile que contém sais biliares necessários para a emulsificação e digestão das gorduras. A atividade secretória do intestino delgado está relacionada à produção de enzimas digestivas de membrana, que digerem os di e trissacarídeos e os peptídeos a monômeros para serem absorvidos.

Um aspecto que tem sido considerado nos últimos anos, em função da proibição dos antibióticos, é o estudo dos microorganismos intestinais. A microbiota intestinal das aves é composta de inúmeras espécies de bactérias, formando um sistema complexo e dinâmico. Aquelas que colonizam o trato intestinal no início, tendem a persistir ao longo da vida da ave, passando a compor a microbiota intestinal. A formação desta microbiota se dá imediatamente após o nascimento das aves e aumenta durante as primeiras semanas de vida, até se tornar uma população predomi- nantemente de bactérias anaeróbicas. Estudos relatam que existe uma microflora natural no trato gastrintestinal de difícil definição e composta de aproximadamente 400 espécies em equilíbrio entre si e com o hospedeiro. Estima-se que 90% da microbiota é composta de bactérias facultativas e produtoras de ácido lático. Os 10% restantes dessa flora são constituídos de

bactérias consideradas nocivas ao hospedeiro. Os principais gêneros identificados são: bacillus, bifidobacterium, clostridium, enterobacter, *Lactobacillus*, fusobacterium, escherichia, enterococcus, streptococcus. No entanto, Apajalahti *et al.* (2004) utilizando técnicas de DNA microbiano encontraram que 90% das bactérias encontradas no trato gastrintestinal das aves são desconhecidas. Com relação a densidade, recentes dados mostram que o número de bactérias pode alcançar 10<sup>11</sup> e 10<sup>9</sup> por grama de conteúdo cecal e ileal, respectivamente, durante os primeiros três dias pós-eclosão, permanecendo relativamente estável nos próximos 30 dias. Cabe lembrar, no entanto que a microbiota intestinal pode ser modulada pela composição da dieta, idade do animal e jejum. O número e composição dos microorganismos da microflora intestinal das aves também variam consideravelmente ao longo do trato gastrintestinal. Com relação ao local, no ingluvívio existe a predominância de lactobacilos, que produzindo ácido lático e acético reduzem o pH, impedindo o crescimento de bactérias. O pH no proventrículo e moela é extremamente baixo e poucas bactérias são capazes de tolerar este ambiente. No duodeno, o pH é neutro e os microorganismos colonizam este segmento do intestino delgado, bem como o jejuno e íleo. O ceco é reconhecido como o segmento de maior colonização de microorganismos, sendo que grande número de bactérias Gram positivas e negativas estão presentes neste local.

Neste sentido, deve-se controlar os fatores que afetam a integridade intestinal, durante todo o ciclo de criação das aves, uma vez que o intestino esta diretamente ligado ao processo digestório, afetando diretamente o desenvolvimento das aves e a capacidade produtiva da avicultura.

## Aspetos anatômicos e funcionais do sistema respiratório

O sistema respiratório das aves tem características peculiares entre os vertebrados, tanto na estrutura como na forma pela qual desempenha sua função primária que é a de captar oxigênio e liberar gás carbônico. Estas particularidades estão relacionadas ao fato de que o sistema respiratório das aves apresenta pulmões que não se expandem ou contraem durante o ciclo respiratório e sacos aéreos complacentes que agem para ventilar os pulmões. Assim, os pulmões apenas realizam a troca dos gases, não modulando o volume de ar corrente em cada ciclo respiratório, como nos mamíferos.

Os pulmões das aves são rígidos e pouco flexíveis quando comparados com os mamíferos. As aves também não têm diafragma e os pulmões não colapsam quando em contato com a atmosfera. Os brônquios comunicam-se com os sacos aéreos distribuídos na cavidade torácico-abdominal. Os sacos aéreos podem ser divididos em dois grupos: cranial, composto pelos sacos aéreos cervicais, clavicular e crânio-torácico e caudais, composto pelos sacos aéreos abdominais e caudo-torácico, estando, tanto os sacos craniais como os caudais conectados com os parabronquios que são estruturas onde efetivamente ocorrem as trocas gasosas. Nas aves domésticas o pulmão verdadeiro, ou seja, onde há troca gasosa, é formado pelo paleopulmo e neopulmo, no entanto, este último nunca é superior a 20-25% do volume total do pulmão.

As forças que movem os gases através dos pulmões são derivadas da ação dos músculos esqueléticos respiratórios, isto porque, diferente dos mamíferos, as aves não possuem diafragma. Assim, os músculos inspiratórios e expiratórios, dos quais ambos os conjuntos são ativos durante o ciclo respiratório, fornecem energia para mover o ar. Quando os músculos inspiratórios se contraem, o volume corporal e, também, os sacos aéreos aumentam, criando uma pressão sub-

atmosférica dentro dos sacos aéreos. Devido à diferença de pressão, maior na atmosfera do que nos sacos aéreos, o ar entra. De forma inversa, quando da expiração, os músculos expiratórios se contraem, o volume dos sacos aéreos é reduzido, aumentando a pressão e forçando o ar para a atmosfera. Neste sentido, os músculos respiratórios forçam a passagem do ar através do sistema respiratório das aves, tanto na inspiração como na expiração. Portanto, o arranjo anatômico dos pulmões das aves separa a função de troca gasosa (paleopulmo e neopulmo) da função de ventilação (sacos aéreos), fazendo com que as aves sejam artificialmente ventiladas através de um fluxo contínuo, pois ocorrem trocas gasosas tanto na inspiração como na expiração. A **Figura 5** mostra a representação esquemática da mecânica respiratória. Na inspiração, o ar atmosférico é subdividido nos pulmões. Uma certa quantidade de gás movimenta-se através do neopulmo para dentro dos sacos aéreos torácico caudal e abdominal. O restante do ar desloca-se através do paleopulmo para dentro dos sacos aéreos cervical, clavicular e torácico cranial. Na expiração, o gás dos sacos aéreos torácico caudal e abdominal, passa novamente no neopulmo e desloca-se para o paleopulmo, na mesma direção como durante a inspiração. O ar dos sacos aéreos cervical, clavicular e torácico cranial é lançado para a atmosfera, sem passar novamente pela superfície de trocas gasosas. Assim, nas aves, o ar passa através do paleopulmo na direção caudo-cranial em ambos os ciclos respiratórios, mas é bidirecional no neopulmo. Este movimento unidirecional dos gases no paleopulmo, o principal local de trocas gasosas nos pulmões, reduz os desvios de ar respiratório e aumenta a eficiência da ventilação. É interessante notar que não existem válvulas que determinam o fluxo unidirecional no paleopulmo, este fluxo parece estar relacionado às condições aerodinâmicas dentro dos pulmões das aves.

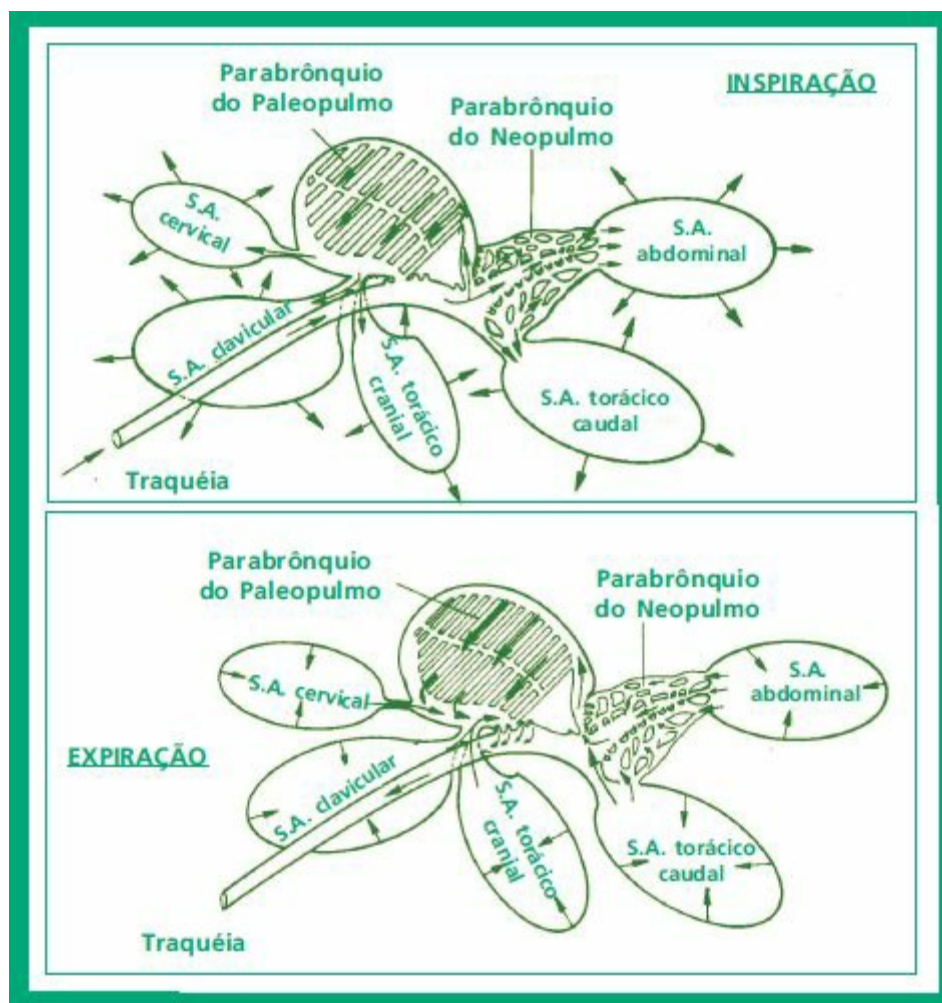


Figura 5 - Ilustração esquemática da mecânica respiratória nas aves domésticas.

O intercâmbio do oxigênio e do dióxido de carbono entre os parabônquios e os capilares sangüíneos pulmonares e entre os tecidos e o sangue ocorre por difusão. Difusão é o movimento de gases no sentido descendente de um gradiente de concentração. Ou seja, é o movimento dos gases do local de maior pressão para o local de menor pressão parcial. Ocorre passivamente não requerendo energia. No entanto, a velocidade de movimento de gás entre duas partes de um sistema (parabônquio/sangue ou sangue/tecido) é determinada pelas propriedades físicas do gás, pela área superficial disponível para difusão, pela espessura da barreira ar-sangue e pela diferença entre as pressões parciais entre as partes do sistema.

Nas aves a rede de capilares aéreos/sangüíneos é entremeada e tem uma área superficial de  $2m^2$ , sendo 2 a 4 vezes maior do que a encontrada em mamíferos de mesmo peso. A espessura da barreira gás/sangue, nas aves é de 0,1 a 0,3mm, e esta fina barreira somente é possível devido ao fato de o pulmão ser rígido. Nos mamíferos, os pulmões expandem e retraem, assim, a barreira gás/sangue é mais espessa (maior quantidade de tecido intersticial) a fim de que não haja ruptura durante o ciclo respiratório. Trabalhos têm mostrado que a afinidade da hemoglobina das aves é a mesma verificada nos mamíferos; no entanto, devido às características da barreira gás/sangue, a difusão é 3 a 4 vezes maior nas aves do que nos mamíferos. Além disso, nas aves, os capilares aéreos e os capilares sangüíneos apresentam-se em uma configuração anatômica que o gás flui em ângulo reto através do parabônquio e estabelece um sistema de contra-corrente com o fluxo sangüíneo venoso (Figura 6). Neste sistema, o gás flui no parabônquio e o dióxido de carbono ( $CO_2$ ) é continuamente removido e o oxigênio adicionado ao sangue. Este sistema permite uma eficácia maior nas trocas gasosa, quando comparado aos mamíferos, onde o sistema de trocas é uniforme. Por exemplo, o sistema de troca de gases por contra-corrente, pode constituir um dos fatores que permitem algumas aves voar com sucesso em grandes altitudes, onde a pressão parcial de oxigênio é muito baixa.

## Aspectos anatômicos e funcionais do sistema renal

O rim das aves, bem como dos mamíferos, é um órgão notável, encarregado de um conjunto diversificado de responsabilidades na manutenção da homeostasia orgânica. Por exemplo, o rim não deve apenas filtrar o sangue, a fim de excretar resíduos metabólicos, mas também recuperar as substâncias filtradas necessárias ao organismo, incluindo proteínas de baixo peso molecular, água e eletrólitos. Deve ainda identificar quando água e eletrólitos específicos estão presentes em excesso e responder deixando de reabsorver ou secretando tais substâncias. Além disso, a produção e a liberação de hormônios pelos rins desempenham um papel vital no controle da pressão sangüínea sistêmica e da produção de hemáceas. Para atingir esses objetivos, os rins são compostos de uma grande variedade de tipos celulares, cada um deles dotado de um conjunto individual de funções e destinado a responder, conforme as necessidades, a uma bateria complexa de sinais diretos e indiretos.

Em relação à formação e eliminação da urina, as aves têm muitas semelhanças com os mamíferos. As semelhanças incluem a filtração glomerular seguida pela reabsorção e secreção tubular, pela qual o filtrado é modificado e a osmolaridade da urina uretral que está acima ou abaixo da plasmática. As diferenças em relação aos mamíferos incluem a presença de dois tipos principais de nefrons (que são as unidades funcionais dos rins), a presença de um sistema porta renal, a formação de ácido úrico em vez da uréia como principal produto final do catabolismo do



nitrogênio e modificação pós-renal da urina uretral.

Os rins das aves estão situados dorsalmente ao longo da coluna vertebral estando intimamente adaptadas às depressões da união da pélvis. Cada rim é dividido em três lobos: cranial, médio e caudal. Cada lóbulo consiste de duas partes: o córtex e a medula. As aves não possuem bexiga e, portanto, não produz uma urina aquosa como o mamífero, ela excreta os uratos que são adicionados às fezes como uma mancha branca. Assim, os ureteres transportam a urina dos rins direto para a cloaca (urodeum) que é o local de depósito dos órgãos urinários.

O néfron é a unidade funcional do rim. Ele é composto pelo glomérulo, onde o sangue é filtrado, e de vários segmentos distintos do túbulo renal (túbulo proximal, túbulo contornado distal e alça de

Figura 6 - Ilustração esquemática do mecanismo de troca gasosa (contra-corrente) no paleopulmo das aves domésticas.

Henle), onde as substâncias filtradas são reabsorvidas e os componentes plasmáticos são secretados no líquido tubular (urina). Os rins das aves são caracterizados por possuir dois tipos principais de néfrons: um tipo localizado no córtex e sem alça de Henle, portanto, não sendo capazes de concentrar a urina e, outro tipo agrupado no cone medular com alça de Henle bem definidas ([Figura 7](#)). O gradiente osmótico destes néfrons permite a excreção da urina com uma osmolalidade maior do que a do plasma. Aves, como répteis, anfíbios e peixes possuem uma característica nos rim que é o sistema porta-renal que fornece uma parte do suprimento sanguíneo que perfunde os túbulos renais. O sangue venoso que chega por esse sistema vem dos membros posteriores pelas veias ciática e ilíaca externa, entra pela sua periferia e fornece sangue aferente aos capilares peritubulares. Dentro dos capilares peritubulares, ele é misturado ao sangue arteriolar eferente vindo do glomérulo. A mistura perfunde os túbulos e prossegue para a veia central do lóbulo. Estima-se que o sistema porta-renal fornece metade a dois terços do sangue para o rim. Localizada na junção das veias renais esquerda e direita e suas veias ilíacas, a válvula porta-renal. O significado fisiológico dessa válvula não está bem estabelecido, mas presume-se que ela possa influenciar a pressão e o fluxo sanguíneo para as veias renais.

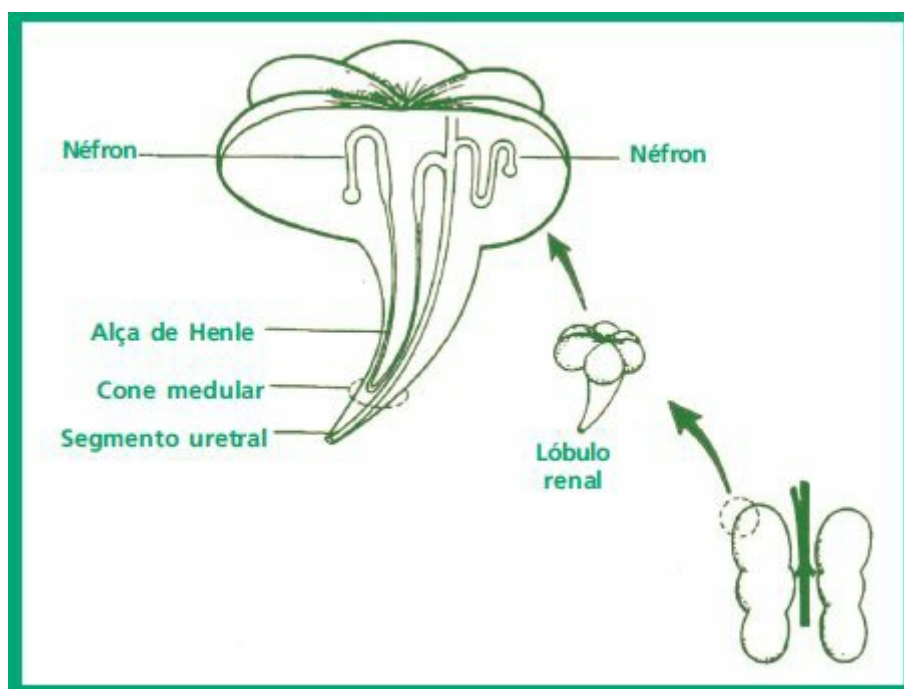


Figura 7 - Ilustração esquemática do lóbulo renal de ave com a localização relativa dos diferentes tipos de néfrons.

Entre os diferentes tipos de animais, a amônia, a uréia ou ácido úrico são responsáveis por dois terços ou mais do total de nitrogênio excretado, provenientes do metabolismo das proteínas e aminoácidos. Em répteis que vivem no seco e aves, o ácido úrico é formado em vez da uréia, porque o desenvolvimento embrionário ocorre em ovos que possuem cascas impermeáveis à água. Já que o embrião deve desenvolver-se com uma oferta limitada de água presente no ovo, é melhor que os produtos excretados sejam depositados como materiais insolúveis (ácido úrico precipitado) que não requerem água para sua remoção. O ácido úrico nas aves é formado no fígado a partir da amônia, sendo filtrado livremente no glomérulo e também secretado pelos túbulos. A secreção tubular é o processo predominante e é responsável por cerca de 90% da excreção total. A presença do sistema porta renal fornece uma grande fonte de sangue para os túbulos para ser depurado em vez de ser fornecido pelas arteríolas eferentes, assim maiores quantidades podem ser secretadas para os túbulos renais. As grandes quantidades de ácido úrico nos túbulos superam a sua solubilidade e a precipitação ocorre. O ácido úrico continua através dos túbulos na forma precipitada e aparece na urina como um coágulo esbranquiçado. Como o ácido úrico não permanece em solução, ele não contribui para a pressão osmótica efetiva do fluido tubular, e a perda de água é evitada.

A modificação pós-renal da urina ureteral é possível em virtude da sua exposição às membranas da cloaca, bem como pela exposição às membranas do cólon e ceco por causa do fluxo retrógrado provocado pelo peristaltismo reverso.

## Aspectos anatômicos e funcionais do sistema cardiovascular

A manutenção da vida animal está na dependência da atividade coordenada e ajustada de diferentes sistemas, entre eles o sistema respiratório e cardiovascular. O melhoramento genético, a utilização de rações de melhor qualidade e o manejo empregado, tem proporcionado ganho de peso sempre crescente nas aves, principalmente nos frangos. Contudo, os sistemas cardiovascular

e respiratório não têm acompanhado este rápido desenvolvimento, podendo em determinadas circunstâncias, exceder os limites fisiológicos e comprometer a vida do animal.

No sistema cardiovascular das aves, bem como nos mamíferos, o coração impulsiona o sangue através dos vasos sanguíneos em um padrão circulatório, estabelecendo, com isto, um fluxo sanguíneo no organismo (**Figura 8**). O coração, nas aves, é proporcionalmente maior em tamanho, bate mais rápido e bombeia uma maior quantidade de sangue por unidade de tempo, quando comparado com mamíferos de peso semelhante. Já o sangue funciona como meio de transporte dos substratos necessários para o metabolismo de cada célula do organismo, bem como carrega produtos do catabolismo para serem eliminados. O sangue, também transporta hormônios e ajuda a regular a temperatura corporal. Do ponto de vista patológico, as doenças cardiovasculares quase sempre representam risco de vida. Assim, o conhecimento da função cardiovascular torna-se necessária para o clínico.

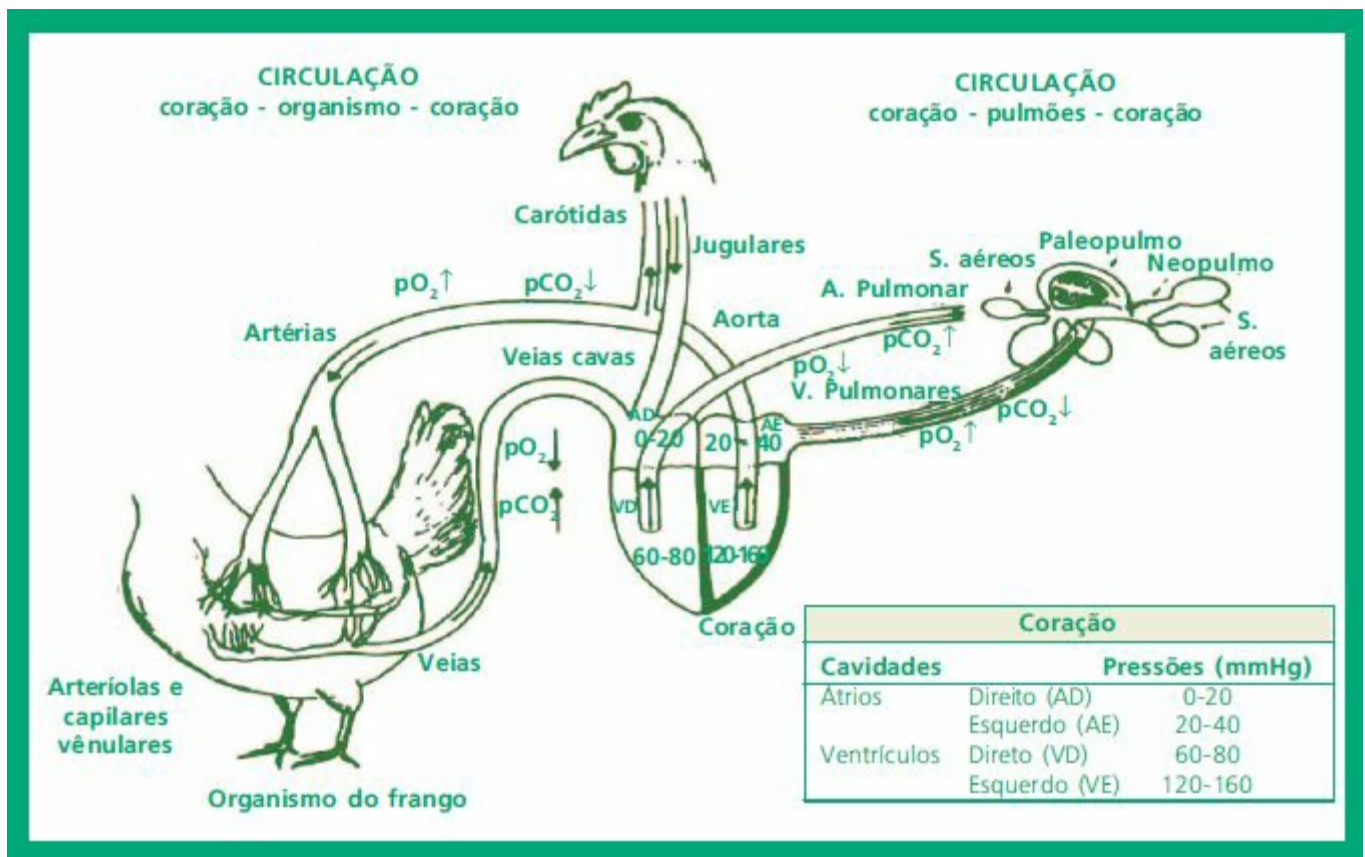


Figura 8 - Ilustração esquemática do sistema cardiovascular das aves domésticas.

O coração nas aves está localizado no tórax com pequeno desvio à esquerda da linha mediana. Ele é composto de quatro cavidades, dois átrios e dois ventrículos (esquerdo e direito). O átrio direito, usualmente, é maior do que o esquerdo, e o ventrículo esquerdo é 3 a 4 vezes maior do que o ventrículo direito. O sistema arteriovenoso que chega ou sai do coração pode sofrer alterações, não apresentando padrão altamente definido como ocorre nos mamíferos.

A inervação do coração é feita pelo sistema nervoso autônomo, com seus componentes simpáticos e parassimpático. Portanto, esta inervação tem papel importante na modulação da frequência cardíaca, pois os mediadores químicos determinarão hipo ou hiperpolarização das células do marca-passo (nódulo sinuatrial e atrioventricular), acarretando taquicardia ou bradicardia, respectivamente. A frequência cardíaca (batimentos/minuto) varia de 250 a 550 batimentos por

minuto, em função das condições em que a ave é submetida. Por exemplo, em condições de repouso a frequência cardíaca é razoavelmente estável. No entanto, em função da demanda metabólica, estresse calórico e demais tipos de estresses que liberam norepinefrina, a frequência cardíaca aumenta a valores de até 500 batimentos/ minuto. Isto porque, a norepinefrina hipopolariza o nódulo e desencadeia uma resposta taquicárdica.

O coração é uma bomba mecânica que impulsiona sangue através dos vasos sanguíneos. Esta bomba trabalha em ciclo, primeiro enchendo-se de sangue e, depois se esvaziando. Porém, cada contração cardíaca é iniciada por um potencial de ação elétrica no interior das células musculares cardíacas. Os mecanismos elétricos estão associados à característica de polaridade da célula muscular cardíaca, a qual é devida à diferença de concentração eletrolítica nos meios intra e extracelular. Quando da excitação cardíaca, ocorre despolarização das células e conseqüente contração muscular (sístole). A seguir, ocorre a repolarização (restabelecimento da situação eletrolítica inicial) com relaxamento muscular (diástole). Estas atividades elétricas de despolarização e repolarização podem ser registradas e compõem o chamado eletrocardiograma.

Quando da contração dos ventrículos (sístole ventricular), o sangue arterial é lançado para fora do ventrículo esquerdo e, através da artéria aorta distribuído para todo o organismo. Do ventrículo direito, através da artéria pulmonar, o sangue venoso é lançado para os pulmões, onde sofre oxigenação, retornando ao coração, pelas veias pulmonares, ao átrio esquerdo. A [Figura 8](#) ilustra a chamada pequena circulação (coração-pulmão-coração) e a grande circulação (coração-organismo-coração).

O sistema circulatório das aves, bem como dos mamíferos, é um sistema fechado, ou seja, o sistema arteriovenoso/coração possui um volume de sangue que é fixo, representando aproximadamente 7% do peso corporal do animal. Este fato implica que, caso haja necessidade de maior demanda no tecido periférico, o trabalho do coração tem de aumentar, a fim de que o sangue passe um número maior de vezes no pulmão para oxigenação, pois não existe a possibilidade de aumento agudo do volume sanguíneo para atender a maior demanda tecidual de oxigênio. Várias são as ocasiões em que o volume cardíaco tem de aumentar para atender às necessidades metabólicas oxidativas do animal. Por exemplo, durante a fase rápida de crescimento, pois há maior atividade metabólica na musculatura esquelética; na hipóxia; rações excessivamente energéticas e que implica maior atividade metabólica; estresse pelo calor.

Neste sentido, o lado direito do coração (ventrículo direito) bombeia sangue venoso para o paleo e neopulmo, a fim de que o mesmo seja oxigenado (liberando o gás carbônico) e, após voltar ao coração (átrio e ventrículo esquerdo) é lançado para o organismo para atender às necessidades do metabolismo oxidativo. Nas situações em que a demanda pelo oxigênio aumenta, o sangue deve ser bombeado com maior rapidez, aumentando o débito cardíaco. No entanto, a quantidade de sangue que perfunde os pulmões é limitada e, com isso, o coração exercerá maior pressão sobre o sistema pulmonar na tentativa de aumento de fluxo e conseqüentemente maior oxigenação do sangue. Com isto, a pressão na circulação pulmonar aumenta e desenvolve a hipertensão pulmonar, levando assim, a hipertrofia, dilatação, congestão venosa e falha cardíaca direita.

O fluxo sanguíneo está estritamente relacionado com o fornecimento de oxigênio e atividade metabólica da ave. Portanto, o sangue flui em todos os tecidos do organismo, sendo o mesmo controlado por mecanismos intrínsecos e extrínsecos do animal. O controle intrínseco é exercido

por mecanismos locais dentro do tecido (hipóxia tecidual); já o controle extrínseco age fora, por meio de nervos ou hormônios, para alterar o fluxo sanguíneo. Desta forma, o organismo animal tem condições de dilatar ou contrair os músculos lisos arteriais e diminuir ou aumentar a resistência arteriolar e, portanto, aumentar ou reduzir o fluxo sanguíneo para o tecido.

Além do diâmetro dos vasos, outros fatores como viscosidade do sangue, densidade do sangue, tamanho, número dos glóbulos vermelhos e comprimento dos vasos podem influenciar o fluxo sanguíneo. Todos estes parâmetros, no conjunto, formam a variável que denominamos de resistência periférica. Esta representa a dificuldade que tem o sangue de fluir entre dois pontos do sistema arteriovenoso. Assim, para uma dada diferença de pressão, condição está necessária para existir fluxo, tanto maior será o fluxo quanto menor for a resistência à passagem do fluido. Este conceito assume importância muito grande quando do desencadeamento de respostas vasculares específicas como, por exemplo, vasodilatação cutânea durante estresse calórico ou vasodilatação mesentérica no estado pós-prandial e vasodilatação das artérias musculatura esquelética durante o exercício. Portanto, cuidados especiais que envolvam manejo, devem ser observados para não incompatibilizar o desvio do fluxo sanguíneo para território distintos, pois considerando que o volume de sangue representa 7% do peso corporal, não há volume de sangue suficiente para manter a homeostase circulatória. Esta incompatibilidade pode desencadear mecanismos fatais, por exemplo, processos congestivos, hipóxia cerebral, insuficiência renal aguda e outros.

## Aspectos anatômicos e funcionais do sistema reprodutor

Dada a sua importância econômica as aves têm sido submetidas à seleção intensa para aumentar o potencial reprodutivo. Atualmente, o estoque reprodutor tem sido intensamente selecionado, ou para produção de ovos (linhagens de postura) ou para produção de carne (linhagens de frangos de corte e perus). A criação de frangos selecionados para produção de ovos tem resultado em uma reprodução muito eficiente; entretanto, a seleção intensiva de aves de corte, por crescimento e eficiência alimentar, resulta em eficiência reprodutiva reduzida.

Os órgãos reprodutivos das aves domésticas possuem vários aspectos característicos. As características mais marcantes do trato reprodutivo da ave macho são a localização, forma e tamanho dos testículos e ausência do pênis; já nas fêmeas, os órgãos genitais estão constituídos pelo ovário esquerdo, o direito sofre atrofia, e pelo oviduto, estando o útero e a vagina nele incluído (**Figura 9**). A cloaca participa como órgão de cópula e excretor. Outro importante aspecto da reprodução das aves é o fato desta caracterizar-se pela ovoviviparidade. Nesta modalidade reprodutiva, a prole descendente abandona o corpo materno após um período muito curto de desenvolvimento embrionário e submete a maior porção de seu desenvolvimento fora do corpo. Para satisfazer às necessidades impostas pela ovoviviparidade, a ave faz a maioria de seu trabalho reprodutivo antes da postura do ovo, porque ela fornece todos os nutrientes necessários para criar e sustentar o crescimento embrionário e fetal. Para isto, o ovo contém nutrientes na gema e albumina, água e são envoltos por membranas e uma casca protetora.

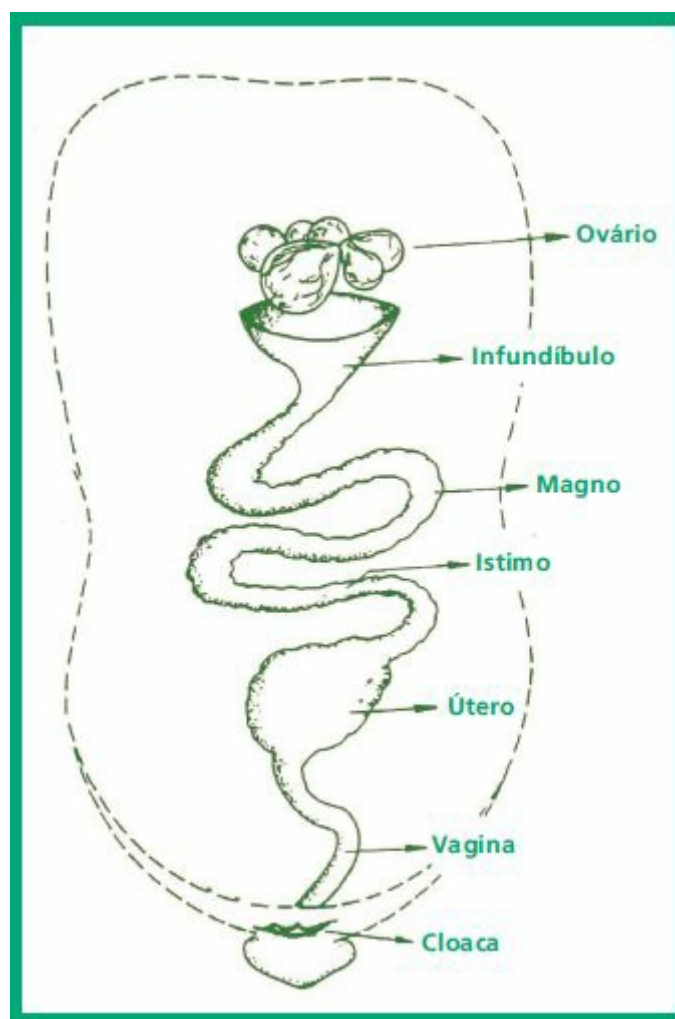


Figura 9 - Ilustração esquemática do trato reprodutivo da galinha de postura.

Nas aves domésticas, sexualmente maduras, apenas o ovário e oviduto esquerdo são normalmente funcionais, o ovário e oviduto direito são estruturas rudimentares e não funcionais. O ovário esquerdo funcional está firmemente aderido na parede dorsal da cavidade corporal, posterior ao pulmão esquerdo e anterior ao rim esquerdo. Já o termo oviduto é usado para descrever a genitália tubular completa da fêmea. Este é um tubo tortuoso, muito dilatável e largo durante a época de reprodução, estendendo do ovário até a cloaca. O oviduto pode ser subdividido em cinco regiões funcionais a partir do final do ovário: infundíbulo, magno, istmo, útero ou glândula da casca e vagina.

Macroscopicamente, o infundíbulo é uma estrutura formada por uma porção de parede delgada, com formato de funil e uma porção caudal, de estrutura mais espessa, semelhante a um túbulo. Observações têm mostrado uma grande motilidade no infundíbulo durante a ovulação. Tem sido mostrado que o infundíbulo engloba o folículo antes da ovulação e toma forma arredondada quando o óvulo é liberado. Assim, o conceito de um ovo que “cai” do ovário não é necessariamente exato. Quando um óvulo vai ser transformado em um ovo fértil, a fertilização ocorrerá no infundíbulo e, uma vez que tem início a estratificação das camadas de albumina sobre a gema, a fertilização torna-se impossível.

O magno é a parte mais longa e espiralada do oviduto e distingue-se do infundíbulo e do istmo por seu diâmetro e pelas paredes espessas e esbranquiçadas. A mucosa do magno é densamente acondicionada com glândulas que se abrem em sua superfície, sendo nesta região onde ocorre a secreção da albumina.

O istmo situa-se entre o magno e o útero sendo curto e mais estreito. Neste segmento são secretadas as duas membranas da casca, que formam um saco fechado que ajuda a conter os componentes do ovo e serve como um suporte sobre o qual a casca dura será depositada.

O útero ou glândula da casca é uma região curta, dilatada em forma de bolsa, e serve para adicionar líquido ao ovo, dando o formato tradicional ao ovo e secreta a casca dura. A tarefa final é a formação de uma cutícula e a pigmentação, esta última depositada logo antes da postura.

A vagina termina com uma abertura em forma de fenda, na parede lateral do urodeum (cloaca). Sua função parece ser o transporte e armazenamento de esperma e o transporte de ovos. A vagina não tem papel na formação da estrutura do ovo, podendo contribuir com a formação de uma cutícula que atua preenchendo os poros da casca.

O trato genital masculino das aves é formado pelos testículos, túbulos seminíferos (epidídimo e ducto deferente) e aparelho copulatório. As gonadas dos machos (testículos), têm como função principal produzir células germinativas denominadas espermatozóides, além de produzir hormônio que dão as características do sexo masculino. Os machos das aves domésticas possuem o testículo intracavitário, localizados em posição anterior aos rins e aderidos as paredes dorsais do corpo, portanto, a espermatogênese é realizada à temperatura corporal interna de 41°C, diferente da temperatura do escroto 24-26°C nos mamíferos. Ambos os testículos são funcionais nos machos; estes são macios e maiores, proporcionalmente em relação ao peso corporal do que os mamíferos. Há uma assimetria, sendo o testículo esquerdo, usualmente 0,5 a 3g, maior do que o direito. Sua coloração varia do branco amarelado, no macho imaturo, ao branco puro, durante a atividade sexual.

Os órgãos tubulares acessórios associados com os testículos são relativamente pouco desenvolvidos nas aves. Estas não possuem vesículas seminais, glândulas bulbouretrais e nem próstata. O epidídimo é uma estrutura alongada e fusiforme, intimamente inserida ao longo de todo o comprimento da borda dorsomedial do testículo. A região epididimária consiste em túbulos eferentes que carregam esperma dos testículos para um ducto epididimário único, o qual é muito curto quando comparado com os mamíferos. De cada epidídimo na extremidade caudal, há um tubo enrolado, o ducto deferente, que percorre toda a extensão do abdômen sobre a superfície dos rins. Cada canal deferente penetra em uma pequena papila a qual ejeta o sêmen para dentro da cloaca.

O macho não tem pênis, mas sim um falo erétil. Este é pequeno e não funciona como órgão penetrante, sendo o sêmen transferido para a fêmea pelo contato rápido do falo rudimentar com a vagina invertida.

## Aspectos anatômicos e funcionais das penas e da pele

Dentre as diversas especializações tegumentárias que ocorreram nas aves, durante o processo de evolução, as penas podem ser consideradas uma das mais importantes características, tendo em vista que estas estruturas estão estritamente confinadas às aves, distinguindo-as de todas as demais classes de vertebrados. Neste sentido, as características estruturais das penas confere uma durável, resistente e eficiente cobertura corporal, possibilitando a ave uma proteção contra água e

agentes físicos, além de manter sua temperatura corporal em regiões de extremo frio.

Embora o corpo da ave esteja totalmente coberto por penas, elas não estão distribuídas uniformemente por toda a superfície corporal, possuindo áreas sem a presença de penas. Apesar desta particularidade, o empenamento pode ser definido como a ação ou efeito de cobrir o corpo das aves de penas. No entanto, o conceito de empenamento, não é uma situação simples, mas dotada de complexidade única, tendo em vista que durante a vida das aves há uma sucessão de tipos de penas. Assim, as análises de fatores que afetam o mecanismo de crescimento das penas são muito importantes para se ter um modelo de estudo do empenamento. Frangos de corte, bem como outras aves, possuem a capacidade de regeneração, sendo que sucessivas penas de um mesmo folículo são virtualmente idênticas. Porém, as penas não são somente substituídas regularmente, mas em certas circunstâncias, como por exemplo, muda forçada, remoção acidental ou experimental das penas, pode ocorrer a regeneração da pena perdida. Porém, estas alterações cíclicas de crescimento podem ser influenciadas pelo nível nutricional, temperatura e hormônios.

O desenvolvimento das penas, como outros sistemas e órgãos, envolve uma série de complexos processos morfológicos e fisiológicos, importantes para estabelecer o padrão e a forma final das penas. Cada uma das penas possui um único folículo e uma papila localizada na base deste, dispostos de um modo definido (disposto em fileiras ou linhas) pelo corpo do animal. A papila, célula germinativa dos folículos, é necessária para a formação das penas, sendo que todas as gerações de penas crescem a partir das papilas formadas durante a fase pré-natal. Assim, podemos dizer que o número de penas de uma ave adulta corresponde ao número de folículos encontrados no embrião.

Um importante aspecto a ser observado no desenvolvimento das penas é o fato destas não crescerem continuamente. Após alcançar, rapidamente, o tamanho máximo e as características em função da idade, sexo, a pena permanece no folículo como uma estrutura queratinizada, atendendo às necessidades das aves (proteção, isolamento térmico), até ser substituída naturalmente, acidentalmente ou artificialmente. A papila em repouso é, no entanto, potencialmente capaz de formar uma nova pena e substituí-la por aquela perdida. Portanto, cada pena possui um crescimento cíclico referido como anagênese, alternado com períodos de repouso chamado de telogênese. As células das papilas podem ser induzidas a entrar na fase de anagênese, através de hormônios, nutrição, normal ou experimentalmente. A ação destes agentes ocorre dentro de uma limitada região das células das penas, conhecida como zona de diferenciação, onde a proliferação das células é progressivamente integrada dentro de uma ordem morfogenética. Neste sentido, haverá o crescimento de uma nova pena, no mesmo folículo e idêntica a pena perdida.

As penas são provavelmente, a mais complexa estrutura do tegumento de qualquer vertebrado. Existem muitos tipos de penas (contorno, penugem, filopluma), sendo cada uma com função e características estruturais específicas, que contribuem com sua finalidade funcional. Além disso, as partes das penas possuem uma enorme variedade de modificações durante a vida do animal com relação ao tamanho, largura, formato e textura. As principais partes estruturais de uma pena são: o cálam, raquis, eixo, barbas, bárbulas e barbículas. O eixo longitudinal da pena é composto de dois segmentos: o cálam e a raquis. O cálam é a base curta e tubular implantada no folículo, onde existe uma abertura em sua base inferior, através do qual a pena recebe os nutrientes essenciais para o crescimento. A raquis é a porção longa e sólida do eixo acima da pele. De cada



lado do eixo existem finas ramificações que são conhecidas individualmente como barbas e, coletivamente, como vexilo. As barbas também possuem ramificações muito pequenas chamadas de bárbulas, que por sua vez têm ramificações conhecidas como barbículas. O folículo das penas pode ser descrito como um tubo da epiderme submerso dentro da derme e, que possui função juntamente com os músculos, de suportar, ajustar sua postura e reter as penas até sua substituição (natural ou artificial). Portanto, todas estas estruturas irão conferir às penas suas características, de acordo com a idade, sexo, genótipo, auxiliando na termorregulação e proteção da ave contra escoriações da pele e água.

A pele é um órgão elástico, semitransparente e altamente especializado, que reveste toda a superfície externa do corpo e continua como membrana mucosa de vários orifícios. Ela protege o organismo animal contra o meio exterior ao mesmo tempo em que serve como um órgão de contato com o exterior do organismo. Em comparação com outros vertebrados, a pele das aves é fina e flexível e com uma estrutura mais delicada, porque a cobertura externa de penas constitui a principal camada protetora do corpo do animal.

Alguns tipos especializados de pele são observados em várias partes do corpo. A crista e a barbela são os únicos tipos de pele naturalmente ricos em vascularização, enquanto que a pele das patas e dedos, são tecidos de revestimento resistentes e queratinizados. O bico é composto de dois elementos, um esqueleto ósseo interno e, sobre ele, uma camada de pele. No entanto, a principal característica anatômica da pele das aves, está relacionada com a ausência de glândulas sudoríparas e sebáceas. Existe somente uma glândula encontrada na maioria das aves que secreta óleo, a glândula uropígea que se localiza na base da cauda.

Como em outros vertebrados, os dois principais componentes da pele das aves são a epiderme e a derme. A epiderme consiste em uma camada superior cornificada, contendo células queratinizadas e uma camada inferior de células viáveis (basal). A epiderme é totalmente avascular, dependendo da derme para sua nutrição. A espessura da epiderme varia nas diferentes partes do corpo, indo de poucas camadas de células, nas regiões protegidas pelas penas, até muitas camadas de células nas regiões sem penas como os pés, bico e crista. A derme ou corium é composta de fibras colágenas, elásticas e reticulares entrelaçadas com componentes celulares. Veias e artérias, terminações nervosas e uma grande quantidade de tecido muscular liso são encontradas na derme, particularmente em associação com folículos das penas, os quais estão localizados na derme.

## Bibliografia

Abdalla MA, King AS. The functional anatomy of the pulmonary circulation of the domestic fowl. **Respiration Physiology** 1975; 23:267-290.

Applegate TJ, Dibner JJ, Kitchell ML, Uni Z, Lilburn MS. Effect of turkey (*Meleagris gallopavo*) breeder hen age and egg size on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of turkey poult. **Comparative Biochemistry and Physiology** 1994; 124B:381-389.

Adams C, Vahl HA, Veldman A. Interaction between nutrition and *Eimeria acervulina* infection in broiler chickens: development of an experimental infection model. **British Poultry Science** 1996;

Apajalahti J, Kettunes A, Graham H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal** 2004; 60:223-232.

Akester AR. **The blood vascular system.** In: Bell DJ, Freeman BM, editors. Physiology and biochemistry of the domestic fowl. London: Academic Press; 1983.v.4, p783-840.

Baumell JJ. Coração e vasos sanguíneos. In: Getty R, editor. **Anatomia dos animais domésticos.** 5ª ed. Rio de Janeiro: Interamericana; 1981. p.1842-1880

Baumell JJ. Sistema nervoso In: Getty R, editor. **Anatomia dos animais domésticos.** 5ª ed. Rio de Janeiro: Interamericana;

1981. p.1890-1930.

Benzo CA. **Nervous system.** In: Sturkie PD, editor. Avian physiology. Heidelberg: Springer-Verlag; 1986. p.1-37.

Bretz WL, Schmidt-Nielsen K. Bird Respiration: flow patterns in the duck lung. **Journal of Experimental Biology** 1971; 54:103-118.

Burke WH. Reprodução das aves. In: Swenson MJ, Rece WO, editors. Dukes Fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.660-680.

Buts AR, Croom Jr. WJ, Fan YK, Daniel LR, Black BL, McBride BW, Bull LS, Taylor IL. Jejunal glucose absorption is enhanced by epidermal growth factor in mice. **Journal of Nutrition** 1994; 124:231-240.

Cunningham JG. **Neurofisiologia.** In: Cunningham JG, editor. Tratado de fisiologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p.23-92.

Decuyper E, Verheyen G. Physiological basis of induced moulting and tissue regeneration in fowls. **World's Poultry Science Journal** 1986; 42:56-61.

Dowling RH. Cellular and molecular basis of intestinal and pancreatic adaptation. **Scandinavian Journal of Gastroenterology** 1992; 27(Suppl. 193):64-67.

Dowling RH, Booth CC. Structural and functional changes following small intestinal resection in the rat. **Clinical Science** 1967; 32:139-149.

Duke EG. **Digestão nas aves.** In: Swenson MJ, Rece WO, editores. Dukes Fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.390-397.

Duke GE. **Alimentary canal: anatomy, regulation of feeding, and motility.** In: Sturkie PD, editor. Avian physiology. Heidelberg: Springer-Verlag; 1986. p.269-288.

Duke GE. **Alimentary canal: secretion and digestion, special digestive functions, and**

**absorption.** In: Sturkie PD, editor. *Avian physiology*. Heidelberg: Springer-Verlag; 1986. p.289-302.

Etches RJ. **Reproduction in poultry.** Wallingford: CAB International; 1996. 317p.

Feede MR. Respiration. In: Sturkie PD, editor. **Avian physiology**. Heidelberg: Springer-Verlag; 1986. p.191-220.

Feede MR. **Respiração nas aves.** In: Swenson MJ, Rece WO, editores. *Dukes fisiologia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.269-276.

Freeman BM. **Physiology and biochemistry of the domestic fowl.** London: Academic Press; 1983. 365p.

Furlan RL. **Mecanismos fisiológicos do empenamento das aves.** Simpósio Internacional de Nutrição de Aves; 1998; Campinas, SP. Brasil. p.29-39.

Gedek B. Probiotics in animal feeding: effects on performance and animal health. **Feed Management** 1986; 3:21-24.

Gleeson MD, Dowling RH, Peters TS. Biochemical changes in intestinal mucosa after experimental small bowel bypass in the rat. **Clinical Science** 1972; 43:743-757.

Gilbert AE. **Female genitals organs.** In: King AS, Mclelland J, editors. *Form and function in birds*. London: Academic Press; 1979. p.237-360.

Herdt T. **Metabolismo fisiologia gastrintestinal.** In: Cunningham JG editor. *Tratado de fisiologia veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p.177-258.

Hofstad MS. **Diseases of poultry.** 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1984. 831p.

Johnson AL. **Reproduction in the female.** In: Sturkie PD, editor. *Avian physiology*. Heidelberg: Springer-Verlag; 1986. p. 403-431.

Johnson AL. **Reproduction in the male.** In: Sturkie PD, editor. *Avian physiology*. Heidelberg: Springer-Verlag; 1986. p.432-451.

King AS. **Sistema respiratório.** In: Getty R, editor. *Anatomia dos animais domésticos*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Interamericana; 1981; 2:1764-1797.

King AS. **Sistema urogenital.** In: *Anatomia dos animais domésticos*. Getty R, editor. *Anatomia dos animais domésticos*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Interamericana; 1981. v.2, p. 1798-1834.

Kolb E. **Fisiologia veterinária.** 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1984.

Klose AA, Mecchi EP, Pool MF. Observations on factors influencing feathers release. **Poultry Science** 1961; 40:1029-1036.

Lake PE. **The male in reproduction.** In: Bell DJ, Freeman BM, editors. *Physiology and*

biochemistry of domestic fowls. London: Academic Press; 1971. 3:381-405.

Linsley JG, Berger RE. Respiratory and cardiovascular response in the hyperthermic domestic cock. **Poultry Science** 1964; 43:291-305.

Long S, Skadhauge E. Renal acid excretion in the domestic fowl. **Journal of Experimental Biology** 1983; 104:51-581.

Lucas AM, Stettenhein PR. **Avian anatomy: integument**. Washington: Government Printing Office; 1972; 2:340 p. (Agriculture Handbook, 362).

Lucas AM, Stettenhein PR. **Avian anatomy: integument**. Washington: Government Printing Office; 1972; 2:410 p. (Agriculture Handbook, 362).

Macari M, Furlan RL, Gonzales E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP; 1994.

Macari M, Furlan RL, Gonzales E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP; 2002. 375 p.

McLelland J. **Sistema digestivo**. In: Getty R, editor. Anatomia dos animais domésticos. 5ª ed. Rio de Janeiro: Interamericana; 1981. v.2, p.1740-1763.

McLelland J, Molony V. **Respiration**. In: Freeman BM, editor. Physiology and biochemistry of domestic fowl. London: Academic Press; 1983. p.4-63.

McLelland J. **A color atlas of avian anatomy**. London: WB Saunders Company; 1991.

Menge H, Robinson JW. The relationship between functional and structural alterations in the rat small intestine following proximal resection of varying extent. **Research Experimental Medicine** 1978; 173:41-53.

Melbin J, Detwiler DK. **Sistema cardiovascular e fluxo sanguíneo**. In: Swenson MJ, Rece WO, editores. Dukes fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.57-80.

Moreng RE, Avens JS. **Anatomia e fisiologia das aves**. In: Avens JS. Ciência e produção de aves. São Paulo: Rocca; 1990. p. 43-75.

Nitsan Z, Dunnungton E, Siegel P. Organ growth and digestive enzyme levels to 15 days of age in lines of chickens differing in body weight. **Poultry Science** 1991; 70:2040-2048.

Porus RL. Epithelial hyperplasia following massive small bowel resection in men. **Gastroenterology** 1965; 48:753-757.

Randall D, Burggren W, French K. **Eckert: fisiologia animal mecanismos e adaptações**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.

- Rawles ME. **The integumentary system.** In: Marshall AJ, editor. *Biology and comparative physiology of birds.* London: Academic Press; 1960. v.1, p.190-240.
- Reece OW. **Os rins.** In: Swenson MJ, Reece WO, editors. *Dukes fisiologia dos animais domésticos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.521-548.
- Robinson NE. **Função respiratória.** In: Cunningham JG, editor. *Tratado de fisiologia veterinária.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p.371-412.
- Rubin DC, Swietlicki EA, Wang JL, Dodson BD, Levin MS. Enterocytic gene expression in intestinal adaptation evidence for a specific cellular response. **American Journal of Physiology** 1996; 270:G143-G152.
- Schmidt-Nielsen, K. **Animal physiology: adaptation and environment.** 5th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1997.
- Spearman RIC. **Integumentary system.** In: Bell DJ, Freeman BM, editors. *Physiology and biochemistry of the domestic fowl.* London: Academic Press; 1983. v.4, p.603-620.
- Sturkie PD. Heart and circulation: anatomy, hemodynamics, blood pressure, blood flow. In: Sturkie PD, editor. **Avian physiology.** Heidelberg: Springer-Verlag; 1986. p.130-166.
- Sturkie PD. **Kidneys, extrarenal salt excretion and urine.** In: Sturkie PD, editor. *Avian physiology.* Heidelberg: Springer-Verlag; 1986. p.359-382.
- Stephenson RB. **Fisiologia cardiovascular.** In: Cunningham JG, editor. *Tratado de fisiologia veterinária.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p.93-176.
- Skadhauge E. **Osmoregulation in birds.** Heidelberg: Springer-Verlag; 1981.
- Taylor TG. A characteristic feather abnormality in chicks. **British Poultry Science** 1967; 8:315-320.
- Timmwood KI, Hyde DM, Plopper CG. Lung growth of the turkey, *Meleagris gallopavo*. II: Comparison of two genetic lines. **American Journal of Anatomy** 1987; 178:158-169.
- Uni Z, Ganot S, Sklan D. Posthatch development of mucosal function in broiler small intestine. **Poultry Science** 1998; 77: 75-82.
- Verlander JW. **Fisiologia renal.** In: Cunningham JG, editor. *Tratado de fisiologia veterinária.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. p.324-370.
- Williamson RCN, Bauer FL, Ross JS, Malt RA. Proximal enterectomy stimulates distal hyperplasia more than by-pass or pancreaticobiliary diversion. **Gastroenterology** 1978; 74:16-23.
- Williamson RCN, Bucholtz TW, Malt RA. Humoral stimulation of cell proliferation in small bowel after transection and resection in rats. **Gastroenterology** 1978; 75:229-254.



<b>Introdução</b>	<b>175</b>
<b>Classificação</b>	<b>176</b>
<b>Deformidades angulares das pernas</b>	<b>177</b>
<b>Etiologia</b>	<b>178</b>
<i>Nutrição</i>	178
<i>Manejo (Iluminação e tipo de criação)</i>	179
<i>Outras causas</i>	179
<b>Discondroplasia tibial</b>	<b>179</b>
<b>Condrodistrofia (perose)</b>	<b>179</b>
<b>Etiologia</b>	<b>180</b>
<b>Raquitismo</b>	<b>180</b>
<b>Etiologia</b>	<b>182</b>
<b>Pododermatite</b>	<b>182</b>
<b>Outras enfermidades que determinam transtornos na locomoção das aves</b>	<b>183</b>
<i>Tenosinovites e artrites infecciosas - ruptura do tendão gastrocnêmio</i>	<b>183</b>
<i>Osteomielite</i>	184
<b>Espondilolistese (Kinky Back)</b>	<b>184</b>
<b>Necrose da cabeça do fêmur</b>	<b>185</b>
<i>Paralisia dos dedos retorcidos (deficiência de Riboflavina)</i>	185
<b>Diagnóstico das enfermidades do aparelho locomotor</b>	<b>186</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>187</b>

# Capítulo 3.2 - Fisiopatologia do sistema locomotor

**Cássio Xavier de Mendonça Júnior**

## Introdução

Na avicultura moderna de corte, cujo objetivo precípua é alcançar peso máximo da ave no tempo mais curto possível, sempre associado ao menor custo de produção, o melhoramento genético e a nutrição devem caminhar necessariamente juntos. O crescimento rápido está na dependência do desenvolvimento das estruturas anatômicas e dos mecanismos fisiológicos da ave. Assim, a seleção genética é essencial no sentido de proporcionar animais precoces que apresentem maior capacidade circulatória, digestória, respiratória e esquelética, bem como, potencial para formação de significativa massa muscular.

Dentre as doenças ditas modernas, ou da produção, aquelas do sistema locomotor das aves de corte, denominadas genericamente de "fraqueza ou deformidade das pernas", são muito importantes nos dias atuais, sendo responsáveis por perdas econômicas relevantes na avicultura de corte mundial. Além disso, pelo fato de causarem significativas claudicações nas aves, tais doenças são motivo de sérias preocupações para o lado do bem estar animal. Pesquisas recentes estimam que estes transtornos do esqueleto das aves resultam em taxas de mortalidade entre 2 e 8% em frangos de corte, sendo que a incidência maior ocorre em aves mais maduras (sete a oito semanas de idade) e nos machos.

O crescimento rápido e o elevado peso corporal, associados a uma estrutura óssea ainda em formação, têm sido citados como as principais causas responsáveis pela ocorrência dessas doenças músculo- esqueléticas em frangos de corte, que atingem tanto o esqueleto axial como o apendicular, resultando no surgimento das disfunções do aparelho locomotor. As aves apresentam esqueleto contendo em sua estrutura tecido cartilaginoso muito desenvolvido, de modo a propiciar potencial biomecânico para pronto atendimento de suas necessidades locomotoras; em contrapartida, este esqueleto perde em rigidez e força, facilitando o aparecimento das deformidades ósseas. Acrescente-se que o frango de corte, até a idade do abate, encontra-se ainda em fase de crescimento, possuindo ligamentos, tendões, músculos e ossos relativamente imaturos, sendo que estes últimos contêm muito pouco tecido ósseo compacto.

As principais funções do esqueleto são: proteger os tecidos moles, servir de apoio para fixação dos músculos, facilitando, assim, sua ação e o movimento corporal e constituir reserva de 99% do cálcio e 90% do fósforo do organismo. A fadiga da gaiola é o exemplo de uma tentativa do organismo para manter a homeostase do cálcio às expensas de outras funções esqueléticas básicas.

O movimento normal de uma ave depende da atividade coordenada dos sistemas músculo- esquelético e nervoso, para que ocorra distribuição uniforme da carga (estresse) sobre o esqueleto. A contração normal do músculo fixado no osso altera a distribuição do estresse sobre



o mesmo, diminuindo ou eliminando a tensão sobre a superfície óssea e permitindo que o osso suporte cargas maiores que as normalmente toleradas. Por outro lado, a atividade muscular alterada pode produzir cargas anormais sobre os ossos, predispondo os animais a deformidades ósseas. Alguns autores acreditam, no entanto, que o peso corporal por si próprio não desencadearia a ocorrência das desordens esqueléticas, a taxa de crescimento seria sim o principal fator envolvido. A diminuição do ritmo de crescimento da ave causaria redução dramática na incidência das deformidades das pernas. No entanto, esta prática nem sempre é economicamente viável.

O objetivo principal da avicultura de corte é maximizar a massa muscular das aves em curto espaço de tempo mediante a combinação adequada da seleção genética, nutrição e manejo. O geneticista e o nutricionista, ao realizarem o aprimoramento genético das linhagens e estabelecerem suas necessidades nutricionais, não podem jamais esquecer da integridade do esqueleto e de sua função. Sabe-se que inúmeros fatores nutricionais, como vitaminas, minerais, proteína e aminoácidos, além do balanço eletrolítico, estão envolvidos no desenvolvimento normal do osso. Edwards Junior (2000) destaca que oito vitaminas, 13 elementos minerais e seis aminoácidos, além da proteína e da energia alimentar, estão diretamente envolvidos na etiologia dos problemas esqueléticos das aves. No relativo aos aminoácidos, tem sido verificado que as desordens locomotoras dos frangos de corte estão associadas a dietas deficientes em arginina ou contendo elevados teores de lisina. O desequilíbrio entre estes aminoácidos interfere diretamente no metabolismo do osso, principalmente durante sua fase de desenvolvimento. Na prática, falhas de nutrição e manejo, associadas ao rápido crescimento das aves, resultam em disfunções locomotoras traduzidas, inicialmente, por alterações dos hábitos alimentares (ingestão de cama), conversão alimentar ruim, aumento do número de refugos que terminam em elevada condenação no abate, e acarretam expressivas perdas econômicas.

## Classificação

Dentre as várias classificações relativas às enfermidades do sistema locomotor das aves, merecem destaque àquelas citadas por Rowland (1987) e Thorp (1994).~

Rowland (1987) classifica as enfermidades do aparelho locomotor em:

### I - Alterações da Placa de Crescimento

(Cartilagem de Conjugação ou Disco Epifisário)

- Erros na Matriz Cartilaginosa
  - Raquitismo
  - Discondroplasia
  - Condrodistrofia (Perose)
- Necrose da Cabeça do Fêmur

### II - Doenças Infecciosas do Sistema Musculo-esquelético

- Osteomielite
- Lesões dos Tendões

- Tenosinovites
- Ruptura do Tendão Gastrocnêmio

### III - Desordens do Desenvolvimento e/ou Congênitas

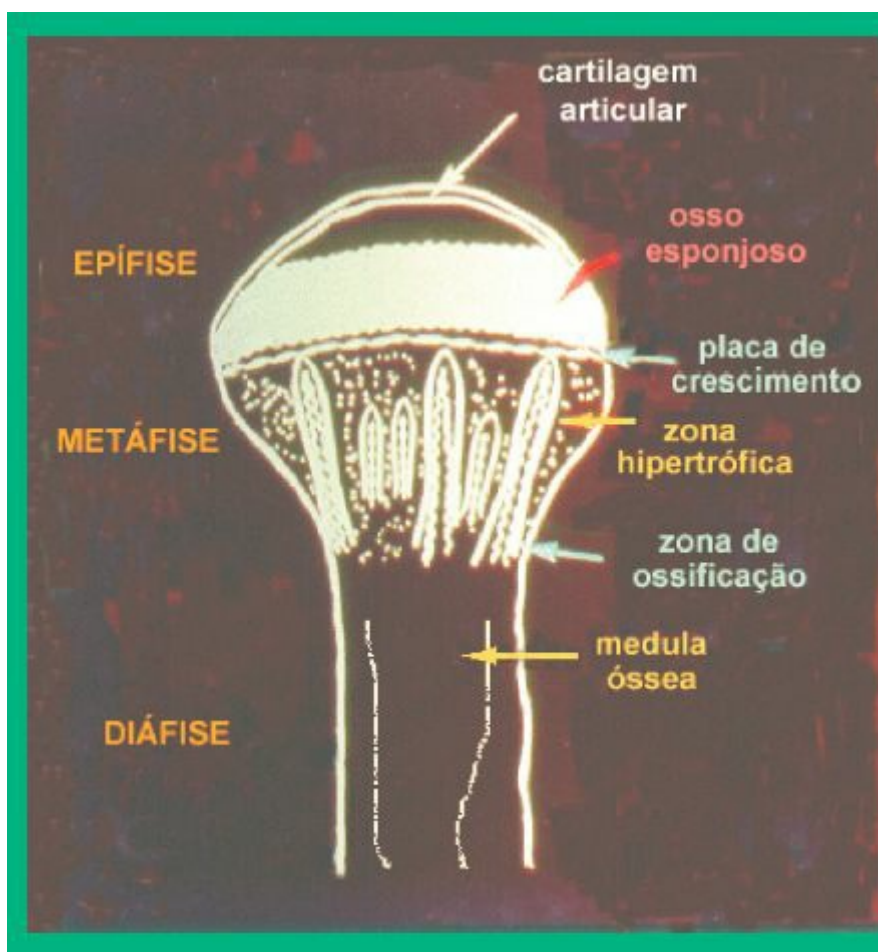
- Kinky-Back (Espondilolistese)
- Defeitos de Angulação (Valgus e Varus)

Thorp (1994), por sua vez, relata que categorizar as desordens esqueléticas das aves não é fácil e que a tendência atual seria embasada na etiopatogênica. O autor procura estabelecer uma classificação inicial de acordo com a idade e o tipo de aves afetadas:

#### I - Aves jovens selecionadas para crescimento rápido (Frangos de Corte)

As duas formas predominantes de anormalidades das pernas encontradas nas criações comerciais de frangos de corte são as osteodistrofias (formação de ossos defeituosos) e a discondroplasia (formação de cartilagem anormal).

Os ossos longos são divididos em três regiões: epífise, metáfise e diáfise (**Figura 1**). A epífise é composta externamente por uma cartilagem articular e internamente por uma camada de tecido ósseo esponjoso. A diáfise é constituída de osso compacto circundando a cavidade medular. Finalmente, a metáfise é a área de crescimento ósseo mais ativo e onde se originam as mais importantes alterações ligadas ao aparelho locomotor. Tais modificações estão geralmente associadas à patologia da placa de crescimento ou ainda a anormalidades na modelagem do osso, resultando em deformidades ósseas (**Figura 1**).



**Figura 1** - Esquema de um osso longo mostrando as estruturas da epífise, metáfise e diáfise envolvidas no crescimento ósseo. (Mendonça Júnior, FMVZ/USP).

As enfermidades que acometem os frangos de corte são classificadas em:

- Não infecciosas
  - Deformidades angulares e de torção do osso (rotacionais)
  - Discondroplasia
  - Raquitismo
  - Osteocondrose
  - Condrodistrofia (Perose)
- Infecciosas
  - Osteomielite
  - Condríte
  - Artrite supurativa

II - Aves reprodutoras pesadas, adolescentes e adultas (matrizes de corte)

Nas matrizes de corte, as afecções são representadas por artrites causadas por alterações degenerativas da cartilagem articular. Esta lesão progressiva da cartilagem pode resultar em osteoartrose precoce, ocasionando dificuldade de locomoção e perda do desempenho reprodutivo das aves.

III - Aves selecionadas para Produção de Ovos (Poedeiras Comerciais).

As galinhas em produção apresentam dois tipos de tecido ósseo: cortical/trabecular (estrutural)

e medular. O osso estrutural mantém a integridade física do esqueleto, enquanto que o medular atua como fonte de cálcio para a formação da casca do ovo. A redução na quantidade de osso estrutural (osteoporose) é observada nas poedeiras em maior ou menor grau de severidade, levando a uma fragilidade óssea e tornando-as suscetíveis a fraturas.

A osteoporose representa atualmente um sério problema devido à sua disseminação em poedeiras modernas criadas em gaiolas. Pesquisas revelam que cerca de 30% das galinhas já apresentaram, no mínimo, uma fratura óssea durante sua vida reprodutiva.

A perda de osso estrutural tem lugar durante todo o período reprodutivo, sendo que o osso trabecular é severamente reduzido no início do período de postura, ocasião em que ocorre a formação rápida do osso medular, responsável pela formação da casca do ovo.

## Deformidades angulares das pernas

Os defeitos de angulação têm um significado amplo, abrangendo as chamadas “twisted legs” (pernas torcidas), “bowed legs” (pernas arqueadas) e “bent legs” (pernas curvas ou tortas).

Estas deformidades são caracterizadas por um desvio lateral (valgus) ou medial (varus) de uma ou das duas pernas que, embora apresentando comprimento normal, mostram-se torcidas. O tibiotarso (ou tíbia) é o osso mais comumente envolvido, podendo também ser afetados o fêmur e o metatarso. A torção do tibiotarso determina pressão direta do tendão de Aquiles (tendão do músculo gastrocnêmio) sobre os côndilos da articulação intertarsal, resultando em deformidade da mesma e conseqüente deslizamento, parcial ou total, do tendão de seus côndilos, que se mostram achatados. O deslizamento do 'tendão de Aquiles' pode também ocorrer na condrodistrofia.

As deformidades angulares constituem o defeito esquelético mais freqüente que acomete frangos de corte, surgindo logo nas primeiras semanas de idade. Normalmente a doença é progressiva, as aves jovens afetadas tornam-se aleijadas, apresentando diminuição da atividade locomotora (**Figura 2**), não conseguindo alcançar a água e o alimento. Estes frangos podem ser condenados após o abate por emaciação ou por atrofia do músculo da perna afetada. A deformidade angular do osso parece estar especificamente relacionada com o crescimento rápido que não proporciona tempo suficiente para o alinhamento e formação apropriada do osso.



**Figura 2** - Aves com 21 dias de idade. As aves da esquerda (valgus) e da direita (varus) apresentam deformidades angulares. Ao centro: ave normal (Mendonça Júnior - FMV/USP).

A causa específica dos defeitos de angulação não é totalmente conhecida, podendo ser de origem congênita ou de desenvolvimento. A patogênese pode ser devida a uma carga anormal sobre a placa de crescimento ou sobre o osso ainda imaturo, resultando em desvio axial do plano frontal. A pressão sobre a placa de crescimento do osso pode afetar a orientação dos condrócitos em coluna e, conseqüentemente, o seu crescimento direcional ou angular. A falha no desenvolvimento dos côneos do tibiotarso e alterações do tendão do músculo gastrocnêmio deve ser ainda considerada.

## Etiologia

### Nutrição

Estas deformidades ósseas têm sido descritas em pintinhos, logo após o nascimento, acreditando-se que a nutrição adequada das matrizes desempenha um papel muito importante na incidência desta doença, principalmente nos meses de verão, ocasião em que ela aumenta dramaticamente. A impossibilidade das matrizes consumirem quantidades adequadas de alimento e de água no calor extremo resulta em deficiência nutricional para o pinto. A adição de suplemento vitamínico na água de bebida pode, de alguma forma, reduzir o aparecimento da doença.

A suplementação da dieta de pintos de corte com piridoxina (vitamina B6.) reduz a incidência de deformidades nas pernas e nos dedos, provavelmente mediante a interação desta vitamina com o metabolismo do zinco ou, mais precisamente, com a formação do ácido picolínico, envolvido na absorção deste mineral no intestino. Valores da ordem de 35ppm de vitamina B6 na dieta resultam em melhor peso vivo e menor incidência de dedos curvos e pernas torcidas ([Tabela 1](#)).

**Tabela 1** - Influência da suplementação de vitamina B6 na incidência de dedos curvos e pernas torcidas em pintos com três semanas de idade.

Nível de B6 na dieta (ppm)	Peso vivo (g)	Dedos e pernas normais (%)	Incidência (%) de dedos curvos ou pernas torcidas em grau:		
			Moderado	Severo	Total
5	492	31	50	19	69
15	528	66	20	13	33
35	528	82	16	2	18
105	516	79	11	11	22

Cope *et al.* (1979).

### Manejo (Iluminação e tipo de criação)

Tem sido demonstrado que a iluminação interfere na atividade locomotora das aves refletindo, desta forma, na incidência de deformidade das pernas. Frangos de corte criados sob regime de iluminação intermitente (1 hora de luz e 3 horas no escuro) mostram maior atividade por hora, durante o período com luz, que as aves que receberam iluminação contínua por 24 horas. Esta maior atividade da ave durante o período com iluminação seria responsável por melhor estrutura do tecido ósseo e, conseqüentemente, por menor incidência destas deformidades. Estima-se que às seis semanas de idade o frango de corte permanece de 76 a 86% do tempo deitado pela dificuldade em manter-se de pé em razão de seu peso corporal anormalmente elevado.

A criação em baterias propicia maior suscetibilidade à ocorrência de pernas tortas que as aves mantidas no chão ([Tabelas 2 e 3](#)) pelo fato de proporcionar restrição do movimento.

**Tabela 2** - Efeito do regime de iluminação na incidência de pernas tortas em frangos de corte criados em baterias.

Regime de iluminação	Peso vivo (g) seis semanas	Conversão alimentar seis semanas	Pernas tortas (%) seis semanas
Continua (24 horas luz)	1611	1,86	20
Intermitente (1 hora luz e 3 horas escuro)	1640	1,85	8
Simons e Haye (1980).			

**Tabela 3** - Efeito do regime de iluminação na incidência de pernas tortas em frangos de corte criados no chão.

Regime de iluminação	Peso vivo (g) seis semanas	Conversão alimentar seis semanas	Pernas tortas (%) seis semanas
Continua (24 horas luz)	1689	1,93	5,7
Intermitente (1 hora luz e 2 horas escuro)	1718	1,92	2,7
Simons e Haye (1980).			

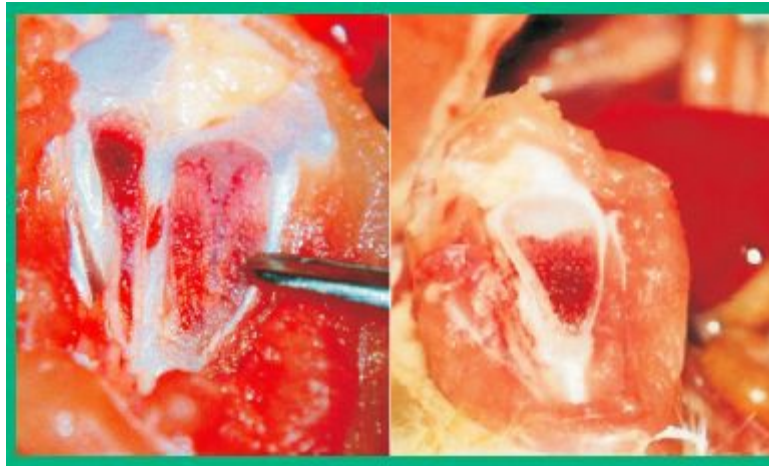
### Outras causas

Outros fatores têm sido mencionados como envolvidos no aparecimento de defeitos de angulação em frangos de corte, tais como: genótipo da ave, taxa de crescimento, elevados teores de tanino (sorgo, colza) ou de micotoxinas (*Fusarium* e *Aspergillus*) nas rações das aves e presença de fungo na cama.

### Discondroplasia tibial

Desde sua descoberta, a incidência da discondroplasia tibial em populações de frangos de corte vem aumentando acentua- damente, acompanhando o melhoramento genético das linhagens modernas no relativo ao ritmo de crescimento.

A discondroplasia é uma doença do tecido ósseo com predisposição genética que determina transtor- nos para o lado do aparelho locomotor atingindo as aves ao redor de três a cinco semanas de idade. Fatores nutricionais, de manejo e a exposição a micotoxinas estão envolvidos, porém, até o momen- to, a etiologia específica e a patogênese desta enfermidade não são totalmente conhecidas. É caracterizada pela persistência da cartilagem pré- hipertrófica que não sofreu calcificação durante o processo de crescimento do osso e que se apresenta de forma amorfa, avascular e de tamanho variável no disco epifisário, principalmente da epífise proximal do tibiotarso (**Figura 3**).



**Figura 3** - Tibiotarsos de aves com diferentes graus de TD mostrando plug cartilaginoso de aspecto caseoso no disco epifisário. (Mendonça Júnior FMVZ/USP).

Informações detalhadas sobre esta afecção podem ser vistas no [Capítulo 9: Distúrbios Metabólicos em Frangos de Corte](#).

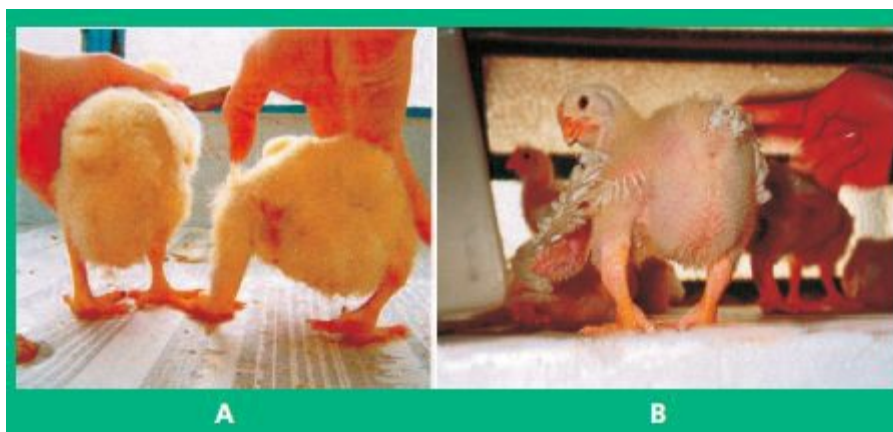
## Condrodistrofia (perose)

O termo condrodistrofia é usado clinicamente para descrever aves com a perna encurtada e engrossada. Nesta enfermidade, as articulações intertarsais estão freqüentemente aumentadas de tamanho com desenvolvimento de variados graus de deformidades angulares (**Figuras 4 e 5**) e muitas vezes associadas com o deslizamento do tendão do músculo gastrocnêmio (tendão de Aquiles) devido ao nivelamento dos cêndilos. Normalmente, as aves com perose apresentam a perna desviada lateralmente, dificultando a locomoção e, conse- quentemente, o acesso ao alimento e à água. O constante atrito da perna afetada, com o chão ou com a tela de arame das gaiolas, pode resultar em escoriações e agravamento do quadro. A perose geralmente atinge as aves mais desenvolvidas e com melhor conformação (**Figuras 4 e 5**).





**Figura 4** - Aves com 23 dias de idade. Esquerda: ave do grupo controle. Direita: ave do grupo deficiente em manganês (14ppm) apresentando articulação intertarsal aumentada de tamanho e metatarsos engrossados e curtos. (Mendonça Júnior-FMVZ/USP).



**Figura 5** - **A**- Aves com 10 dias de idade: Esquerda: grupo controle; Direita: Ave deficiente em Mn (14 ppm) mostrando deformidade tipo varus. **B**- Ave com 16 dias de idade deficiente em Mn(14 ppm) apresentando pernas arqueadas (bowed legs) do tipo varus e achatamento da articulação intertarsal esquerda.(Mendonça Júnior - FMVZ/USP).

Matrizes submetidas a dietas deficientes em manganês ou outros fatores anti-peróticos podem dar origem a pintos que apresentam pernas curtas e engrossadas, encurtamento da asa e coluna vertebral e ataxia com cabeça voltada para trás.

No que se refere à mineralização óssea, o quadro mostra-se normal, porém o crescimento longitudinal do osso é diminuído devido a alterações na placa de crescimento que apresenta-se reduzida em espessura. A zona pré-hipertrófica também está com menor tamanho e os níveis de fosfatase alcalina e de sulfato de condroitina estão diminuídos nas cartilagens epifisárias.

## Etiologia

A perose está intimamente ligada à rapidez de crescimento bem como a fatores ambientais e nutricionais.

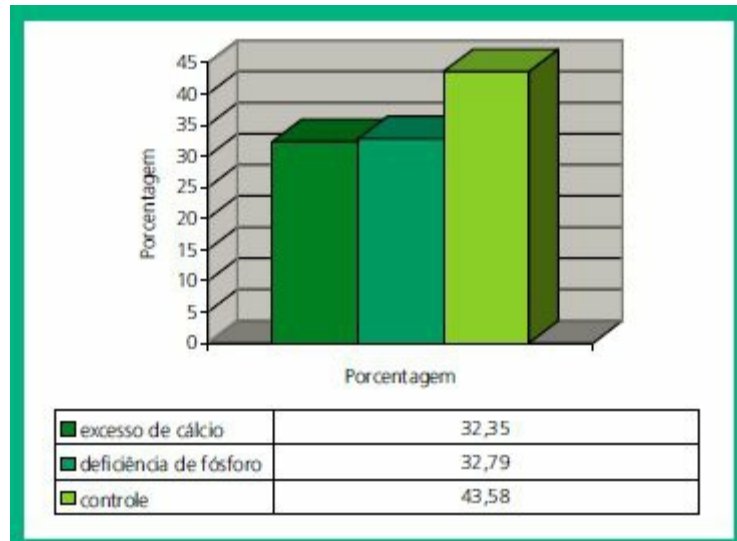
Aves criadas em gaiolas apresentam maior incidência de condro- distrofia do que aquelas que vivem sobre cama, pois o constante atrito das articulações com a tela de arame predispõe os animais à doença.

A condrodistrofia pode ser induzida nutricionalmente por deficiência de manganês, colina, niacina, ácido fólico, biotina, piridoxina e zinco.

A não ser que ocorram graves erros de formulação, principalmente no tocante a vitaminas e minerais traços, a condrodistrofia não constitui problema freqüente encontrado nas modernas linhagens de frangos de corte.

## Raquitismo

O raquitismo é uma das mais bem caracterizadas doenças do esqueleto das aves sendo causada por falha generalizada na mineralização do osso, afetando tanto a cartilagem de conjuga- ção, como o próprio osso. Os teores de cinzas ósseas chegam a percentuais muito baixos, da ordem de 32% (**Figura 6**). As lesões mais severas envolvem a parte proximal do osso tibiotarso. O início dos sintomas ocorre normalmente entre 7 e 14 dias de idade, com regressão das lesões após várias semanas, na dependência do estado nutri- cional da mãe, do potencial de crescimento do pinto e da severidade da deficiência. Os sintomas do raquitismo podem variar desde diminuição da atividade do animal até alterações ósseas. A deficiência de fósforo é mais comumente associada a fraturas e curvatura anormal do tibiotarso (**Figura 7**).



**Figura 6** - Comparação entre teores percentuais de cinzas na tíbia de aves submetidas a dietas com excesso de cálcio(5,1%), deficiência de fósforo (Pt=0,49%; Pd=0,24%) e controle (Ca=0,96%;Pt=0,73%; Pd=0,48%). Mendonça Júnior - FMVZ/USP.

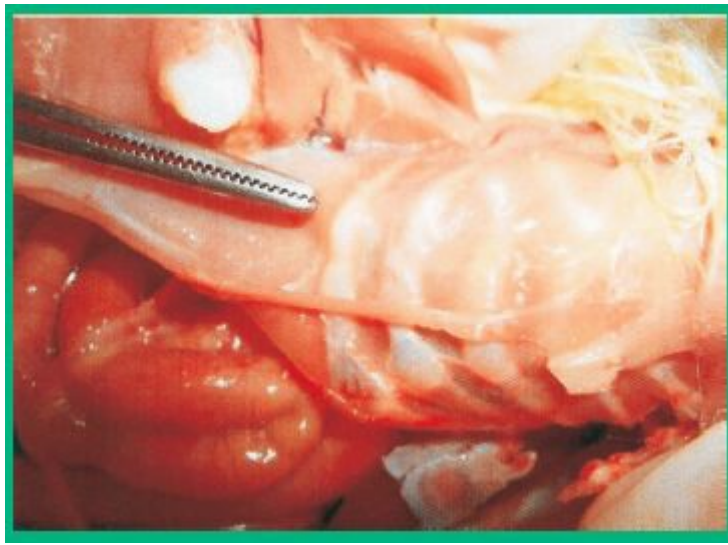


**Figura 7** - **A:** Esquerda - Tibiotarso de ave com raquitismo por deficiência de fósforo (0,5% Pt - 0,3% Pd - 0,96% Ca) mostrando curvatura anormal na parte proximal; Direita - Tibiotarso de ave normal (0,7% Pt - 0,45% Pd - 0,96% Ca) - **B:** Esquerda - Tibiotarso de ave submetida a dieta deficiente em fósforo (0,49% Pt - 0,24% Pd - 0,96% Ca) apresentando curvatura mais acentuada que o tibiotarso deficiente do grupo A; Direita - Tibiotarso de ave normal (0,7% Pt - 0,45% Pd - 0,96% Ca). (Mendonça Júnior - FMV/ZUSP).

Por meio da necropsia é possível verificar ossos moles, com textura semelhante à borracha (**Figura 8**), caixa torácica reduzida, presença do chamado rosário raquítico (articulação costocondral aumentada de volume) - **Figura 9**- e o osso esterno distorcido em forma de S. O bico pode apresentar-se mole. Mediante corte tangencial da região metafisária do tibiotarso a placa de crescimento (cartilagem metafisária) mostra-se freqüentemente espessada, semelhante à discondroplasia tibial precoce.



**Figura 8** - Ave raquítica, alimentada com dieta deficiente em cálcio e fósforo, mostrando osso flexível como borracha. (Mendonça Júnior - FMVZ/USP).



**Figura 9** - Aves com raquitismo apresentando articulações costo-condrais aumentadas de volume (rosário raquítico) - Mendonça Júnior - FMVZ/USP.

A imagem radiográfica de um osso raquítico evidencia desenvolvimento diafisário deficiente, cortical adelgada e núcleo epifisário com diminuição da densidade óssea (**Figura 10**)



**Figura 10** - Aves B, C e D apresentando núcleo epifisário com densidade óssea diminuída, desenvolvimento reduzido da diáfise com camada cortical adelgada. (Mendonça Júnior - FMVZ/USP).

**A:** Controle - Níveis normais de Ca e P. **B:** Raquitismo por deficiência de Ca (núcleo epifisário com densidade diminuída, diáfise pouco desenvolvida; cortical delgada). **C:** Raquitismo por excesso de Ca (relação Ca:P = 7:1)-(núcleo epifisário com densidade diminuída, diáfise pouco desenvolvida). **D:** Raquitismo por deficiência de P(núcleo epifisário com densidade diminuída, diáfise pouco desenvolvida; cortical delgada).

O raquitismo pode ocorrer tanto em aves de crescimento lento quanto rápido, sendo mais grave nas aves de elevados requerimentos nutricionais. Em frangos de corte submetidos a dietas marginalmente deficientes, apenas aqueles com maior rapidez de crescimento são afetados.

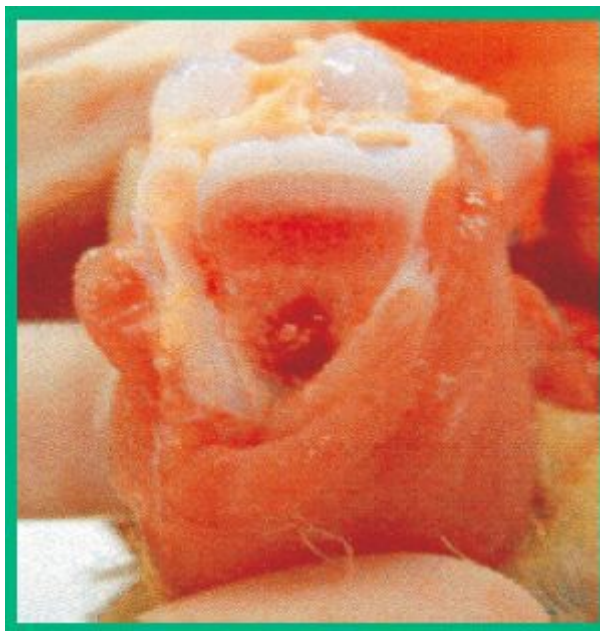
São reconhecidos dois tipos de raquitismo: o causado por deficiência de cálcio e vitamina D, e aquele decorrente da deficiência de fósforo. Tem sido evidenciado que esta última deficiência, quando ocorrida de forma bastante acentuada - como em aves alimentadas com teores de fósforo disponível da ordem de 0,20 a 0,25% - pode determinar grave ataxia locomotora (**Figura 11**),

seguida de elevado índice de mortalidade. Sabe-se que o fósforo desempenha papel importante na formação do osso. Porém, no caso de deficiência severa deste mineral, antes mesmo de serem evidenciadas as deformidades ósseas, ocorre a morte de grande número de aves pelo fato de o metabolismo energético ser seriamente afetado com o prejuízo ocasionado na transferência dos radicais fosfatos durante o processo de fosforilação envolvendo o trifosfato de adenosina (ATP) e o difosfato de adenosina (ADP).

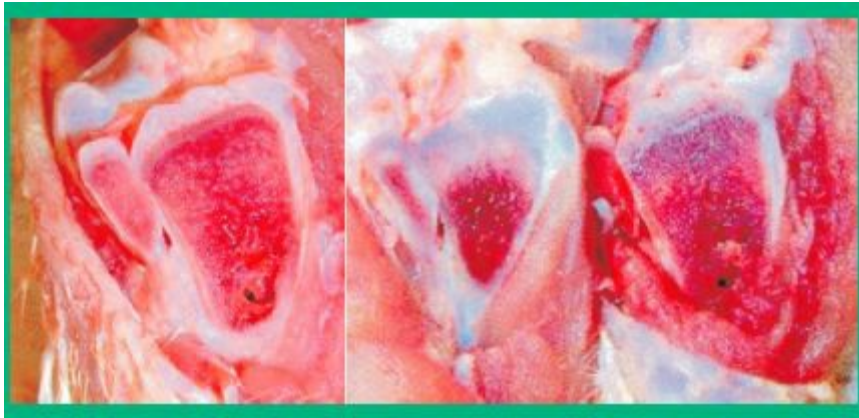


**Figura 11** - Ataxia locomotora em aves submetidas a dieta deficiente em fósforo ( $P_t = 0,49\%$ ;  $P_d = 0,24\%$ ) - Mendonça Júnior - FMVZ/USP.

O diagnóstico diferencial entre as lesões induzidas por deficiência de vitamina D e cálcio e aquelas determinadas pela falta de fósforo na dieta pode frequentemente ser feito em frangos através da avaliação cuidadosa da cartilagem de conjugação. As deficiências de vitamina D e cálcio têm como efeito primário um aumento na espessura da placa de crescimento, falha na vascularização e mineralização defeituosa (**Figura 12**). Por outro lado, uma simples deficiência de fósforo não altera a espessura normal da cartilagem de conjugação e a vascularização, porém, a metáfise mostra persistência de colunas cartilaginosas não mineralizadas (**Figura 13**). As lesões da deficiência de fósforo regridem rapidamente à medida que os frangos atingem 21 a 28 dias de idade, enquanto as decorrentes de deficiência de vitamina D são mais variáveis com a idade.



**Figura 12** - Tibiotarso de ave com raquitismo por deficiência de vitamina D3 apresentando espessamento da placa de crescimento. (Mendonça Júnior - FMVZ/USP).



**Figura 13** - Tibiotarsos da esquerda e da direita procedentes de aves com raquitismo por deficiência de fósforo (Pt=0,52% e Pd=0,26%) mostrando colunas cartilaginosa não mineralizadas logo abaixo da cartilagem de conjugação. Tibiotarso central: ave normal do grupo controle (Pt=0,73% ePd=0,48%) - Mendonça Júnior - FMVZ/USP.

Estudos de campo e experimentais têm mostrado que elevada incidência de raquitismo por deficiência de cálcio às duas semanas de idade pode resultar em discondroplasia tibial às três e quatro semanas. A presença de células discondroplásicas nas lesões do raquitismo levanta a hipótese de que as etiologias do raquitismo e da discondroplasia podem estar ligadas, sendo que o primeiro agiria como um desencadeador desta última enfermidade.

Em condições de campo, aves submetidas a rações adequadamente formuladas em cálcio, fósforo e vitamina D podem apresentar raquitismo devido à má absorção de nutrientes determinada por enterites, problemas pancreáticos, micotoxinas ou interferência com o metabolismo da vitamina D. Teores de vitamina D3 próximos a 3.200UI/kg têm se mostrado efetivos para produção de peso corporal e teor de cinzas ósseas máximos, com a mais baixa incidência de tibiodiscondroplasia e raquitismo.

## Etiologia

A etiologia do raquitismo está relacionada com:

## **I - Falha na formulação da ração**

- Suplementação inadequada de vitaminas lipossolúveis (particularmente vitamina D).
- Deficiência de cálcio e fósforo ou relação cálcio:fósforo inadequada.
- Desequilíbrio eletrolítico.

## **II - Má assimilação de origem entérica ou pancreática.**

## **III - Micotoxinas (*Fusarium*).**

## **Pododermatite**

A pododermatite é uma enfermidade que atinge o coxim plantar, principalmente de machos pesados de matrizes de corte e perus, resultando em claudicações que, dependendo da gravidade das lesões, podem impossibilitar o acasalamento reduzindo os índices de fertilidade do plantel.

Machos reprodutores de corte criados em piso de ripado (slats) podem freqüentemente apresentar a pododermatite (**Figura 14**). Menos comum no Brasil, mas muito freqüente nos Estados Unidos, esta prática de criação pode dar origem a lesões plantares de elevada gravidade (**Figura 15**) com sérios prejuízos para a reprodução das aves. Estudos realizados na Universidade da Geórgia revelaram que galos sadios retirados destes galpões de criação e transportados para gaiolas com piso de tela de arame (**Figura 16A**), não apresentaram, ou apenas evidenciaram pododermatite de grau muito leve (**Figura 17**). Por outro lado, aquelas aves mantidas em gaiolas com piso de ripas de madeira (**Figura 16B**), desenvolveram a dermatite em grau bem severo (**Figura 18**), muito próximo ao encontrado no galpão de criação. Parece que, além do piso de ripado, que determina o contato do coxim plantar da ave com as fezes retidas nestes slats, fatores de origem alimentar também podem estar envolvidos na etiologia da enfermidade: níveis inadequados de biotina, presença de oligosacárides não digestíveis, excesso de farelo de soja que, devido ao seu valor elevado de potássio, aumenta o teor de umidade das fezes, levando à irritação do coxim plantar.



**Figura 14** - Matrizes de corte criadas sobre ripado de madeira -"slats"- (Geórgia, Estados Unidos).



**Figura 15** - Galo Reprodutor apresentando pododermatite severa. (Geórgia, Estados Unidos).



**Figura 16** - **A:** Galo reprodutor criado em gaiola sobre piso de tela de arame. **B:** Galo reprodutor criado em gaiola sobre piso de ripado. (Geórgia, Estados Unidos).





**Figura 17** - Pododermatite de grau leve observada em galos mantidos em gaiolas com tela de arame. (Geórgia, Estados Unidos).



**Figura 18** - Pododermatite de grau severo observada em galos mantidos em gaiolas com ripado. (Geórgia, Estados Unidos).

## Outras enfermidades que determinam transtornos na locomoção das aves

### Tenosinovites e artrites infecciosas - ruptura do tendão gastrocnêmio

A tenosinovite, inflamação da bainha do tendão e membranas sinoviais adjacentes, é citada como responsável por transtornos locomotores de frangos de corte e reprodutores pesados. As artrites e tenosinovites podem levar, secundariamente, à ruptura de tendões, resultando em grande impacto econômico para a indústria de matrizes de corte. Os principais agentes envolvidos na sua etiologia são: *Mycoplasma synoviae*, reovirus e *Staphylococcus aureus*.

A ruptura do tendão do músculo gastrocnêmio ocorre em matrizes pesadas, de preferência nos machos, estando associada, muitas vezes, à artrite viral causada pelo reovirus. Criação de

matrizes em piso ripado, aumento rápido do peso corporal e nutrição são fatores importantes envolvidos na sua etiologia.

## Osteomielite

É uma inflamação séptica da medula óssea e do osso, sendo produzida mais freqüentemente por bactérias alojadas nas áreas metafisárias de ossos longos e vértebras. A metafise, comparada com outras áreas anatómicas do osso longo, tem um acentuado suprimento de sangue com relativa estase sangüínea, que favorece o alojamento dos microorganismos neste local. A osteomielite pode ocorrer isoladamente ou em combinação com a sinovite. As bactérias mais comuns isoladas de casos de osteomielite são estafilococos e coliformes. Ocasionalmente outras bactérias, como a *Pasteurella multocida*, podem estar envolvidas. No campo, fatores estressantes como restrição alimentar, super população, problemas nutricionais e oscilações na temperatura ambiente podem aumentar o risco de infecção. O principal sinal clínico envolvendo os ossos longos pode ser a dificuldade de locomoção na ausência de deformidades ósseas evidentes. Lesões nas vértebras estão normalmente presentes com graus variados de paresia e até paralisia. Na necropsia, a região metafisária apresenta áreas com exsudato purulento, freqüentemente atingindo a placa de crescimento. Com o evoluir da doença podem ocorrer fraturas e deformidades do esqueleto.

## Espondilolistese (Kinky Back)

A espondilolistese ocorre quando os ligamentos entre a 3ª e 4ª vértebras torácicas rompem (alguns autores mencionam entre a 6ª e a 7ª vértebras) permitindo que a extremidade anterior da 4ª vértebra se desloque ventralmente. A extremidade posterior sofre uma rotação voltando-se para cima, invadindo a medula espinal e causando fraqueza das pernas e ataxia. As aves tornam-se incapazes de alcançar alimento e água. Esta afecção é a única deformidade de esqueleto associada ao crescimento rápido que é mais freqüente nas fêmeas. As mais prováveis causas de espondilolistese estão ligadas a fatores genéticos e ao fato de a ave, ainda imatura, não possuir ligamentos suficientemente fortes de modo a propiciar sua firme adesão ao osso, e evitar o seu rompimento. O desenvolvimento da massa muscular peitoral é outro fator envolvido.

A osteocondrose é resultante da degeneração avascular da cartilagem, estando diretamente relacionada com o seu crescimento rápido. Quando a 4ª vértebra torácica é atingida, podem ocorrer também invasão da medula espinal e sintomas semelhantes à espondilolistese, sendo, contudo, mais comum nos machos.

## Necrose da cabeça do fêmur

Esta afecção não é muito freqüente em criações de frangos de corte, tendo incidência maior em perus. Geralmente está associada a discondroplasia, osteocondrose e osteomielite. Muitas vezes parece estar relacionada a enterites e má absorção.

O termo necrose da cabeça do fêmur é erroneamente aplicado para designar lesões da porção proximal deste osso. A denominação correta seria degeneração da cartilagem epifisária do fêmur. Alguns autores afirmam que esta doença teria três fases distintas: separação, fragmentação e necrose da cabeça do fêmur, quando então ocorreria contaminação do osso por microorganismos

(estafilococos e coliformes), levando a osteomielite séptica, com o aparecimento de tecido caseoso de coloração amarela ou acastanhada. Estas situações podem ser freqüentemente observadas durante a necropsia, quando se procede à abdução das pernas da ave. Neste momento, é possível evidenciar a separação da cartilagem articular do fêmur de sua placa de crescimento, ou mesmo fratura do osso com a permanência da cabeça do fêmur no interior do acetábulo.

### Paralisia dos dedos retorcidos (deficiência de Riboflavina)

Estudos realizados com o objetivo de avaliar a disponibilidade biológica das vitaminas de origem alimentar têm revelado que, com a retirada total do premix vitamínico das rações de pintos de corte, os primeiros sintomas de deficiência vitamínica observados nas aves assinalam para a carência de riboflavina (vitamina B2). Os sinais clínicos são caracterizados pela paralisia dos dedos retorcidos ou curvos (**Figura 18**). A deficiência desta vitamina determina alterações na bainha mielínica de troncos nervosos importantes. O nervo ciático é o mais freqüentemente atingido resultando, como conseqüência, em transtornos locomotores para as aves, que caminham sobre os tarsos e apresentam os dedos curvos ou retorcidos. Os músculos da perna podem mostrar-se atrofiados. O quadro é reversível nos estágios iniciais enquanto não ocorrer degeneração nervosa. Na necropsia encontra-se aumento significativo no diâmetro do nervo ciático (cerca de cinco vezes maior que o tamanho normal) conseqüente a alterações degenerativas da bainha mielínica do nervo **Figura 18**).



**Figura 19** - Aves apresentando paralisia dos dedos retorcidos decorrente de deficiência de riboflavina (B2) na dieta experimental (Mendonça Júnior - FMVZ/USP).

## Diagnóstico das enfermidades do aparelho locomotor

O diagnóstico das enfermidades do aparelho locomotor dos frangos de corte deve ser realizado levando em consideração os seguintes aspectos:

### I - Sintomatologia

Observar cuidadosamente os sintomas da doença, atentando principalmente para o aparelho locomotor das aves.

## II - Ração

Verificar se a ração utilizada na granja está corretamente formulada, contendo suplementos minerais e vitamínicos de boa procedência e em quantidades adequadas. Inspeccionar as condições de armazenagem dos ingredientes e das rações utilizadas (presença de fungos).

Proceder à análise química da ração (cálcio, fósforo, magnésio e manganês, proteína) e, quando necessário, também de micotoxinas.

## III - Soro ou plasma sanguíneo

Retirar sangue das aves doentes para determinar os níveis de cálcio e fósforo. Os valores destes minerais no soro sanguíneo podem representar dados auxiliares importantes para o diagnóstico correto da enfermidade.

## IV - Necropsia

Proceder à necropsia das aves doentes, examinando:

- **Ossos**

Verificar a consistência dos ossos de uma forma geral para, em seguida, examinar:

**Costelas** - rosário raquítico (aumento de volume das articulações costo-condrais).

**Esterno** - deformidade (forma de S).

**Bico** - consistência (mole).

### Ossos longos

**Comprimento** (curto).

**Largura** (largo, engrossado).

**Consistência** (mole, quebradiço).

**Forma** (curvo, torcido).

### Tibiotarso

**Direito:** proceder ao corte longitudinal da epífise para verificar as condições da cartilagem metafisária ou de conjugação (placa de crescimento);

**Esquerdo:** determinar o teor de cinzas ósseas.

**Normal:** acima de 40%

**Articulação intertarsal** - aumento de volume. Estado dos côndilos do tibiotarso.

**Coluna vertebral** - subluxação das vértebras torácicas

- **Outras Estruturas**

**Tendão do músculo gastrocnêmio** (de Aguiles)

Posição em relação aos côndilos. Ruptura do tendão.

**Nervo ciático** - espessamento.

**Coxim plantar** - pododermatite.

**Músculos da perna** - atrofia.

## **Bibliografia**

Atencio A, Edwards Junior HM, Pesti G. Effects of Vitamin D3 Dietary Supplementation of Broiler Breeder Hens on the Performance and Bone Abnormalities of the Progeny. **Poultry Science** 2005; 84:1058-1068.

Cope FO, Stuart M, Stake PE. Reduction in the incidence and severity of curled toes and perosis-like leg abnormalities in caged-reared broilers by high dietary levels of pyridoxine or choline. **Poultry Science** 1979; 58:1046.

Edwards Junior HM. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science** 2000; 79:1018-1023.

Gonzales E, Mendonça Junior CX. **Problemas Locomotores em Frangos de Corte**. Simpósio Brasil Sul de Avicultura; 2006; Chapecó, Santa Catarina. Brasil. p.79-94.

Julian RJ. Rapid growth problems: ascites and skeletal deformities in broilers. **Poultry Science** 1998; 77:1773-1780.

Julian RJ. **Patologias ósseas em aves**. Conferência APINCO 2005 de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2005; Campinas, São Paulo. Brasil. p.107-122.

Julian RJ. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry: a review. **The Veterinary Journal** 2005b; 169:350-369.

Leeson S, Diaz G, Summers JD. Skeletal disorders. In: Leeson S, Diaz G, Summers JD. **Poultry metabolic disorders and mycotoxins**. Guelph, CA: University Books; 1995. p.124-189.

Leeson S, Summers JD. Some nutritional implications of leg problems with poultry. **British Veterinary Journal** 1988; 144:81-91.

Mendonça Júnior CX. **Deformidades das pernas em frangos de corte**. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1990; Campinas, São Paulo. Brasil. p.29-41.

Mendonça Júnior CX. Experimentos sobre efeitos de carência e desbalanceamento de minerais e vitaminas em pintos de corte de 1 a 4 semanas de idade realizados durante as aulas práticas da Disciplina de Clínica das Doenças Nutricionais e Metabólicas ministrada pela FMVZUSP. São Paulo, SP; 1999/2007. não publicado.

Rowland GN. An overview of leg problems in poultry; 1987. não publicado

Sauver B. Dietary factors as causes of leg abnormalities in poultry: a review. **World's Poultry Science Journal** 1984; 40:195-206.

Simons PCM, Haye U. Intermittant lighting has a positive effect on twisted legs. **Misset World**

**Poultry** 1985; 34-36.

Thorp BH. Skeletal disorders in the fowl: a review. **Avian Pathology** 1994; 23:203-236.

Thorp BH. **Fisiopatologia do aparelho locomotor: etiologias infecciosas**. Conferência APINCO'99 de Ciência e Tecnologia Avícolas. Simpósio Internacional sobre Sanidade Avícola; 1999; Campinas, São Paulo. Brasil. p.1-6.

Whitehead CC. **Fisiopatologia do aparelho locomotor: etiologias não infecciosas**. Conferência APINCO'99 de Ciência e Tecnologia Avícolas. Simpósio Internacional sobre Sanidade Avícola; 1999; Campinas, São Paulo. Brasil. p.7-16.

Fisiopatologia do sistema tegumentar

<b>Introdução</b>	<b>191</b>
<b>Histologia da pele</b>	<b>191</b>
<b>Fatores predisponentes as lesões cutaneas</b>	<b>192</b>
<b>Lesões macroscópicas e diagnóstico das doenças cutâneas</b>	<b>193</b>
<b>Doenças da pele</b>	<b>193</b>
<i>Inflamação</i>	193
<i>Lesões macroscópicas e microscópicas</i>	194
<i>Diagnóstico</i>	195
<i>Prevenção e controle</i>	195
<i>Cabeça e pescoço</i>	196
<i>Hiperplasia</i>	198
<i>Lesões macroscópicas e microscópicas</i>	199
<i>Diagnóstico e prevenção</i>	200
<i>Neoplasia</i>	201
<b>Doenças das penas</b>	<b>207</b>
<i>Deficiência nutricional</i>	207

<i>Infecção viral (reticuloendoteliiose)</i>	207
<i>Agentes tóxicos</i>	207
<b>Bibliografia</b>	<b>207</b>



# Capítulo 3.3 - Fisiopatologia do sistema tegumentar

**Luiz Cesar Bello Fallavena**

## Introdução

A pele é o maior órgão do corpo, desempenhando funções importantes como a de proteger fisicamente os órgãos internos, prover isolamento térmico e servir de barreira entre o corpo e o ambiente externo, além de funcionar como órgão sensorial através de suas numerosas terminações nervosas.

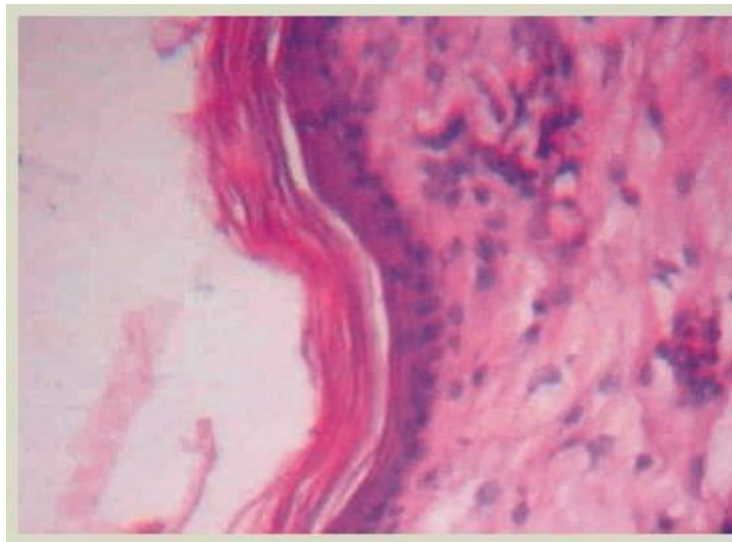
Em frangos de corte, as lesões cutâneas vêm adquirindo importância crescente, em função do processo de criação em escala industrial, em que vários fatores estão implicados. Os prejuízos econômicos causados por essas lesões não decorrem somente da condenação parcial ou total das carcaças, mas também, da redução no valor do produto final, do aumento no custo da mão de obra, da diminuição na velocidade de processamento e dos gastos com limpeza e desinfecção das instalações.

Como a pele apresenta um limitado espectro de resposta às agressões, o diagnóstico macroscópico das diversas doenças que a afetam é difícil, sendo para isso necessária, muitas vezes, a realização de exames histopatológicos, em que para o diagnóstico deve-se considerar o histórico e a distribuição anatômica das lesões. Em função disso, os serviços de inspeção agrupam a maioria das lesões de pele em uma única categoria denominada dermatose ou dermatite. Dessa forma, fica inviabilizada a obtenção de dados epidemiológicos indispensáveis para o conhecimento da prevalência e dos fatores envolvidos na causa de doenças complexas, como é o caso da celulite e do carcinoma dérmico de células escamosas (querato-acantoma), por exemplo.

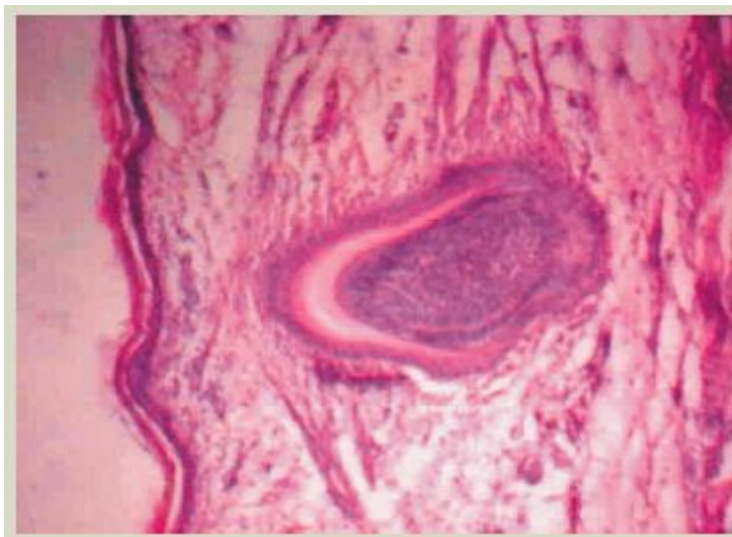
## Histologia da pele

A pele das aves apresenta a mesma estrutura básica da dos mamíferos, estando constituída por uma camada mais externa derivada do ectoderma, a epiderme (epitélio pavimentoso estratificado com queratina) e uma mais interna oriunda do mesoderma, a qual forma a derme e a hipoderme (tecido conjuntivo). A epiderme compõe-se de duas camadas: a mais interna, viva, é o estrato germinativo que repousa sobre a derme e, a segunda, inerte, é o estrato córneo queratinizado. A epiderme é completamente avascular e recebe nutrientes a partir da derme, por difusão. Nas regiões do corpo cobertas por penas, a epiderme é extremamente delgada ([Figura 1](#)), sendo que o estrato germinativo é constituído somente por duas camadas celulares, uma interna de células mais ou menos cúbicas e uma externa de células poliédricas. O processo de queratinização ocorre em uma camada superficial única de células achatadas com núcleo em degeneração. A camada córnea (mais externa) é formada por várias camadas de células achatadas queratinizadas que tendem a fragmentarem-se, dando à pele das aves o característico aspecto seco e escamoso.

Logo abaixo do estrato germinativo epidérmico encontra-se a derme, cuja espessura é variável conforme a região do corpo. O tecido conjuntivo fibroso (fibras colágenas e elastina) é o principal constituinte dessa camada, contendo vasos sanguíneos e linfáticos, tecido adiposo, nervos, músculo liso e numerosas terminações nervosas (corpúsculos de Herbst), principalmente associadas aos folículos das penas. Os folículos das penas ([Figura 2](#)) são formados por invaginações da epiderme e, diferentemente dos mamíferos, não possuem glândulas associadas. As únicas glândulas presentes na pele das aves são o uropígio e as do conduto auditivo e da região cloacal. A proteção oleosa é suprida pelo uropígio e pelas células da camada mais superficial da epiderme (querati- nócitos) - estas células produzem lipídios e queratina, sofrendo após, citólise e desidratação. Assim, apesar de haver poucas-simas glândulas na pele das aves, esta pode ser considerada, na sua totalidade, como uma glândula holócrina produtora de óleo. O uropígio é uma glândula holócrina bilobada situada no dorso da base da cauda e que apresenta internamente alvéolos longos que contêm células vacuolizadas ricas em lipídios. As penas são derivados queratinizados da epiderme, não contêm vasos sanguíneos e nem terminações nervosas. O seu crescimento ocorre de forma cíclica, havendo períodos de crescimento (anágenos) e de repouso (telógenos).



**Figura 1** - Pele de frango de corte. Epiderme delgada. H. & E. 100 X.



**Figura 2** - Pele de ave. Folículo de pena. H. & E. 100 X.

## **Fatores predisponentes as lesões cutâneas**

Os fatores que influem no aparecimento mais ou menos freqüente de lesões cutâneas nos frangos de corte podem ser classificados em genéticos, de manejo e imunodepressores. Atualmente, o desempenho dos frangos de corte é muito superior ao que apresentavam no passado, o que coincide com um aumento na taxa de condenações por lesões de pele. Os machos apresentam empenamento mais lento do que as fêmeas e são mais agressivos, sendo por isso mais afetados principalmente por aquelas lesões associadas a traumatismos. Os frangos de corte modernos movimentam-se menos, tendendo a permanecer mais tempo em contato com a cama e sendo mais suscetíveis aos arranhões provocados pelas unhas dos outros. Quando alguma outra doença associada ao crescimento rápido das aves como, por exemplo, a síndrome ascítica ou os problemas locomotores, aparece em um lote, um aumento na ocorrência de lesões cutâneas é geralmente esperado. A densidade populacional alta representa um fator importantíssimo para a ocorrência de traumatismos, por favorecer o contato das aves entre si. Também contribuem para o aumento do problema o empenamento insuficiente, em que fatores como a restrição alimentar e a temperatura ambiente estão envolvidos, assim como práticas que induzem a uma maior movimentação dos animais ou à tendência ao agrupamento dos mesmos, tais como programas de iluminação e de restrição alimentar, além da ventilação inadequada ou aquecimento insuficiente. Ainda, a qualidade da cama é importante nesse sentido, pois camas recicladas e úmidas favorecem a multiplicação e a persistência de patógenos. Com relação à nutrição, rações em que a relação energia:proteína é alta ou que apresentam deficiência de aminoácidos, tais como a metionina e a cisteína, ou de vitaminas, são consideradas prejudiciais em função do aumento na ocorrência de lesões cutâneas que acarretam.

A pele, por representar uma barreira física entre o corpo e o meio ambiente, está constantemente em contato com agentes infecciosos, e o perfeito funcionamento do sistema imunológico é muito importante. Pesquisas têm demonstrado que os frangos das linhagens atuais têm a capacidade de direcionar os nutrientes em proporção máxima para o desempenho produtivo, o que prejudica a função imune. Com efeito, estudos mais recentes mostram que, nos frangos de corte, a mobilização de células fagocitárias (heterófilos e macrófagos), assim como a competência funcional dos heterófilos é inferior à de aves leves. Assim, também, condições ambientais não ideais acarretam estresse, com conseqüente comprometimento do sistema imunológico. Além disso, a ocorrência de doenças imunodepressoras, como é o caso da doença infecciosa bursal, da anemia infecciosa das galinhas, da doença de Marek, das retrovirose do grupo leucose e sarcoma, da reticuloendoteliose e das micoplasmoses deve receber atenção especial, assim como também a presença de fatores tóxicos, como é o caso das micotoxinas.

## **Lesões macroscópicas e diagnóstico das doenças cutâneas**

As lesões macroscópicas causadas por diversas doenças cutâneas podem ser muito semelhantes entre si, geralmente traduzindo-se por aumento na espessura da pele e por alterações na coloração e na superfície da mesma. A pele lesada pode apresentar coloração amarelo-acastanhada até marrom-avermelhada e assumir um aspecto de queimadura, ou estar coberta por crostas escuras que descamam e tornam a área afetada semelhante a um favo de mel. Além disso, a superfície cutânea pode exibir erosões ou úlceras com aspecto de crateras, assim como nódulos, folicúlos



Nódulos/aumento de volume folicular	+	++	-	++	+	-	-	+++
Pontos escuros	+	++	-	++	++	-	+	-
Crostras	++	+++	-	+	++	++	++	+
Hiperemia	+++	+	+	-	++	+	++	-
Arranhões	+++	+++	+	-	+++	+	+	-

**Tabela 2** - Localização das lesões conforme as doenças cutâneas.

Localização	Celulite	Variola	Dermatite gangrenosa	DSCC	Dermatite de contato	Dermatite traumática	Dermatite micótica	Doença de Marek
Cabeça e pescoço	+	-	-	-	-	-	-	++
Abdômen	+++	-	++	-	-	-	-	+
Sobrecoxas	+++	++	-	++	-	+++		++
Coxas	+	+	++	+	-	++	++	++
Peito	+	-	-	-	+++	-	++	+
Dorso	+	+++	-	++	-	-	-	++
Asas	-	++	+++	-	-	-	-	+
Dissemin	-	+	-	++	-	-	-	+++
Patas	-	-	-	-	+++	-	-	-

## Doenças da pele

### Inflamação

#### a) Celulite

Celulite é o processo patológico caracterizado pela inflamação purulenta aguda e difusa do tecido subcutâneo, dissecando planos teciduais e podendo envolver camadas musculares. Esse tipo de inflamação pode ocorrer em qualquer parte do corpo, mas, nas aves, é mais freqüente e importante quando presente na região do abdômen e das sobrecoxas, tendo adquirido status de doença específica denominada celulite aviária ou, menos comumente, processo inflamatório ou dermatite. Quando localizada na cabeça ou no pescoço, a lesão pode ter diversas causas, e serão abordadas

posteriormente.

## Região abdominal (sobrecoxas, peito, dorso)

Em frangos de corte, a doença foi descrita pela primeira vez em 1984 na Grã-Bretanha. Atualmente, representa uma das causas mais importantes de condenação de carcaças nos matadouros de todo o mundo. No Canadá, a celulite passou a ser a principal fonte de prejuízos, com a taxa de condenação de carcaças devida à doença passando de 0,48% em 1986 para 0,586% em 1996, totalizando uma perda de aproximadamente seis milhões de dólares anuais. Nos Estados Unidos, os prejuízos podem atingir cinquenta milhões de dólares por ano.

## Etiopatogenia

A celulite aviária é considerada uma doença de etiologia multifatorial, na qual há uma interação complexa de fatores ligados ao meio ambiente, às próprias aves e à genética bacteriana. Diversas bactérias podem ser isoladas a partir de lesões de celulite, incluindo-se *Streptococcus dysgalactiae*, *Proteus spp.*, *Aeromonas spp.*, *Enterobacter agglomerans*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Citrobacter freundii*. No entanto, a *Escherichia coli* (sorotipos O2 e O78) é a mais freqüentemente isolada e aves com a doença podem apresentar outras lesões tipicamente associadas com a colibacilose, como é o caso de peri-hepatite, salpingite e artrite. Embora vários sorotipos de *E. coli* causem celulite quando inoculados no tecido subcutâneo, há variabilidade genética nas amostras de *E. coli* isoladas de criações diferentes. Sorotipos específicos causam problemas mais graves para os produtores ao se adaptarem a um determinado ambiente avícola, pois amostras isoladas de casos naturais são mais efetivas em produzir a doença experimentalmente. Em perus, a celulite também ocorre nas mesmas regiões do corpo e as lesões cutâneas são classificadas como abertas ou fechadas. Nesta espécie, a doença não parece ser causada por um agente específico, já que das lesões a *E. coli* não é isolada em cultura pura. Para que a celulite ocorra é indispensável que a pele esteja lesada e que grande quantidade de bactérias entre em contato com a lesão, de modo a invadir e a multiplicar-se no hospedeiro. Portanto, fatores que aumentam a probabilidade da ocorrência de traumatismos, principalmente os arranhões, também denominados riscos (**Figura 3**), como o acréscimo na densidade populacional e a utilização de programas de alimentação e de restrição alimentar, além de problemas de empenamento que tornem a pele mais exposta, devem ser considerados quando a doença torna-se muito prevalente em algum lote. Outros fatores que também podem estar implicados são a desinfecção insuficiente dos galpões, a qualidade da cama, dos bebedouros e dos comedouros, além das deficiências nutricionais e das condições imunodepressoras.

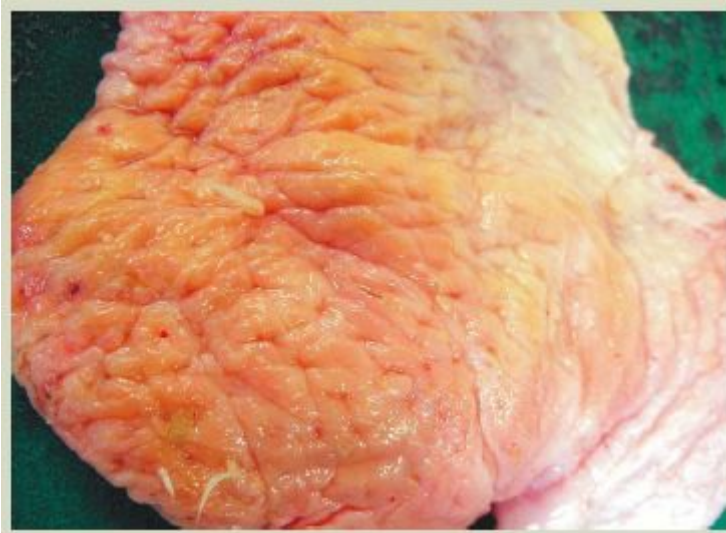


**Figura 3** - Carcaça de frango após processamento. Arranhões.

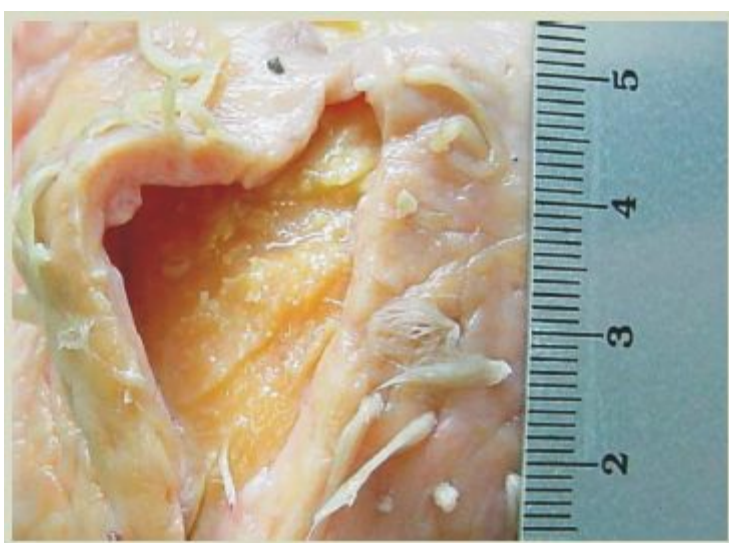
### Lesões macroscópicas e microscópicas

A região do corpo em que as lesões são mais frequentemente encontradas situa-se entre a coxa e a linha média, e a inflamação inicia-se logo após a invasão bacteriana ao tecido subcutâneo. As lesões formam-se rapidamente, em menos de 24 horas, e medem entre um e dez centímetros de diâmetro, caracterizando-se por aumento na espessura e alterações na coloração da pele, que se apresenta amarelo-brilhante, amarelo-opaca ou marrom-avermelhada (**Figura 4**). Ao corte, observa-se edema subcutâneo, hemorragias musculares e exsudato que pode envolver a coxa, peito e dorso. A presença de uma placa fibrinopurulenta é característica da doença (**Figura 5**). Em alguns casos de celulite, após o processamento da carcaça, visualiza-se uma crosta delgada e extensa na pele (**Figura 6**), ou ainda, uma alteração comumente referida como pele do tipo favo de mel ou pele do tipo waffle (**Figura 7**). Microscopicamente, há inflamação no tecido subcutâneo, muitas vezes formando massas de restos celulares necróticos e bandas de fibrina geralmente circundadas por tecido conjuntivo contendo heterófilos, linfócitos e macrófagos (**Figura 8**). Nos casos mais graves, essa cápsula de tecido conjuntivo pode ser circundada por gigantócitos e por uma camada de fibroblastos em proliferação. Em perus, as lesões classificadas como abertas apresentam reação granulomatosa crônica associada à presença de material estranho, enquanto que as fechadas exibem necrose dérmica e exsudato fibrinoso.

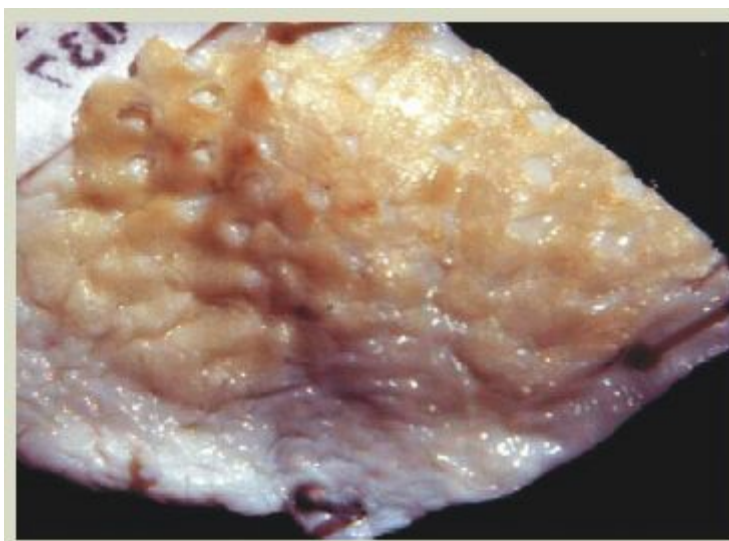




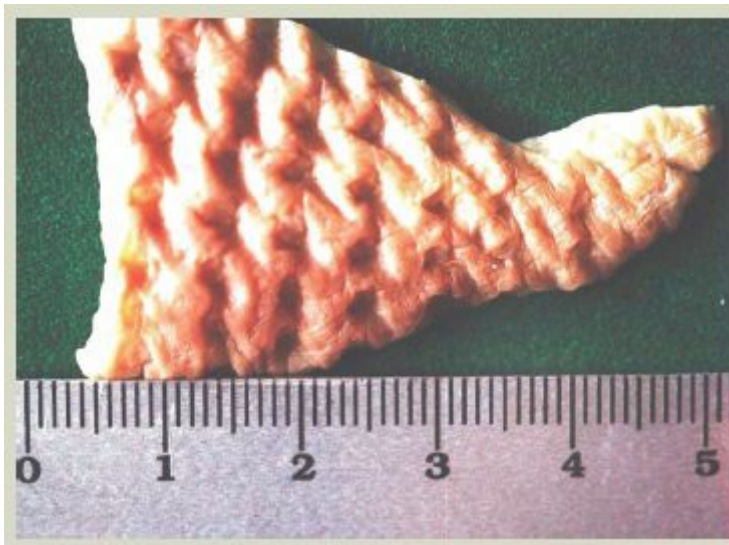
**Figura 4** - Pele de carcaça após processamento. Celulite. Aumento na espessura e coloração amarelada.



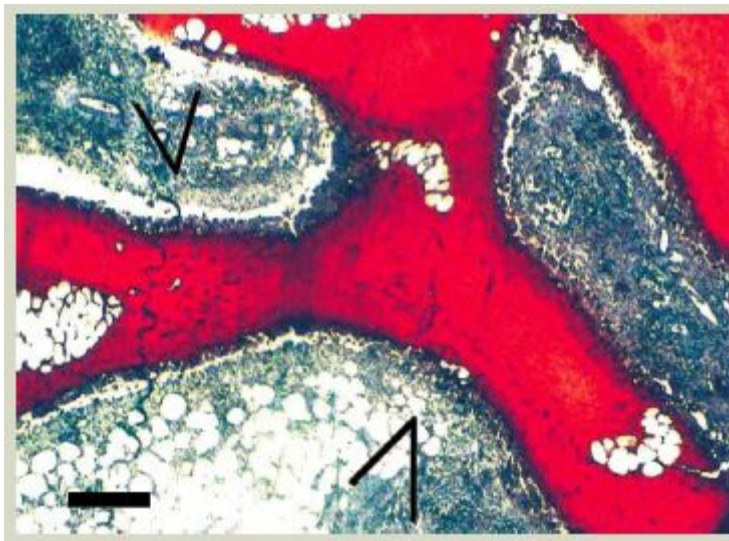
**Figura 5** - Pele de carcaça após processamento. Celulite. Placa fibrinopurulenta subcutânea.



**Figura 6** - Pele de carcaça após processamento. Celulite. Crosta delgada e amarelada.



**Figura 7** - Pele de carcaça após processamento. Celulite. Alteração tipo “favo de mel”.



**Figura 8** - Pele de frango. Celulite. Placa fibrinopurulenta subcutânea. H&E 400 X.

## Diagnóstico

Antes do abate, o diagnóstico da doença é muito difícil, pois as lesões não são facilmente observadas sem que haja a exposição do tecido subcutâneo. Entretanto, pesquisa recente aventou a possibilidade de diagnosticar-se a celulite em aves vivas, através de termografia, um método não-invasivo que detectaria um aumento de temperatura no local da lesão. Não há relatos, no entanto, sobre o uso rotineiro desta técnica na avicultura industrial. Ainda, após o abate, alterações consideradas típicas da doença não ocorrem em todos os casos. Por exemplo, a alteração na coloração da pele acontece em somente 61,04% das aves portadoras de celulite. A lesão característica é a presença de uma placa fibrinopurulenta no tecido subcutâneo, detectada após o corte da pele na região afetada. Nos casos em que as alterações não são típicas, o exame histopatológico é indicado.

## Prevenção e controle

A celulite aviária é uma doença importante no que diz respeito aos prejuízos econômicos que causa, sendo a ocorrência de traumatismos um fator indispensável para o surgimento das lesões. Dessa forma, na criação moderna de frangos de corte, deve-se atentar para a adoção de práticas

de manejo que forneçam as melhores condições ambientais possíveis, de modo a evitar-se estresse, assim como doenças imunodepressoras. Além disso, a promoção do desenvolvimento das penas e os cuidados com a qualidade da cama são importantes, assim como pode ser apropriado considerar-se uma redução na velocidade de crescimento das aves ou na densidade populacional. Como a celulite parece ocorrer nos últimos dias do período de criação, é importante que tome-se mais cuidado nessa etapa, incluindo-se o processo de apanha das aves.

## Cabeça e pescoço

Uma dermatite exsudativa envolvendo o tecido subcutâneo e associada à infecção por *Staphylococcus aureus* pode ocorrer em reprodutoras pesadas com septicemia. Há aumento na espessura da pele da cabeça e do pescoço e o exsudato apresenta aspecto sero-sanguinolento. A inflamação da barbela resultando em edema é uma lesão característica da infecção por *Pasteurella multocida* (cólera aviária), embora lesões muito semelhantes possam ser causadas pela infecção por *E. coli* e *Staphylococcus sp.* A porta de entrada é, freqüentemente, um traumatismo na área. Há exsudato caseoso circundado por tecido de granulação ou granulomas multifocais nas barbelas.

A síndrome da cabeça inchada é uma celulite aguda ou subaguda que envolve o tecido subcutâneo da cabeça, especialmente da região periorbital. A doença é considerada uma forma de colibacilose associada à infecção por pneumovírus ou pelo vírus da bronquite infecciosa em condições de ventilação deficiente e altos níveis de amônia. Observa-se hiperemia da conjuntiva, edema e exsudato purulento no tecido subcutâneo da pele da cabeça. Microscopicamente, há edema, infiltração de heterófilos e hiperplasia linfóide.

### b) Dermatite de contato

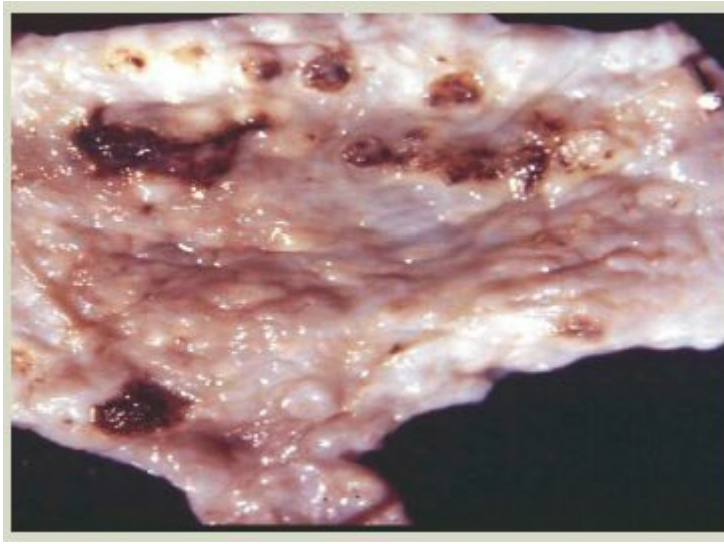
Nessa doença, as lesões ocorrem principalmente nas áreas de contato da pele com a cama, incluindo as patas. A patogenia da alteração não está bem esclarecida, mas há forte associação com umidade alta na cama, sendo que melhoramentos nas técnicas de manejo desta têm contribuído para a diminuição na incidência da doença. A gravidade das lesões é diretamente proporcional ao tempo em que a pele permanece em contato com a cama. Macroscopicamente, as alterações, geralmente presentes na pele da superfície plantar das patas (**Figura 9**), da articulação tibiotarso-tarso-metatarsiana e do peito, são predominantemente ulcerativas e caracterizam-se pela presença de erosões acastanhadas ou negras. Microscopicamente, há restos basofílicos na camada de queratina e infiltração difusa e focal de heterófilos na derme. Com o progresso das lesões notam-se, na epiderme, vacúolos preenchidos por heterófilos; as células epidérmicas degeneram e ocorre a formação de úlceras repletas de restos inflamatórios, sendo intensa a inflamação da derme. Nessa doença pode ou não ocorrer hiperplasia da epiderme.



**Figura 9** - Frango de corte. Dermatite de contato.

### c) Dermatite traumática

Um tipo de dermatite envolvendo a pele da articulação coxofemoral e da coxa foi descrito em 1978 e denominado *scabby-hip*, sendo considerada uma doença específica associada com densidade populacional alta e que podia ocorrer tanto em aves criadas em gaiola como em piso. Trabalhos de pesquisa recentes mostraram que a alteração não é uma doença específica, sendo provocada por ferimentos causados pelas unhas dos frangos, e o corte das unhas efetuado aos 25 dias de idade pode prevenir completamente a ocorrência dessas lesões quando as aves forem abatidas à idade de 45 dias. Os músculos das pernas são frequentemente afetados e o problema é agravado por infecções secundárias, resultando na condenação das aves. A ocorrência das lesões aumenta proporcionalmente com o incremento do contato das aves entre si, e a densidade populacional alta, assim como um menor espaço nos comedouros e uma maior movimentação das aves são fatores que contribuem para o aparecimento da alteração. Macroscopicamente, as lesões apresentam-se cobertas por crostas secas, sendo lineares ou circulares e localizadas na base ou entre os folículos das penas, podendo coalescer e envolver áreas maiores da pele (**Figura 10**). A pele afetada exibe, na maior parte das vezes, aumento na espessura e coloração amarelo-acastanhada. Histologicamente, as crostas consistem de massas de núcleos picnóticos e de restos celulares, nas quais podem estar presentes grumos de *cocos* Gram-positivos. O exame bacteriológico destas lesões indica o envolvimento de *Clostridium perfringens* e várias espécies de *Staphylococcus*. A epiderme está intacta ou ulcerada e heterófilos podem infiltrar a derme e o tecido subcutâneo (**Figura 11**).



**Figura 10** - Pele de carcaça após processamento. Dermatite traumática. Lesões cobertas por crostas.



**Figura 11** - Pele de frango. Dermatite traumática. Crosta superficial e infiltração de células inflamatórias na derme subjacente. H & E 100 X.

#### **d) Dermatite gangrenosa**

A alteração é causada pela infecção por *Clostridium septicum* e *Staphylococcus aureus*, os quais podem agir juntos ou separadamente. Outras bactérias podem ser isoladas de casos da doença (*Clostridium perfringens*, *E. coli*, *Proteus sp.*, *Streptococcus fecalis* e *Bacillus sp.*). A ocorrência de dermatite gangrenosa está associada a situações em que há comprometimento do sistema imuno- lógico, especialmente quando há o envolvimento dos vírus da doença infecciosa bursal, da anemia infecciosa, da reticuloendoteliose e nas adeno- viroses. Em alguns casos em que estas causas de imunodepressão estão sob controle, surtos de dermatite gangrenosa ainda podem ocorrer, e alguns acreditam que a coccidiose pode estar envolvida, já que aves vacinadas contra esta doença são ditas menos predispostas a este tipo de dermatite. As lesões incluem alterações na coloração da pele, a qual torna-se negra, púrpura ou esverdeada-escura e presença de exsudato sero-sanguinolento que pode ou não conter gás no tecido subcutâneo especialmente da extremidade das asas, coxas e abdômen. As penas caem ou são facilmente removidas. Histo- logicamente há edema e enfisema, além de basto- netes ou *cocos* no tecido subcutâneo. Congestão intensa, áreas de hemorragia e necrose do músculo esquelético subjacente podem também ocorrer.

## e) Dermatite micótica

A infecção micótica de áreas da pele cobertas por penas têm sido relatada em algumas ocasiões, sempre associada a condições higiênicas deficientes. Em frangos de corte, a infecção por *Rhodotorula glutins* causa lesões na superfície lateral das coxas e no peito, caracterizadas por aumento na espessura e coloração amarelo-acastanhada da pele. A infecção por *Rhodotorula mucilaginosa* causa lesões semelhantes às produzidas pela *Rhodotorula glutins*, localizadas na região lombar e nas coxas. Em ambos os casos, as lesões são descobertas somente na ocasião do abate. Histologicamente, observa-se ulceração focal, multifocal ou difusa da epiderme associada à inflamação aguda da derme subjacente. A *Candida albicans* pode causar dermatite e perda de penas na região lombar e nas coxas de poedeiras. Histologicamente, há necrose da epiderme e inflamação severa, além da presença de esporos e pseudo-hifas na camada de queratina e nos focos de necrose.

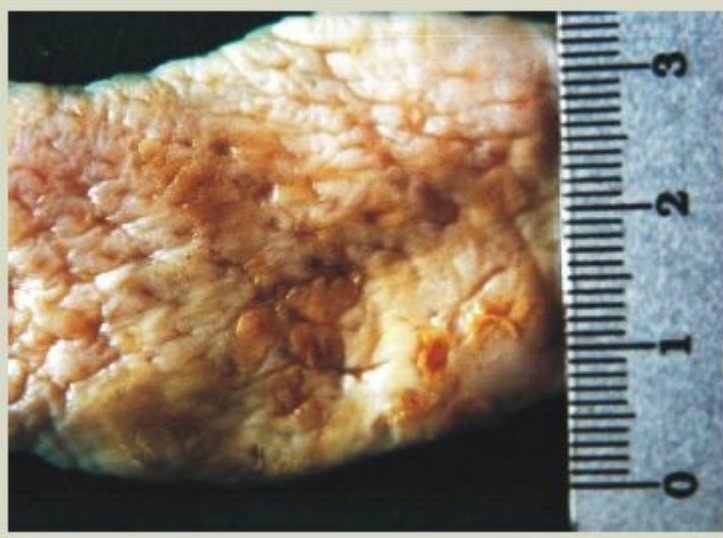
## f) Dermatites diversas

Lesões inflamatórias e necróticas na barbela podem ocorrer em associação com a infecção pelo vírus da influenza aviária. Microscopicamente, há inflamação difusa e necrótica acompanhada de edema, hemorragia e vesículas na pele. Lesões cutâneas na pele da cabeça, envolvendo a crista, a face e as pálpebras, podem ocorrer na infecção por cepas altamente virulentas do vírus da doença de Newcastle. Nesses casos, há congestão difusa e petéquias na pele, edema da face e das pálpebras, microvesículas, hemorragia, úlceras e vesículas maiores na crista. Histologicamente há degeneração hidrópica das células epidérmicas com formação de microvesículas e vasculite.

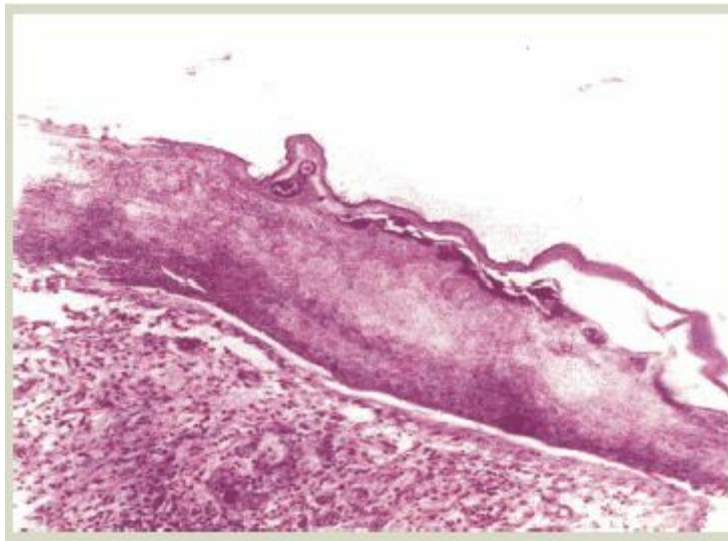
A inflamação dos folículos das penas (foliculite) é geralmente causada por *Staphylococcus aureus* e pode envolver também a pele interfolicular. Estudos mostram que a prevalência da doença é baixa em aves criadas em piso e que não há alterações na qualidade da carne dos animais afetados.

A aplicação de vacinas contendo adjuvantes oleosos pode produzir uma dermatite granulomatosa caracterizada pela presença de focos esbranquiçados e de aspecto caseoso, além de edema no tecido subcutâneo. Histologicamente, há granulomas contendo vacúolos e circundados por heterófilos, macrófagos, células gigantes multinucleadas e fibroplasia.

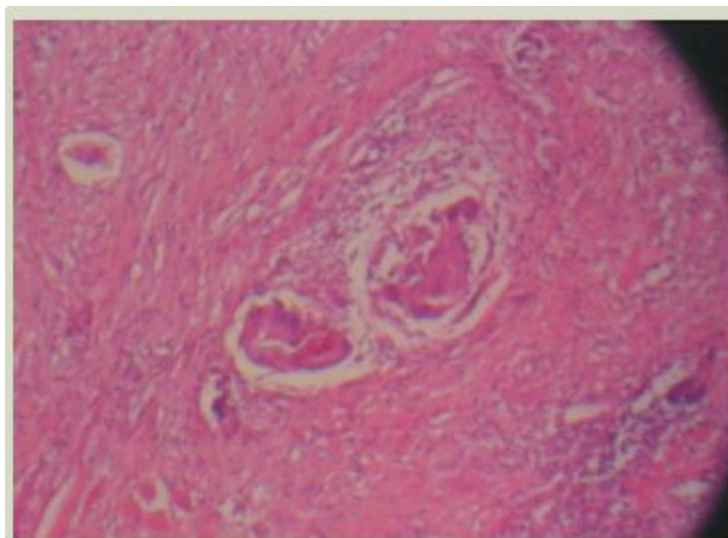
Mais recentemente, lesões freqüentemente cobertas por crostas escuras têm sido observadas na pele de frangos de corte ([Figura 12](#)). Microscopicamente, as lesões incluem a formação de crosta superficial e infiltração de células inflamatórias na derme subjacente ([Figura 13](#)), além de granulomas contendo fragmentos de material de origem vegetal ([Figura 14](#)). A ocorrência desse tipo de lesão parece estar ligada a ferimentos causados pelas aparas de madeira da cama, o que reforça a necessidade de atentar-se para a qualidade da mesma.



**Figura 12** - Pele de frango após processamento. Dermatite inespecífica. Lesões cobertas por crostas.



**Figura 13** - Pele de frango. Dermatite inespecífica. Infiltração de células inflamatórias e crosta superficial.– H & E 40 X.



**Figura 14** - Pele de frango. Dermatite granulomatosa com presença de material de origem vegetal. H & E 100 X.

## Hiperplasia

### a) Variola aviária (bouba)

Embora a infecção por poxvírus aviário geralmente esteja associada à inflamação da pele afetada, as lesões são primariamente hiperplásicas e, por esta razão, a doença será abordada na presente seção.

### Etiopatogenia

A bouba aviária é causada por vírus do gênero *Avipoxvirus*, da família *Poxviridae*, cujos hospedeiros são as aves. São os maiores vírus conhecidos capazes de infectar os animais e possuem no núcleo uma cadeia dupla de DNA composta de 254 a 300kb

- Esses vírus são bastante resistentes no meio ambiente podendo sobreviver, nas crostas secas provenientes das lesões de aves infectadas, por meses ou até anos e, dessa forma, infectar aves suscetíveis através de ferimentos cutâneos ou pela inalação do vírus presente nas penas e crostas. Outra forma de transmissão da doença envolve mosquitos e outros artrópodes hematófagos, que podem permanecer infectantes por várias semanas. A transmissão mecânica do vírus pode também ocorrer em perus, de machos para fêmeas, através da inseminação artificial. Amostras variantes de avipoxvírus vêm sendo detectadas mais recentemente, o que explicaria a ocorrência crescente de surtos de bouba aviária em aves previamente vacinadas contra a doença.

Os poxvírus possuem um gene que codifica uma proteína semelhante ao fator de crescimento epidérmico (EGF), cujo efeito é o de causar a hiperplasia epitelial característica da variola. Assim, membros da família *Poxviridae* apresentam propriedades oncogênicas, em função da produção de grandes quantidades dessa proteína homóloga ao EGF, fazendo com que as células epiteliais sofram excessivas divisões mitóticas, o que pode desregular o ciclo celular.

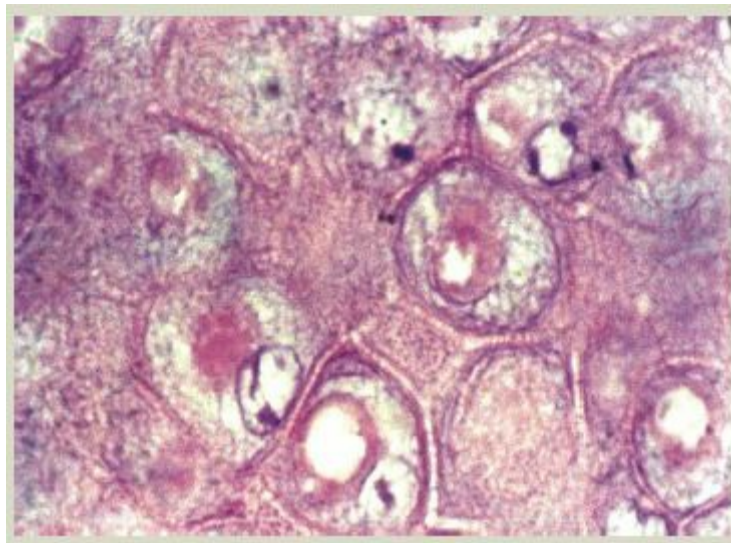
Outro fator que deve ser considerado é que, em alguns lotes de aves, a infecção pode existir em forma latente. Na década de 50, pesquisadores mostraram que a aplicação cutânea repetida de um carcinógeno (metilcolantreno) é capaz de provocar o surgimento de lesões de variola. Outros pesquisadores relataram também um caso de ativação de infecção latente por poxvírus após a ocorrência de estresse. Mais recentemente, demonstrou-se a presença de um fragmento específico do genoma de avipoxvírus em amostras de pele sem lesões, de aves vacinadas e não vacinadas contra a variola, comprovando-se a presença do vírus na ausência de lesões cutâneas da doença. Por outro lado, devido ao tamanho do seu genoma, os poxvírus podem carregar seqüências integradas de retrovírus aviários, e vacinas contra a bouba contaminadas podem causar surtos de linfomas. Na Austrália, demonstrou-se que tanto as amostras vacinais como as isoladas de casos de campo podem carregar o vírus da retículo-endoteliiose (REV), havendo evidências de que isso também deve ocorrer em outros países.

### Lesões macroscópicas e microscópicas

Classicamente, a doença caracteriza-se pelo aparecimento de lesões cutâneas proliferativas e nodulares nas áreas desprovidas de penas (forma cutânea) ou pela presença de lesões fibrino-



necróticas e proliferativas na mucosa do trato respiratório superior, boca e esôfago (forma diftérica). Na forma cutânea, a lesão característica é a hiperplasia epitelial envolvendo a epiderme e os folículos das penas, formando nódulos inicialmente discretos e que vão tornando-se maiores e de coloração amarelada; segue-se uma fase vesicular, em que as lesões coalescem e tomam uma coloração mais escura. Aproximadamente duas semanas após, as lesões apresentam uma base inflamatória e de aspecto hemorrágico, quando então se formam crostas e descamação da pele lesada. Na forma diftérica ocorre a formação de nódulos brancos e opacos nas membranas mucosas do trato respiratório superior, boca e esôfago, os quais vão aumentando de volume rapidamente e podem coalescer, formando membranas diftéricas amareladas e de aspecto caseoso, podendo atingir até o seio infra-orbitário. Microscopicamente, tanto na forma cutânea como na forma diftérica, as lesões caracterizam-se por hiperplasia e degeneração baloniforme das células epiteliais, com a presença de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos eosinofílicos, também denominados corpos de Bollinger ou corpúsculos tipo A ([Figura 15](#)).



**Figura 15** - Boubá aviária. Hiperplasia, degeneração baloniforme e corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos. H & E 1000X.

Entretanto, formas atípicas da doença ocorrem em diversas partes do mundo, o que pode dificultar bastante o diagnóstico. Em perus, por exemplo, o vírus pode causar lesões em que não se encontram os corpúsculos de inclusão característicos da doença. Galinhas clinicamente saudáveis podem abrigar o vírus em forma latente, adoecendo de varíola por ocasião da ocorrência de estresse. Ainda, em alguns casos, as lesões podem aparecer em somente um local do corpo, como nos olhos ou no trato respiratório. No Brasil, formas atípicas de varíola foram primeiramente relatadas no Rio Grande do Sul, em 1993. Nessa ocasião, vários casos da doença ocorreram no inverno, e as lesões ficavam escondidas pelas penas, principalmente no dorso, superfície lateral das coxas e nas asas, freqüentemente em associação com os folículos das penas ([Figuras 16 e 17](#)). Em 1995, ocorrência semelhante foi descrita em Santa Catarina e a doença foi associada a importantes perdas econômicas decorrentes da alta taxa de condenação das carcaças ao abate. Em ambos os casos, as lesões caracterizavam-se por erosões e crostas escuras envolvendo os folículos das penas e, freqüentemente, estavam associadas a lesões lineares na pele (arranhões).



**Figura 16** - Bouba atípica. Lesões cobertas por crostas.



**Figura 17** - Bouba atípica. Lesões de aspecto crateriforme.

## Diagnóstico e prevenção

O diagnóstico da varíola aviária, quando baseado somente no aspecto e na localização das lesões pode induzir a erro, pois outras doenças apresentam alterações semelhantes, como é o caso do carcinoma dérmico de células escamosas, da deficiência de biotina ou de ácido pantotênico e da ocorrência de traumatismos, por exemplo. O exame histopatológico é, geralmente, suficiente para diagnosticar a enfermidade, mas o isolamento viral, a microscopia eletrônica e a reação em cadeia pela polimerase são métodos que podem auxiliar em casos duvidosos. Note-se que a varíola pode ocasionar lesões somente nas regiões cobertas pelas penas e, neste caso, as alterações só serão detectadas após o processamento da carcaça ([Figuras 18 e 19](#)). A prevenção da varíola aviária é feita através da vacinação. Entretanto, deve-se mencionar que a doença pode afetar aves previamente vacinadas, o que tem ocorrido em diversas partes do mundo. Amostras “variantes” do poxvírus aviário já foram identificadas em casos de falha vacinal, sendo distintas daquelas utilizadas na preparação de vacinas e podendo causar, em alguns casos, alta mortalidade. No sul do País, a ocorrência de casos atípicos de varíola merece a realização de estudos mais detalhados, uma vez que, em muitos casos, as aves afetadas haviam sido previamente vacinadas.



**Figura 18** - Bouba atípica. Pele após processamento. Lesões cobertas por crostas.



**Figura 19** - Bouba atípica. Pele após processamento. Lesão de aspecto crateriforme.

## **b) Deficiências nutricionais**

As lesões, tanto na deficiência de biotina como de ácido pantotênico são similares, ocorrendo principalmente na pele das patas, ao redor do bico e dos olhos, mas podendo envolver também as penas e os ossos. Em aves jovens, há formação de crostas nos cantos do bico e ao redor dos olhos, além de fissuras na superfície plantar das patas que podem evoluir para protuberâncias verrugosas. Em embriões, a deficiência de ácido pantotênico causa edema e hemorragia subcutânea, além de causar retardo no crescimento e no desenvolvimento das penas. Para o diagnóstico diferencial entre a deficiência de biotina ou de ácido pantotênico é necessário o exame da ração. Já a deficiência de zinco, embora considerada incomum nas condições usuais de criação de frangos de corte, pode resultar em retardo no crescimento, assim como em empenamento insuficiente e descamação da pele, especialmente das patas. Microscopicamente há hiperqueratose e acantose na pele das patas e ao redor do bico. Estudos demonstram que a adição de complexos minerais contendo zinco reduz a ocorrência de lesões cutâneas, além de melhorar a cicatrização, aumentar a resistência da pele e incrementar o empenamento. A deficiência de metionina, também, pode ocasionar problemas de pele, uma vez que contém enxofre, elemento importantíssimo para a formação das penas. Aves com este tipo de deficiência tendem a ingerir penas para suprir a falta do aminoácido.

## Neoplasia

### a) Carcinoma dérmico de células escamosas (querato-acantoma)

Carcinoma dérmico de células escamosas (CDCE) ou querato-acantoma (QA) são termos utilizados para designar um tipo de lesão encontrado na pele de carcaças de frango de corte processadas em abatedouros. Embora este tipo de lesão seja morfológicamente semelhante ao que ocorre nos denominados carcinomas espinocelulares (ou epidermóides) de aves mais idosas ou de mamíferos, a etiologia e a patogenia são provavelmente diferentes. Os carcinomas espinocelulares são neoplasias malignas que apresentam alto potencial invasivo e podem produzir metástases, enquanto que, em frangos de corte, as lesões apresentam comportamento benigno e parecem ter origem multicêntrica. Em função disso, a denominação querato-acantoma é utilizada por alguns autores, devido à sua semelhança com a lesão que ocorre em humanos e também em cães. É possível que a diferença de comportamento entre os carcinomas espinocelulares e os querato-acantomas resida na capacidade de resposta do sistema imunológico, já que atualmente observa-se um aumento na ocorrência dos primeiros em pessoas imunodeprimidas.

### Importância econômica

A importância econômica dessa enfermidade muito provavelmente vem sendo subestimada. Os dados disponíveis na literatura são de que a neoplasia causa a condenação parcial ou total de carcaças em diversas partes do mundo, alcançando taxas que variam entre 0,01% e 0,069% e perfazendo um prejuízo que pode chegar a três milhões de dólares anuais nos Estados Unidos. Entretanto, a prevalência deve ser muito mais alta, já que no Rio Grande do Sul verificou-se que a causa mais comum de lesões ulcerativas em carcaças de frangos abatidos às idades de 31 a 33 dias é o CDCE. Como os serviços de inspeção agrupam os vários tipos de lesão cutânea, à exceção da celulite e da doença de Marek, em apenas uma categoria (dermatose), isso faz com que não seja possível avaliar-se corretamente a importância econômica desta neoplasia. Como as lesões ulcerativas múltiplas são bastante sugestivas da doença, é possível que se os serviços de inspeção passassem a enquadrar as carcaças portadoras desse tipo de alteração como casos de CDCE, isso possibilitasse a obtenção, ainda que inexata e parcial, de dados que auxiliariam na avaliação da importância dessa doença em nosso meio. Além disso, como as lesões ocorrem precocemente (aos 30 dias de idade já podem estar presentes) e regredem em um período relativamente curto (menos de 20 dias), esse fato deve ser levado em consideração ao estimar-se a prevalência da doença.

### Etiologia

A etiologia do CDCE é ainda desconhecida, embora na década de 50 vários experimentos tenham sido realizados com este objetivo. Na época, observou-se que a aplicação repetida de um carcinógeno (metilcolantreno) na pele de aves causava o aparecimento de lesões de varíola, sugerindo que este tratamento ativava uma infecção viral latente e que os poxvírus poderiam estar implicados na causa do CDCE. No mesmo período, carcinomas de células escamosas que regrediam foram produzidos na pele de aves nas quais esse carcinógeno foi utilizado repetidamente. Outras observações na mesma época indicaram que, em humanos, o surgimento de querato-acantomas é comumente precedido pela ocorrência de traumatismos, havendo também a hipótese de que estes tumores teriam etiologia viral. Na década de 80, relatou-se que a inoculação

de amostras do vírus da leucose aviária causava CDCE em frangos; este resultado, no entanto, não foi confirmado por experimentos posteriores. Mais recentemente, no Brasil, demonstrou-se que os poxvírus podem estar implicados na etiologia do CDCE, uma vez que o DNA destes vírus pode ser consistentemente detectado nas lesões da doença, enquanto que em trabalho realizado na Alemanha observou-se, por microscopia eletrônica, a presença intralesional de retrovírus nestes casos. Novos trabalhos de pesquisa devem ser realizados para esclarecer o significado de ambos os achados.

### Lesões macroscópicas e microscópicas

Macroscopicamente, as lesões que podem ser únicas ou múltiplas caracterizam-se, mais frequentemente, por úlceras em forma de crateras da lua situadas nas regiões do corpo cobertas pelas penas e adjacentes a estas, especialmente no dorso e no peito, embora o pescoço, as coxas e as sobrecoxas possam também ser afetadas (**Figuras 20, 21 e 22**). Inicialmente, aparecem como nódulos semelhantes a folículos de penas aumentados de volume e preenchidos por queratina; as úlceras são profundas, apresentam margens elevadas e centro deprimido e medem entre 0,5cm e 2,5cm de diâmetro. Metástases não ocorrem. Microscopicamente, as lesões nodulares são formadas pelo crescimento proliferativo do epitélio dos folículos das penas, por cistos originados no epitélio folicular ou, ainda, por folículos hiperplásicos que podem conter penas hiperqueratósicas (**Figura 23**). As células epiteliais foliculares proliferam e infiltram a derme adjacente (**Figura 24**), seguindo-se fibroplasia e inflamação. Os cordões e os ninhos de células epiteliais que invadem a derme produzem queratina que aparece no interior de células individuais ou na forma de pérolas córneas. Segue-se então a formação de úlceras contendo cavidade central revestida por epitélio estratificado pavimentoso e preenchida por queratina (**Figura 25**), bactérias, células epiteliais descamadas e células inflamatórias. Da mesma forma que os queratoacantomas humanos, as lesões de CDCE podem regredir espontaneamente dentro de um período médio de 20 dias, enquanto que as produzidas pela aplicação repetida de metilcolantreno o fazem dentro de 20 a 60 dias. Na regressão, a massa central das úlceras desaparece, seguindo-se a cicatrização e a reepitelização da lesão.



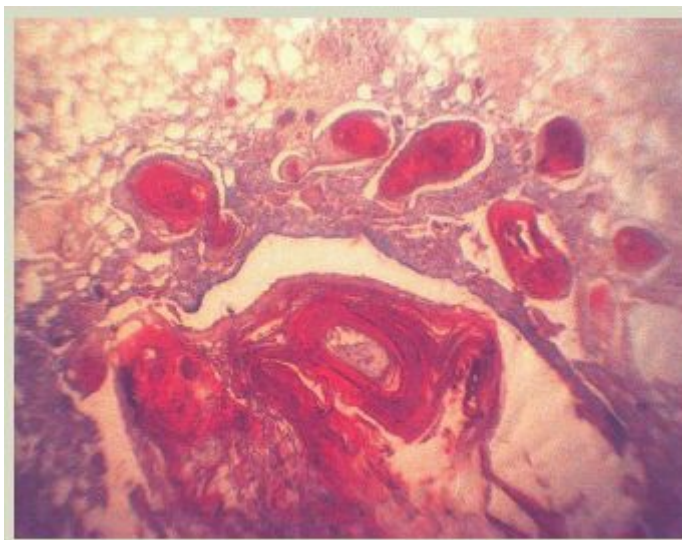
**Figura 20** - Carcinoma dérmico de células escamosas. Lesões múltiplas em carcaça.



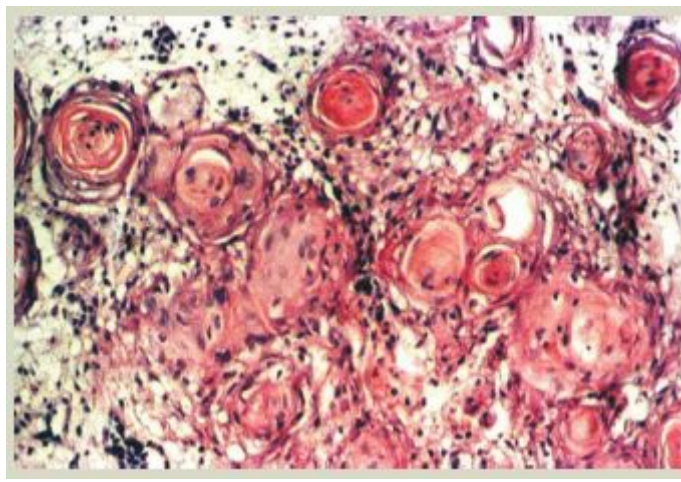
**Figura 21** - Carcinoma dérmico de células escamosas. Lesões no dorso.



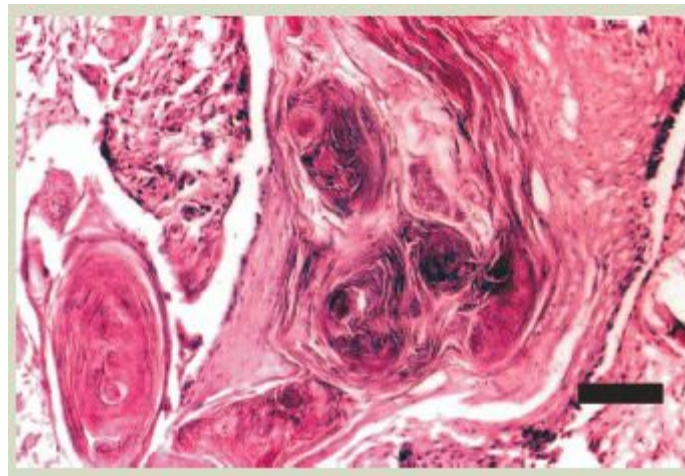
**Figura 22** - Carcinoma dérmico de células escamosas. Aspecto crateriforme das úlceras na sobrecoxa.



**Figura 23** - Carcinoma dérmico de células escamosas. Hiperqueratose folicular e formação de ninhos de queratinócitos com pérolas córneas nas adjacências. H & E 100 X.



**Figura 24** - Carcinoma dérmico de células escamosas. Ninhos de queratinócitos e pérolas córneas na derme. H & E 100 X.



**Figura 25** - Carcinoma dérmico de células escamosas. Úlcera contendo pérolas córneas. H & E 100 X.

## Diagnóstico

As lesões de CDCE somente são detectadas por ocasião do abate, após o processamento das carcaças. Entretanto, como as lesões ocorrem mais freqüentemente no dorso das aves, este fato aliado à velocidade de processamento das carcaças nos frigoríficos e ao posicionamento das mesmas na linha de abate (nória), estando levemente inclinadas para facilitar a inspeção das vísceras, torna difícil a detecção de lesões mais discretas. Além disso, a existência de mais de um local de inspeção nos frigoríficos (pré-inspeção, departamento de inspeção final, revisão e embalagem) pode ocasionar inexactidão quanto ao número de casos encontrados. Ainda, não são computados os casos de lesões cutâneas em carcaças portadoras de alterações mais importantes, como é o caso de ascite ou de caque- xia, por exemplo. As alterações macroscópicas são de dermatite ulcerativa, que também pode ocorrer em outros tipos de doenças como é o caso das dermatites de contato, traumáticas e micóticas, da deficiência de ácido pantotênico ou de biotina, da doença de Marek ulcerada e da varíola atípica. Entretanto, quando as lesões ulcerativas são múlti- plas, localizadas em várias partes da carcaça, é muito provável que representem casos de CDCE. As lesões solitárias podem resultar, além de CDCE, de dermatites inespecíficas ou granulomatosas por corpo estranho. De qualquer forma, a única maneira segura de obtenção do diagnóstico é a realização de exame histopatológico.

## Prevenção e controle

Como a etiologia do CDCE é desconhecida, métodos de prevenção e controle não podem ser indicados com segurança. Entretanto, alguns dados epidemiológicos podem ser utilizados na tentativa de diminuir-se o prejuízo causado pela doença. A utilização de galpões secos e empoeirados parece causar aumento na taxa de condenação pela doença e, assim, a completa desinfecção dos galpões pode ser uma medida apropriada para a redução no número de casos. Também, as condenações por esta neoplasia são mais frequentes no inverno. Existem diferenças entre companhias em relação às taxas de condenação pela doença. Por outro lado, a dificuldade na obtenção do diagnóstico gera falta de informações sobre a prevalência da doença e impede a avaliação do resultado de medidas que forem tomadas em relação à ocorrência da mesma em lotes de frangos. É importante acompanhar-se o abate de aves em que a condenação por lesões cutâneas é alta, visando-se à observação cuidadosa do tipo de lesão e a localização na carcaça, de modo a colherem-se amostras significativas para a obtenção do diagnóstico correto da doença.

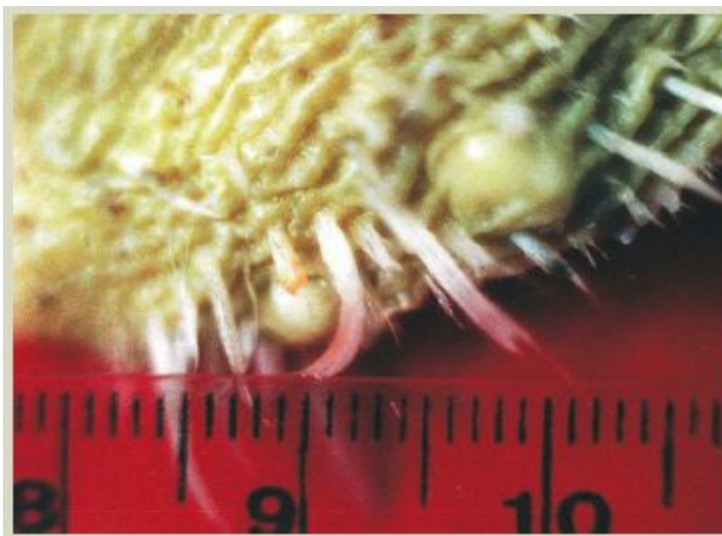
### b) Doença de Marek

Na forma cutânea da doença de Marek, as lesões ocorrem nos folículos das penas, na derme adjacente a estas e na polpa das penas, podendo coalescer. Caracterizam-se macroscopicamente por nódulos esbranquiçados especialmente evidentes após o processamento das carcaças (**Figuras 26 e 27**). Nos casos mais graves, esses nódulos apresentam-se cobertos por crostas acastanhadas ou extensamente ulcerados. Microscopicamente, as lesões cutâneas parecem ter caráter mais inflamatório do que neoplásico, podendo ser linfomas e localizadas principalmente ao redor dos folículos das penas. O acúmulo de linfócitos pequenos é geralmente muito intenso na região perifolicular, acompanhando-se freqüentemente de agregados perivasculares densos de células em proliferação que muitas vezes incluem plasmócitos e histiócitos (**Figura 28**). O número desses grupos de células aumenta posteriormente, e a transformação neoplásica causa o aparecimento de linfócitos médios e grandes, de células mono-nucleares com núcleo vesicular e nucléolo proeminente, além de células volumosas apresentando núcleo pleomórfico bastante basofílico e citoplasma basofílico vacuolizado (“células de Marek”). As células linfóides neoplásicas vão gradualmente substituindo as estruturas dérmicas e levam à atrofia dos folículos das penas e da epiderme. Nos casos pouco severos, a arquitetura folicular mantém-se preservada, mas, nos mais graves, pode ocorrer a ruptura da epiderme e a formação de úlceras.

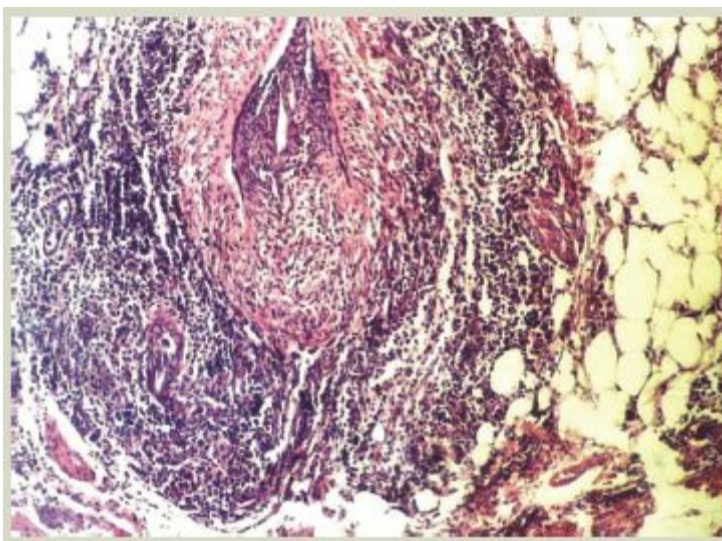




**Figura 26** - Pele de carcaça após processamento. Doença de Marek. Aumento de volume folicular.



**Figura 27** - Pele de frango. Doença de Marek. Nódulos na pele.



**Figura 28** - Doença de Marek. Infiltração perifolicular e perivascular de células mononucleares. H & E. 100 X.

### c) Neoplasias do tecido conjuntivo

Na pele dos frangos de corte, as neoplasias do tecido conjuntivo incluem fibromas e fibrossarcomas, mixomas e mixossarcomas, sarcoma histiocítico e hemangiomas. Em todos os casos de ocorrência natural, acredita-se que esses tumores são causados por vírus do grupo leucose e sarcoma. Atualmente, reconhece-se a denominada doença sistêmica proliferativa de células fusiformes dos frangos de corte, em que há a formação de lesões tumorais constituídas de células fusiformes em vários órgãos, assim como na pele. Aves com essa doença podem também apresentar hemangiomas. Em poedeiras jovens (a partir da nona semana de idade) têm ocorrido surtos de tumores subcutâneos associados à infecção por vírus do grupo leucose e sarcoma (subtipo A). Nestes casos, as lesões caracterizam-se por intenso edema e protrusões bulbosas, moles a firmes de coloração esbranquiçada ou avermelhada com diâmetro máximo de 10cm e crescimento lento localizadas principalmente na cabeça e nas asas (**Figuras 29 e 30**). As aves não apresentam outros sinais clínicos além das tumorações. Ao corte, os tumores são nitidamente separados do tecido circundante e, da superfície de corte, freqüentemente exsuda material de aspecto mucinoso (**Figura 31**). Microscopicamente, dois tipos de neoplasia são observados:

1. um não encapsulado em que há abundante matriz mucinosa e predominância de células estreladas ou fusiformes, que pode ser diagnosticado como mixoma (**Figuras 32 e 33**) e
2. outro que pode ser diagnosticado como neurofibroma, também não-encapsulado em que há numerosas células fusiformes com fibras colágenas arranjadas em fascículos ondulados ou circulares; nestes últimos, ocorre hiperplasia de corpúsculos de Herbst (**Figura 34**).

Os fibromas e os fibrossarcomas aparecem, inicialmente, como nódulos ligados à pele ou situados no tecido subcutâneo ou muscular; ocasionalmente podem afetar outros órgãos. À medida que vão aumentando de volume, causam a necrose da epiderme que os envolve, disso resultando ulceração e infecção secundária. Microscopicamente, os fibromas consistem de fibroblastos maduros entremeados com fibras colágenas e arranjados em bandas paralelas ou em forma espiralada (**Figura 35**). Os fibrossarcomas são mais agressivos e destrutivos, sendo formados por células menos diferenciadas. Nesses tumores, os fibroblastos apresentam forma irregular e são hipercromáticos, sendo que as figuras de mitose são comuns. Nas lesões de crescimento mais rápido há menor quantidade de colágeno e as áreas de necrose são mais freqüentes. Os mixossarcomas são menos firmes, apresentando numerosas células estreladas ou fusiformes imaturas circundadas por escassa matriz mucinosa levemente basofílica. Os sarcomas histiocíticos são firmes e de aspecto cárneo, consistindo de dois ou mais tipos de células. A característica mais importante desses tumores é a natureza extremamente variável dos constituintes celulares, que podem aparecer como células fusiformes organizadas em grupos ou em feixes, como células fusiformes reticulares, ou ainda, como grandes células fagocíticas. Formas de transição polimórficas podem também ocorrer em sarcomas histiocíticos. Hemangiomas são tumores benignos que podem assumir a forma de nódulos únicos ou múltiplos, medindo vários milímetros de diâmetro. A parede dos nódulos pode romper-se e produzir intensa hemorragia, manchando de sangue as penas próximas ao local. Macroscopicamente, os tumores podem ser comparados a bolhas de sangue. Histologicamente, os nódulos exibem aspecto cavernoso ou capilar: os do tipo cavernoso apresentam espaços muito dilatados contendo sangue e exibindo paredes delgadas, enquanto que os do tipo capilar caracterizam-se por massas sólidas cinzentas-avermelhadas constituídas por células endoteliais em proliferação e com fissuras irregulares.



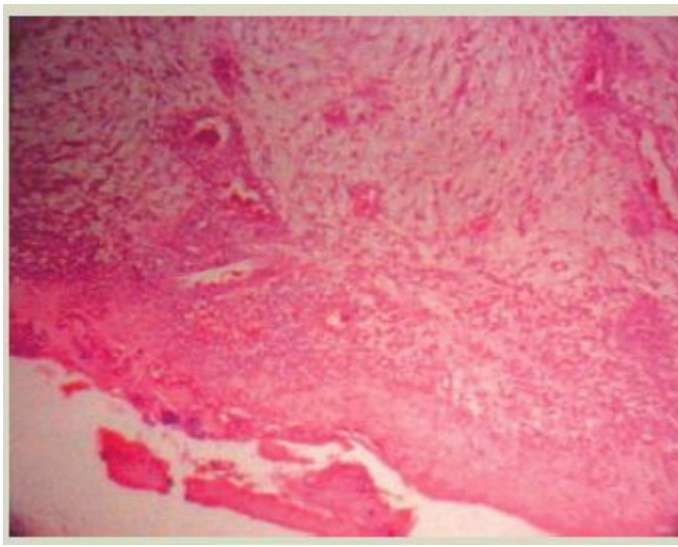
**Figura 29** - Leucose aviária. Poedeira jovem. Tumoração lateral na cabeça.



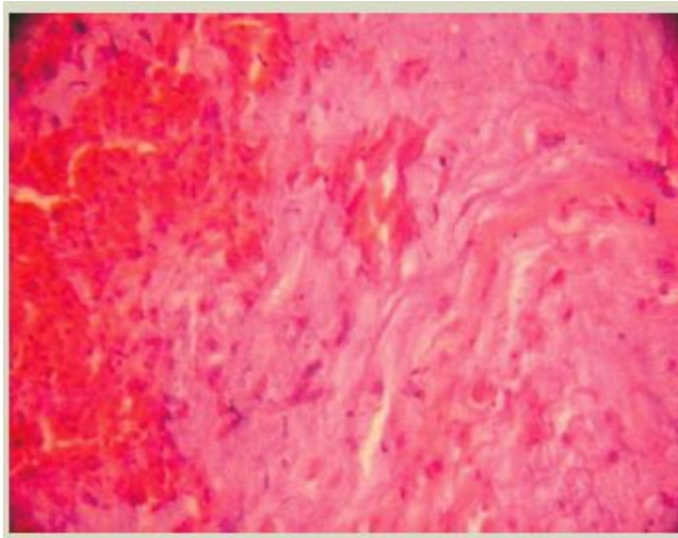
**Figura 30** - Leucose aviária. Poedeira jovem. Intenso edema e tumoração na cabeça – mixoma.



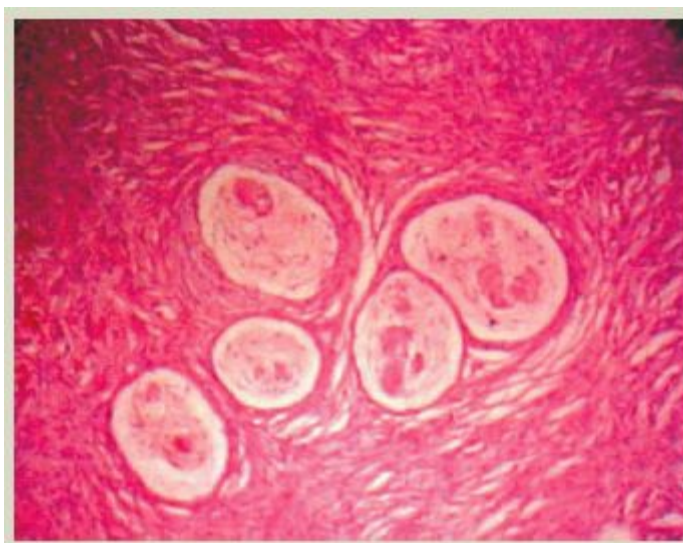
**Figura 31** - Leucose aviária. Aspecto macroscópico de tumoração subcutânea – mixoma.



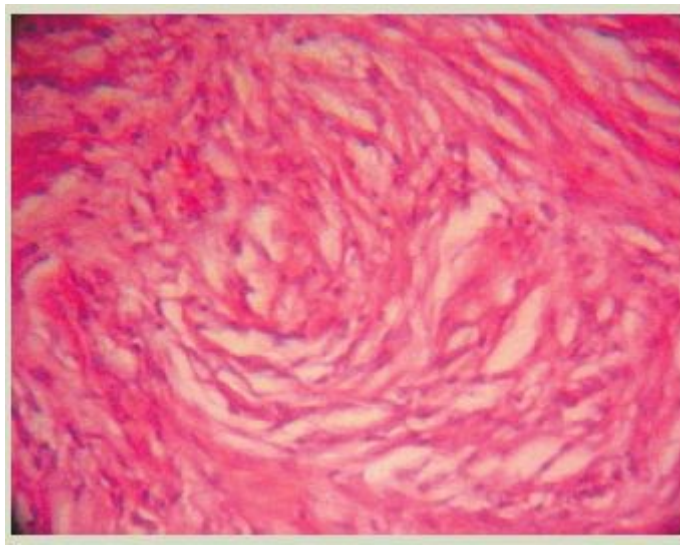
**Figura 32** - Mixoma. Erosão da epiderme e formação de crosta superficial. H & E 100 X.



**Figura 33** - Mixoma. Matriz basofílica e áreas de hemorragia. H & E 400 X.



**Figura 34** - Neurofibroma. Proliferação de corpúsculos de Herbst. H & E 400 X.



**Figura 35** - Fibroma. Fibroblastos entremeados de fibras colágenas. H & E 400 X.

## Doenças das penas

Dentre as funções das penas, a de proteção contra traumatismos cutâneos é muito importante, em se tratando de frangos de corte criados industrialmente. Assim, todos os fatores que levam a problemas de empenamento serão igualmente de importância, por levarem ao aparecimento de lesões na pele e serão abordados segundo a sua natureza nutricional, viral ou tóxica.

### Deficiência nutricional

As penas possuem alto conteúdo protéico e a sua formação é influenciada pela dieta e pela idade das aves. Em trabalho de pesquisa recente, mostrou-se que o empenamento é sensível à variação protéica e energética da dieta, assim como também à temperatura ambiente. Além disso, todas as condições que interfiram com a capacidade absorptiva intestinal estarão também indiretamente implicadas. A deficiência de diversos aminoácidos é apontada como causa de anormalidades nas penas, mas não se encontram descrições macroscópicas ou microscópicas a esse respeito. A deficiência de metionina parece ser uma causa comum de desenvolvimento insuficiente das penas, pois este aminoácido contém enxofre, componente importantíssimo das penas. Aves com esse tipo de deficiência tendem a ingerir penas para suprir a necessidade. Embriões oriundos de matrizes submetidas à dieta deficiente em riboflavina não eclodem e apresentam enrolamento das penas, devido a falhas na erupção das mesmas. As deficiências de ácido pantotênico, assim como de biotina, ácido fólico, ácido nicotínico, colina, cálcio e zinco podem também causar problemas de empenamento. Quando as penas já estão desenvolvidas e são perdidas ou quebradas, a causa mais comum está geralmente ligada ao manejo das aves. Fêmeas com alta atividade sexual podem apresentar ausência de penas especialmente no dorso e na cabeça. Os machos, da mesma forma, podem exibir falta de penas na região do peito. A presença de ectoparasitas pode também causar perda das penas, especialmente na região abdominal e pericloacal.

### Infecção viral (reticuloendoteliose)

Em frangos de corte, a reticuloendoteliose ocorre pela contaminação acidental de vacinas, especialmente a da varíola e a da doença de Marek. A doença causa, dentre outras alterações, uma anormalidade nas penas conhecida por nakanuke, que parece decorrer da necrose das células

foliculares formadoras das penas e que se traduz, macroscopicamente, pela aderência das barbas em um ponto localizado da haste das penas das asas.

## Agentes tóxicos

Muitos agentes tóxicos podem influir no crescimento das penas e assim, produzir lesões nestas, particularmente aqueles que interferem na divisão celular ou que causam necrose. A monensina sódica atrasa a maturação das penas em frangos, as micotoxinas de *Fusarium sp.* (T2 e diacetoxis-cirpenol) possuem efeito radiomimético que se traduz por necrose das células foliculares, do eixo e das barbas das penas, além de provocarem erosões na cavidade oral e ao redor do bico. A ciclofosfamida interfere no crescimento e no desenvolvimento das barbas das penas, configurando um processo morfológicamente semelhante ao do nakanuke.

## Bibliografia

Back A, Soncini RA, Ruthes O, Madureira S, Flores R. An atypical fowl pox outbreak in broilers in southern Brazil. **Avian Diseases** 1995; 39(4):902-906.

Barnes HJ, Vaillancourt JP. Presentations at the 100th NECAD Anniversary – Poultry Diseases in the year 2028? 75th [Northeastern Conference on Avian Diseases; 2003](#). [cited 2005 dez. 15]. Available from: <http://www.umaine.edu/livestock/NECAD/2003%20Abstracts/Abstract%20JBarnes.doc>.

Beard JW. **Biology of avian oncornaviruses**. In: Klein G, editor. *Viral oncology*. New York: Raven Press; 1980. p.55-87.

Beemer AM, Schneerson-Porat S, Kuttin ES. *Rhodotorula mucilaginosa* dermatitis on feathered parts of chickens: an epizootic on a poultry farm. **Avian Diseases** 1970; 14(2):234-239.

Bergmann V, Koglin K, Valentin A. Skin diseases as a reason for condemnation of broiler carcasses. **Tierarztl Prax** 1995; 23(4):374-380.

Bickford AA, Gallina AM, Winterfield RW, Bolte H. Studies of an unusual pox infection in turkeys. **Avian Diseases** 1971; 15(4):614-625.

Bielby M. Economic losses in poultry industry due to cellulitis. [cited 2001 may 13]. Available from: <http://www.agric.gov.ab.ca/livestock/poultry/psiw9704.html>.

Bilgili SF, Hess JB. Placement density influences broiler carcass grade and meat yields. **Journal of Applied Poultry Research** 1995; 4:384-389.

Boyle DB, Pye AD, Coupar BEH. Comparison of field and vaccine strains of Australian fowlpox viruses. **Archives of Virology**, New York 1997; 142(4):737-748.

Cheng HF, Eicher SD, Chen Y, Singleton P, Muir WM. Effect of genetic selection for group productivity and longevity on immunological and hematological parameters of chickens. **Poultry Science** 2001; 80:1079-086

Chuang TY, Brashear R. **Keratoacanthoma. E medicine.** [cited 2001 fev 19]. Available from: <http://emedicinecom/derm/topic206htm>.

Dahlke F, Gonzales E, Furlan RL, Gadelha A, Maiorka A, Faria Filho DE, Rosa PS. Empenamento de frangos de corte: efeito da restrição alimentar qualitativa e quantitativa e temperatura ambiente. *Acta Scientiarum: Animal Science* 2005; 27(3):341-347.

Duran-Reynals F, Bryan E. Studies on the combined effects of fowl pox virus and methylcholanthrene in chickens. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1952; 54(6):977-991.

Elfadil AA, Vaillancourt JP, Meek AH. Impact of stocking density, breed, and feathering on the prevalence of abdominal skin scratches in broiler chickens. *Avian Diseases* 1996; 40(3):546-552.

Elfadil AA, Vaillancourt JP, Meek AH, Gyles CL. A prospective study of cellulitis in broiler chickens in southern Ontario. *Avian Diseases* 1996; 40(3):667-689.

Elfadil AA, Vaillancourt JP, Meek AH, Julian RJ, Gyles CL. Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. *Avian Diseases* 1996; 40(3):690-698.

Elfadil AA, Vaillancourt JP, Meek AH. Farm management risk factors associated with cellulitis in broiler chickens in southern Ontario. *Avian Diseases* 1996; 40(3):699-706.

Ereaux LP, Schopflocher P, Fournier CJ. Keratoacanthoma. *AMA. Archives of Dermatology* 1955; 71(1):73-83.

Fadly AM, Witter RL, Smith EJ, Silva RF, Reed WM, Hoerr FJ, Putnam MR. An outbreak of lymphomas in commercial broiler breeder chickens vaccinated with a fowlpox vaccine contaminated with reticuloendotheliosis virus. *Avian Pathology* 1996; 25(1):35-47.

Fallavena LCB, Rodrigues NC, Scheufler W, Martins NRS, Braga AC, Salle CTP, Moraes HLS. Atypical fowl pox in broiler chickens in southern Brazil. *The Veterinary Record* 1993; 132(46):635.

Fallavena LCB, Rodrigues NC, Moraes HLS, Salle CTP, Silva AB, Nascimento VP, Rodrigues O. Squamous cell carcinoma-like and pox lesions in chorioallantoic membranes of chicken embryos inoculated with materials from squamous cell carcinoma and pox lesions in broiler chickens. *Avian Diseases* 1997; 41(3):469-471.

Fallavena LCB, Moraes HLS, Salle CTP, Silva AB, Silva AB, Vargas RS, Nascimento VP, Canal CW. Diagnosis of skin lesions in condemned or downgraded broiler carcasses – a microscopic and macroscopic study. *Avian Pathology* 2000; 29: 557-562.

Fallavena LCB. **Lesões cutâneas em frangos de corte: etiologia.** In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS; 2005; Santos(SP). Campinas: FACTA; 2005. v.11, p101-113.

- Fallavena LCB, Canal CW, Salle CTP, Moraes HLS, Rocha SLS, Pereira RA, Silva AB. Presence of avipoxvirus DNA in avian dermal squamous cell carcinoma (DSCC). **Avian Pathology** 2002; 31:241-246.
- Fatunmbi OO, Reed WM. Evaluation of a commercial modified live virus fowl pox vaccine for the control of “variant” fowl poxvirus infections. **Avian Diseases** 1996; 40(3):582-587.
- Fatunmbi OO, Reed WM. Vaccination against fowl pox may not result in protection. **World Poultry** 1998; 14(12):67. Feddes JJR, Emmanuel EJ, McGovern RH, Zuidhof MJ. Broiler performance, live weight variance, feed and water intake and carcass quality at different stocking densities. **Poultry Research Centre News** 1999; 8:2.
- Frankenhuis MT, Vertommen MH, Hemminga H. Influence of claw clipping, stocking density and feeding space on the incidence of scabby hips in broilers. **British Poultry Science** 1991; 32(1):227-230.
- Gerlach H. **Avipoxvirus**. In: Ritchie BW, Harrison GJ; Harrison LR editors. *Avian medicine: principles and application*. Lake Worth: Winglers Publishing; 1984. p.865-874.
- Gheno SC, Rodrigues NC, Moraes HLS, Esmeraldino AT, Fallavena LCB. Diagnóstico histopatológico das lesões cutâneas ulcerativas em frangos de corte – carcinoma dérmico de células escamosas. **Veterinária em Foco** 2004; 1(2):63-71.
- Gomis SM, Watts T, Riddell C, Potter AA, Allan BJ. Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulites and septicemia in broiler chickens. **Avian Diseases** 1997; 41(1):234-240.
- Good RE. **The importance of squamous cell carcinoma in broilers**. In: Proceedings Symposium On Avian Tumor Virus; 1991; Kennett Square (PA): The American Association of Avian Pathologists; 1991. p.56-57.
- Goodwin MA, Hafner S. **Dermal squamous cell carcinoma in broilers and multicentric histiocytosis in chickens**. In: Proceedings Symposium On Avian Tumor Virus; 1997; Kennett Square (PA): The American Association of Avian Pathologists; 1997. p.80-86.
- Greene JÁ, McCracken RM, Evans RT. A contact dermatitis of broilers – clinical and pathological findings. **Avian Pathology** 1985; 14(1):23-28
- Gross WB, Siegel PB. Why some get sick. **Journal of Applied Poultry Research** 1997; 6:434-460.
- Hafner S, Harmon GG, Rowland GN, Stewart RG, Gomis SM, Watts T, Riddell C, Potter AA, Allan BJ. Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulitis and septicemia in broiler chickens. **Avian Diseases** 1997; 41(1):234-240.
- Hafner S, Goodwin MA. **Dermal squamous cell carcinoma**. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. *Diseases of Poultry*. 10th ed. Ames: Iowa State University; 1997. p1044-1046.



Hafner S, Harmon BG, Rowland GN, Stewart RG, Glisson JR. Spontaneous regression of “dermal squamous cell carcinoma” in young chickens. **Avian Diseases** 1991; 35(2):321-327.

Hafner S, Harmon BG, Stewart RG, Rowland GN. Avian keratoacanthoma (dermal squamous cell carcinoma) in broiler chicken carcasses. **Veterinary Pathology** 1993; 30 (3):265-270.

Hafner S, Goodwin MA. **Dermal squamous cell carcinoma**. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of poultry [CD-ROM]. 11th ed. Ames: Iowa State Press; 2003. p.536-538.

Hertig C, Coupar BEH, Gould AR, Boyle DB. Field and vaccine strains of fowlpox virus carry integrated sequences from the avian retrovirus reticuloendotheliosis virus. **Virology** 1997; 235:367-376.

Hess JB, Bilgili SF, Norton RA, Zarate AJ. Manejo de la celulitis en la granja. **Avicultura Profesional** 2000; 18(7):12-13.

Hess JB, Norton RA, Downs KM, Macklin KS, Bilgili SF. Trace mineral complexes found to reduce avian cellulitis levels in broiler studies. **Trace Mineral** 2000; 6(4):1-6.

Hodges RD. **The histology of the fowl**. London: Academic Press; 1974. 648 p.

Jeffrey JS, Chin RP, Singer RS. Assessing cellulitis pathogenicity of *Escherichia coli* isolates in broiler chickens assessed by an in vivo inoculation model. **Avian Diseases** 1999; 43(4):491-496.

Kumor LW, Olkoswski AA, Gomis SM, Allan BJ. Cellulitis in broiler chickens: epidemiological trends, meat hygiene and possible human health implications. **Avian Diseases** 1998; 42(2):285-291.

Langheinrich KA. **Pathology of squamous cell carcinoma in broilers**. In: Proceedings Symposium on Avian Tumor Virus; 1991; Kennett Square (PA): The American Association of Avian Pathologists; 1991. p.89.

Macklin KS, Norton RA, McMurtrey BL. Scratches as a component in the pathogenesis of avian cellulitis in broiler chickens exposed to cellulitis origin *Escherichia coli* isolates collected from different regions of the US. **Avian Pathology** 1999; 28(6):573-578

Messier S, Quessy S, Robinson Y, Devriese LA, Homme J. Focal dermatitis and cellulitis in broiler chickens. Bacteriological and pathological findings. **Avian Diseases** 1993; 37(4):839-844.

Metz AL, Hatcher L, Newman JA, Halvorson DA. Venereal pox in breeder turkeys in Minnesota. **Avian Diseases** 1985; 29 (3):850-854.

Murphy GF, Mihm Jr MC. **A pele**. In: Ramzi S, Cotran R Kumar V, Robbins SL Robbins Patologia estrutural e funcional. 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p1056-1086.

Nyaga PN, Kaminjolo JS, Mutiga ER, Bebora LC. Occurrence of atypical fowlpox in poultry farms in Kenya. **Avian Diseases** 1979; 23 (3):745-752.

Norton RA. Avian cellulites. **World's Poultry Science Journal** 1997; 53(4):337-349.

Norton RA, Bilgili SF, McMurtrey BC. A reproducible model for the induction of avian cellulitis in broiler chickens. **Avian Diseases** 1997; 41(2):422-428.

Oderkirk A. **Broiler cellulites**. Poultry fact sheet. Nova Escócia (CA): Department of Agriculture and Fisheries. [cited 2001 may 26]. Available from: <http://www.govnsca/nsaf/library/archive/indexhtm>.

Olkowski AA, Wojnarowicz C, Chirino-Trejo M, Wurtz BM, Kumor L. The role of first line of defence mechanisms in the pathogenesis of cellulitis in broiler chickens: skin structural physiological and cellular response factors. **Journal of Veterinary Medicine Series A** 2005; 52(10):517-524.

Onderka DK, Hanson JA, McMillan KR, Allan B. *Escherichia coli* associated cellulitis in broilers: correlation with systemic infection and microscopic visceral lesions and evaluation for skin trimming. **Avian Diseases** 1997; 42(3):935-940.

Ono M, Tsukamoto K, Tanimura N, Haritani M, Kimura KM, Suzuki G, Okuda Y, Sato S. An epizootic of subcutaneous tumors associated with subgroup avian leukosis/sarcoma virus in young layer chickens. **Avian Diseases** 2004; 48(4):940-946.

Pass DA. The pathology of the avian integument: a review. **Avian Pathology** 1989; 18(1):1-72.

Peighambari SM, Julian RJ, Vaillancourt JP, Gyles CL. *Escherichia coli* cellulitis: experimental infection in broiler chickens. **Avian Diseases** 1995; 39(1):125-134.

Porter CD, Blake NW, Archard LC. Structure and activity of epidermal-growth-factor-like peptides: induction of basal cell proliferation by a poxvirus gene product? **Biochemical Society Transactions** 1998; 16(5):671-674.

Randall CJ, Meakins PA, Harris MP, Watt DJ. A new skin disease in broilers? **The Veterinary Record** 1984; 114(10):246.

Riddell C, Shettigara PT. Dermal squamous cell carcinoma in broiler chickens in Saskatchewan. **Canadian Veterinary Journal** 1980; 21:287-289.

Rigdon RH. Keratoacanthoma. **AMA. Archives of Dermatology** 1959; 79(2):139-147.

Rigdon RH, Brashear D. Experimental production of squamous-cell-carcinomas in the skin of chickens. **Cancer Research** 1954; 14(9):629-631.

Rigdon RH, Hooks MD. A consideration of the mechanism by which squamous cell-carcinomatoid tumors in the chicken spontaneously regress. **Cancer Research** 1956; 16(3):246-253.

Sievert R. **Pathomorphologische untersuchungen zur charakterisierung der hautkarzinomatose (Keratoakanthom) un jungmasthühnern** [Dissertation]. Berlin; 2002.

Singer RS, Jeffrey JS, Carpenter TE, Cooke CL, Chin RP, Atwill ER, Hirsh DC. Spatial heterogeneity of *Escherichia coli* DNA fingerprints isolated from cellulitis lesions in chickens. **Avian Diseases** 1999; 43 (4):756-762.

Singh GK, Singh NP, Garg SK. Studies on the pathogenesis of fowl pox-virus isolated from vaccinated flock Indian **Journal of Comparative Microbiology Immunology and Infectious Diseases** 1996; 17(2):96-100.

Tripathy DN. Pox. In: Purchase HG, Arp LH, Domermuth CH, Pearson JE editors. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. Kennett Square: University of Pennsylvania; 1989. p103-105.

Tripathy DN, Hanson LE, Killinger AH. Atypical fowlpox in a poultry farm in Illinois. **Avian Diseases** 1973; 18(1):84-90.

Tripathy DN, Reed WM. **Pox**. In: Sayf YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swaine DE editors. Diseases of poultry [CD-ROM]. 11th ed. Ames: Iowa State University; 2003. p.253-271.

Turnquest RU. Dermal squamous cell carcinoma in young chickens. **American Journal of Veterinary Research** 1979; 40:1628-1633.

Vaillancourt JP. Cellulitis in broiler chickens: research results. [cited 1998 mar 26]. Available from: <http://www.easynet.ca/~pic/results.html>.

Weinstock D, Correa MT, Rives DV, Wages DP. Histopathology and epidemiology of condemnations due to squamous cell carcinoma in broiler chickens in North Carolina. **Avian Diseases** 1995; 39(3):676-686.

Fisiopatologia do sistema digestório e anexos

<b>Considerações anatômicas e funcionais</b>	<b>215</b>
<i>Generalidades</i>	215
<b>Sistema de defesa do trato gastroentérico</b>	<b>216</b>
<i>Barreira física do TGE</i>	216
<i>Barreiras químicas</i>	217
<i>Sistema linfóide associado às mucosas</i>	218
<i>MALT</i>	218
<i>GALT</i>	219
<i>Movimentos do TGE</i>	221
<b>Patogênese das doenças gastrintestinais</b>	<b>223</b>
<i>Considerações gerais</i>	223
<b>Patologia</b>	<b>224</b>
<i>Inflamação</i>	225
<i>Neoplasias ou tumores</i>	225
<i>Gastroenteropatias</i>	226
<b>Patogênese</b>	<b>226</b>

<i>Gastroenterites</i>	226
<i>Gastroenteropatia</i>	227
<b>Enfermidades que acometem o TGE e órgãos anexos</b>	<b>227</b>
<i>Etiologia</i>	227
<b>Patologias conforme região anatômica do TGE</b>	<b>229</b>
<i>Orofaringe</i>	229
<i>Proventrículo</i>	230
<i>Moela</i>	230
<i>Intestino</i>	231
<i>Coccidioses</i>	232
<i>Pâncreas</i>	232
<i>Fígado</i>	233
<b>Histofisiopatologia do TGE</b>	<b>235</b>
<b>Proteção não imune e imune da mucosa TGE</b>	<b>236</b>
<i>Barreira física</i>	236
<i>Barreira química</i>	237
<i>Sistema imune associado ao TGE (GALT)</i>	237
<b>Neuroendócrino-Fisiopatologia do TGE</b>	<b>239</b>
<b>Manifestações clínicas das enfermidades que acometem o TGE</b>	<b>242</b>
<i>Comprometimento das evacuações</i>	243

<i>Diarréias de natureza metabólica</i>	244
<i>Diarréias causadas por distúrbios intestinais ou enteropatias</i>	244
<b>Mecanismo de indução das enteropatias e enterites por agentes infecciosos</b>	<b>247</b>
<i>Bactérias</i>	247
<i>Infecções virais</i>	250
<i>Protozoários</i>	250
<i>Fungos e leveduras</i>	250
<i>Verminoses</i>	250
<b>Sintomas e lesões</b>	<b>250</b>
<i>Síndrome da má absorção (SMA) e Síndrome do nanismo - Refugamento (SNR)</i>	250
<b>Diagnóstico</b>	<b>253</b>
<i>Conseqüências das gastroenteropatias e gastroenterites</i>	254
<b>Controle e prevenção</b>	<b>255</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>256</b>

# Capítulo 3.4 - Fisiopatologia do sistema digestório e anexos

**Nair Massako Katayama Ito, Claudio Issamu Miyaji, Sandra Okabayashi Miyaji, Eduardo de Albuquerque Lima**

## Considerações anatômicas e funcionais

### Generalidades

O sistema digestivo é composto pelo tubo digestivo e glândulas anexas (glândulas salivares, fígado e pâncreas) que secretam as enzimas que digerem o alimento. O tubo digestivo das aves é composto pela faringe, esôfago, papo, proventrículo, moela e intestino e tem, como função principal, retirar continuamente, de tudo que é ingerido, o suprimento de água, eletrólitos e nutrientes que são necessários para o organismo. Para que isto aconteça, o alimento passa pelo tubo digestivo e é embebido e misturado com as secreções glandulares, digerido, absorvido e transportado pelos vasos sanguíneos e linfáticos.

Os vasos sanguíneos irrigam e nutrem o trato gastrintestinal, mas no intestino, para atender as funções de secreção, absorção e transporte dos metabólitos liberados após a digestão do alimento, existe um sistema vascular complexo, que permite um fluxo sanguíneo contínuo em contracorrente. Nas extremidades das vilosidades intestinais existe um sistema de múltiplos capilares em alça, que se anastomosam e interconectam as arteríolas com as vênulas. Neste sistema em rede, os capilares sanguíneos efetuam uma intensa troca de substâncias entre as células e o sangue, porque eles são revestidos por células endoteliais que possuem poros. Devido à presença do sistema de poros, os capilares sanguíneos do intestino recebem a denominação de capilar fenestrado ou perfurado. O sistema de poros permite uma troca mais rápida e eficiente de macromoléculas entre o leito vascular e o tecido, que aquele observado durante o transporte por pinocitose visto em capilares não fenestrados. Este sistema de vasos fenestrados favorece e aumenta a absorção de nutrientes hidrossolúveis não gordurosos, como também, a translocação de elementos particulados, por exemplo, bactérias.

Os vasos sanguíneos que nutrem o sistema gastrintestinal fazem parte do sistema denominado circulação esplâncnica. Este sistema permite que todo o sangue que circula pelo trato gastroentérico, pelo baço e pelo pâncreas, junte-se na veia porta e chegue ao fígado. O sangue que chega ao fígado passa pelo sinusóide, onde as células reticuloendoteliais residentes, ou células de Küpffer, removem as bactérias e outros elementos particulados nocivos que possam ter sido absorvidos ou difundidos pela mucosa do trato gastrintestinal, impedindo que eles acessem o resto do organismo.

Os vasos linfáticos se originam no centro do ápice do vilo, na forma de um tubo delgado de fundo cego e drenam os fluidos extravasculares ou a linfa que estão no espaço intersticial. Os vasos linfáticos do intestino delgado são denominados, também, de vasos quilíferos, pois se dilatam e

transportam gotículas lipídicas quando é ministrada uma dieta rica em gordura. A linfa oriunda do intestino se parece com o plasma do sangue e coagula e, por conter lipídeos, é denominada de quilo. Os vasos linfáticos do trato gastrointestinal conduzem a linfa para o sangue venoso da veia cava adjacente ao ducto torácico, portanto não passam pelo fígado.

Por último, o controle de todas as funções gastrintestinais, principalmente em relação à motilidade e à secreção glandular, é feito pelo sistema nervoso e endócrino. O trato gastrintestinal possui um sistema nervoso próprio, denominado de sistema nervoso entérico, que é composto por aproximadamente 100 milhões de neurônios, um número quase igual àquele visto em toda a medula espinhal, que controlam as funções gastrintestinais, sob influência do sistema nervoso central (neurohipófise) e autônomo (sistema nervoso simpático e parassimpático).

## Sistema de defesa do trato gastroentérico

O trato gastrintestinal (TGE) equivale a um tubo por onde adentram a água, o alimento e uma quantidade elevada de microorganismos e substâncias ou elementos particulados presentes no meio ambiente. Estima-se que passam, pelo TGE, aproximadamente  $10^{12}$  micróbios/g, que corresponde a um número maior que a quantidade total de células de um organismo vivo. Para suportar toda esta carga de estímulos ou contatos estranhos, o TGE precisa ter mecanismos próprios de proteção para que possa executar sua principal função: digerir e absorver nutrientes suficientes para a manutenção e, ainda, promover um bom ganho de peso e conversão alimentar. É importante considerar que o TGE, além de estar exposto a um grande número de microorganismos, também sofre estímulos de substâncias químicas, tóxicas, corrosivas e laxativas presentes na ração ou na água de bebida. Para se defender desta diversidade e quantidade não mensurável de estímulos, que podem ser injuriantes, o TGE possui quatro sistemas importantes de proteção local: o primeiro é representado pela barreira física e química à luz do TGE; o segundo é representado pela flora bacteriana e seus efeitos competitivos e químicos; o terceiro pelo sistema imunológico; o quarto pelos movimentos peristálticos que expulsam os patógenos. Enquanto as barreiras físicas do TGE impedem que o epitélio exposto ao lúmen seja lesionado, em complementação a esta primeira linha de defesa, temos o sistema linfóide associado ao intestino (*Gut Associated Lymphoid Tissue* = GALT). O sistema GALT vigia a entrada dos agentes nocivos e os combate por meio de mecanismos imunes inatos (células M, *Natural Killer* = NK e inflamação) ou gera uma imunidade específica, humoral ou celular. O sistema imune intestinal, por suas ações, além de combater um agente nocivo, pode gerar um estado de anergia ou tolerância imunológica para patógenos entéricos e antígenos alimentares que, a todo momento, cruzam o tubo digestivo.

### Barreira física do TGE

Cada segmento do TGE possui um tipo especial de revestimento epitelial que se contacta com o lúmen. A região anterior do TGE é revestida, internamente, por uma camada espessa ou estratificada de células epiteliais pavimentosas ou escamosas, que tem como função primária a proteção da mucosa. Somente na língua o epitélio pavimentoso estratificado é coberto por uma camada de queratina, que confere maior resistência à abrasão que poderia ser causada pelo alimento que é ingerido. Na mucosa da boca, da faringe e do esôfago, sob o epitélio pavimentoso estratificado, são encontradas as glândulas salivares e mucosas que secretam, respectivamente, a



saliva (que contém enzimas) e o muco (que lubrifica o alimento e confere viscosidade suficiente para o seu escoamento). O muco, ao mesmo tempo, envolve as substâncias que são ingeridas, impedindo que elas causem injúria epitelial. A mucosa do papo é revestida por um epitélio escamoso pavimentoso estratificado, mas por não apresentar glândulas mucosas, a defesa local é complementada pelo pH baixo conferido pelo ácido clorídrico que é secretado pelas células oxínticas do proventrículo e pelo muco secretado nos segmentos anteriores.

A mucosa, do proventrículo até o reto, é protegida fisicamente pela presença de uma camada pavimentosa e estratificada de células epiteliais escamosas, porque o lúmen passa a ser revestido por uma camada simples ou única de células epiteliais colunares ou prismáticas, que secretam substâncias químicas ou absorvem nutrientes. Por esta razão, em todo o segmento distal do TGE, exceto na moela, a defesa local é feita pela ação química do suco gástrico e do muco, pelo GALT e por flora bacteriana que expressa seus efeitos competitivos.

A moela, que é o estômago mecânico das galinhas e de outras espécies de aves, tem a sua mucosa protegida pela membrana coilínia, que é secretada pelas glândulas tubulares ramificadas ou gástricas e se deposita na superfície mucosa, preenchendo os espaços das fossetas ou dos orifícios gástricos. As células principais ou secretoras da matriz coilínia são colunares ou achatadas e estão localizadas no fundo da fosseta gástrica. Estas células secretam um complexo polissacáride proteína, parecido com a queratina, que é denominado matriz coilínia (Hill, 1971). A matriz coilínia, juntamente com as células epiteliais envelhecidas que normalmente se descamam, é depositada na superfície mucosa e ganha forma e resistência à medida que ocorre o contato com o pH ácido do suco gástrico, formando uma membrana distensível, de cor amarela, extremamente resistente à injúria química e mecânica, que também atua como uma barreira física contra a invasão de agentes microbianos.

## Barreiras químicas

A mucosa do proventrículo e do intestino é revestida por uma camada simples ou única de células colunares ou prismáticas, que confere pouca ou nenhuma proteção local.

A mucosa do proventrículo está protegida contra uma possível autodigestão pelo seu espesso revestimento mucoso, que possui pregas proeminentes formando rugas na superfície luminal. As pregas do proventrículo apresentam células prismáticas ou colunares mucosecretoras por toda a sua superfície e nas papilas secretórias que drenam, para a luz, o ácido clorídrico sintetizado pelas células oxínticas ou parietais das glândulas proventriculares. Nas fossetas gástricas ou na base das pregas (sulci), as células epiteliais colunares são curtas e especializadas, e denominadas de células pepsinogênicas principais. Estas células secretam o pepsinogênio, que permanece inativo até alcançar a luz do proventrículo onde, então, ele é ativado pelo suco gástrico e transformado em pepsina. Este mecanismo de ativação do pepsinogênio no lúmen do proventrículo impede a destruição da glândula pela autodigestão induzida pela enzima ativada proteolítica ou pepsina. Portanto, enquanto a proteção contra a autodigestão é conferida pela distribuição anatômica das células epiteliais e secretórias e sistema de ativação da pepsina, o muco e o ácido clorídrico secretados localmente têm um papel importante na defesa contra substâncias antinutritivas encontradas na ração e os microorganismos que adentram o TGE.

O pH do proventrículo e da moela varia conforme o tipo de muco que é secretado pelas glândulas

mucosas, a mucina, que é liberada pelas células caliciformes. O ácido clorídrico que é secretado pelas células oxínticas. O bicarbonato de sódio oriundo do pâncreas e os ácidos graxos voláteis sintetizados pelas bactérias que compõem a flora nativa. O muco lubrifica e protege a mucosa, permitindo a aderência e retenção das bactérias ou de substâncias tóxicas, impedindo, desta forma, que ocorra o contato com a superfície epitelial e permitindo a ação de anticorpos ou de lisosimas ou do ácido clorídrico. O muco é um composto de glicoproteína ácida, água, eletrólitos e mucopolissacárides que possuem adesividade, densidade, baixa resistência ao deslize e que evita a digestão e o tamponamento do pH ácido por substâncias básicas. O muco ainda pode conter imunoglobulinas, que são sintetizadas pelos linfócitos B que migram para as tonsilas esofagianas, ou que estão presentes nos centros germinativos que proliferam após estímulo por substâncias antigênicas.

No intestino, a mucina que se deposita sobre a camada epitelial é secretada pelas células caliciformes que estão localizadas entre os enterócitos que revestem a vilosidade intestinal. A quantidade de células caliciformes aumenta gradativamente, do duodeno para o íleo. A mucina pode ser de três tipos: formadora de gel, solúvel ou ligada a membranas. A mucina que forma um gel viscoelástico, rico em carboidrato, é de tamanho grande. A mucina também pode ser neutra ou ácida, sulfatada ou não sulfatada, e de outros tipos que podem variar conforme o tipo de célula caliciforme que aparece em cada região e período de desenvolvimento do intestino. O tipo de mucina varia conforme a composição da dieta, condições de alimentação e a atividade da flora bacteriana. Por exemplo, durante a embriogênese, só é sintetizada a mucina ácida, e após o nascimento até sete dias de idade, são secretadas igual quantidade de mucina ácida e básica. Após o nascimento, ocorre a ação de genes específicos nas células caliciformes para diferentes tipos de mucinas, sob a modulação de citocinas (IL4), de produtos metabólicos bacterianos, de fatores de crescimento (TGF $\alpha$ ), de microorganismos patogênicos e da flora nativa e, ainda, sob influência de fatores que comprometem a maturação das células precursoras para células secretórias maduras ou de fatores que interferem com o processo de glicolização e síntese protéica, por exemplo, jejum ou subnutrição. A dinâmica da secreção de mucina pode ser modificada por suplementos dietéticos, por exemplo, enzimas, promotores de crescimento, probióticos e prébióticos. O polo apical dos enterócitos é revestido por uma camada espessa de muco e uma camada de polissacáride denominada de glicocálice, que confere proteção mecânica e química da membrana citoplasmática exposta na luz do intestino contra a autodigestão enzimática e a ação de substâncias nocivas e de microorganismos que estão no lúmen e, ainda, impede a translocação de bactérias e de toxinas, porque promove a aderência de bactérias, propiciando o estabelecimento de exclusão competitiva.

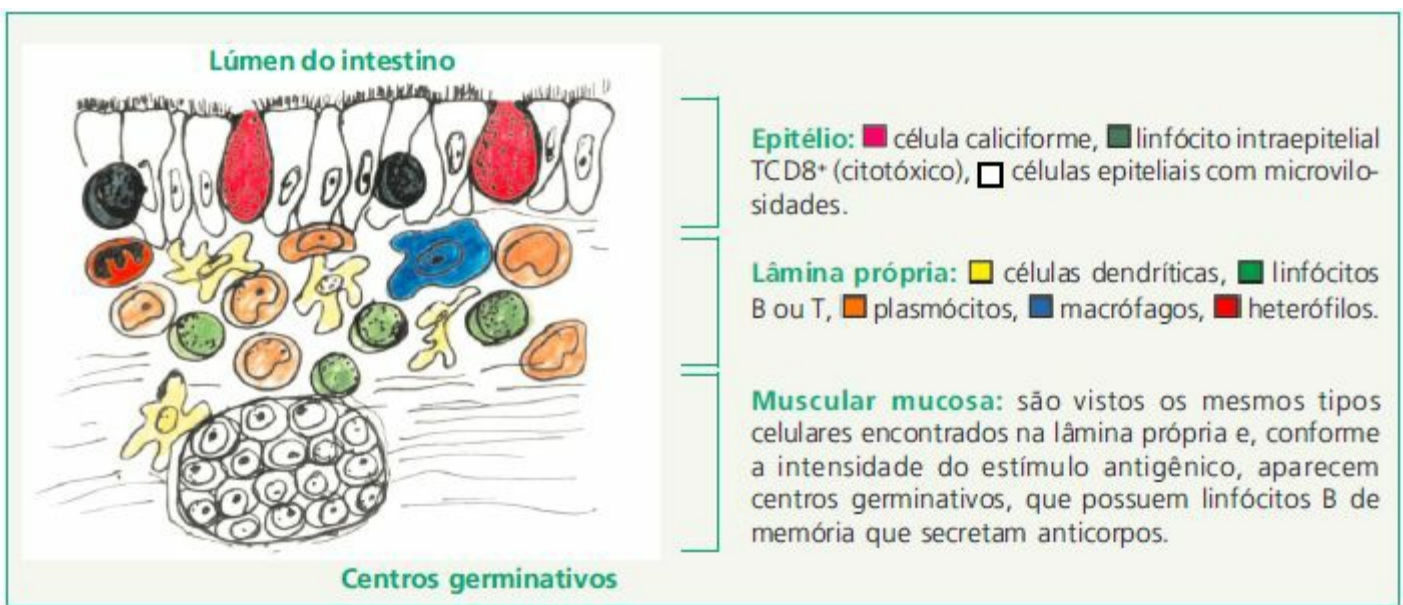
### Sistema linfóide associado às mucosas

Nas aves, para compensar a ausência dos linfonodos, que nos mamíferos são responsáveis pela drenagem da linfa, e para evitar que microorganismos bacterianos e virais invadam a submucosa e cheguem aos vasos linfáticos e sanguíneos, existe um sistema linfóide periférico integrado ao TGE. Assim, na lâmina própria ou na submucosa do TGE, da faringe até a cloaca, podem aparecer, em resposta a um estímulo antigênico local, estruturas encapsuladas denominadas de focos linfóides ectópicos, que apresentam poucos a muitos linfócitos. No proventrículo e no intestino, em função das barreiras físicas e químicas não serem tão eficientes e suficientes para evitar que microorganismos ou substâncias tóxicas, passiva ou ativamente invadam a lâmina

própria e a muscular mucosa, existe o sistema linfocítico periférico, representado pelo tecido linfóide associado às mucosas (MALT = Mucosae Associated Lymphoid Tissue) e ao intestino (GALT = Gut Associated Lymphoid Tissue), responsáveis pela coleta e processamento dos antígenos.

## MALT

O tecido linfóide associado às mucosas, ou MALT, é menos organizado do que o tecido linfóide visto nas placas de Peyer (Janeway *et al.*, 2002), e é constituído por agregados linfóides dispersos, não encapsulados, localizados na submucosa do epitélio gastrointestinal, e que podem estar associados com centros germinativos (Roit *et al.*, 1983) (**Figura 1**). Segundo Fagerland, Arp (1993), no MALT, de permeio às células epiteliais, são encontradas as células do tipo M, especializadas em capturar os antígenos que estão no lúmen, e na lâmina própria, linfócitos com IgM<sup>+</sup> ou IgA<sup>+</sup> de superfície, plasmócitos e células TCD4<sup>+</sup> e TCR2 e, no epitélio, linfócitos TCD8<sup>+</sup> e TCR1 (Glick, 2000). Os linfócitos T são de meia-vida longa ou curta e possivelmente são oriundos diretamente da medula óssea.



**Figura 1** - Organização do MALT sob o ponto de vista microscópico no epitélio do proventrículo e do intestino.

De permeio aos enterócitos absorptivos do intestino podem ser observadas células T CD8<sup>+</sup> ou citotóxicas e, na lâmina própria, agregados difusos de células linfóides T de memória e plasmócitos que secretam IgA. A IgA, secretada pelo plasmócito, torna-se funcionalmente ativa somente quando ocorre a junção dos monômeros de imunoglobulina A pela cadeia J, secretada pelas células caliciformes, formando um dímero, que impede a aderência de bactérias, neutraliza toxinas e inibe a infectividade dos vírus.

Na lâmina própria da mucosa do proventrículo e do intestino ainda são encontradas células apresentadoras de antígeno ou células dendríticas e os macrófagos residentes e, em caso de infecção bacteriana, as bactérias. Estímulos continuados e persistentes ou a reexposição ao mesmo antígeno induzem o aparecimento de centros germinativos.

A distribuição, a quantidade e a composição celular do MALT variam conforme idade e os

centros germinativos só aparecem em aves com mais de duas semanas de idade. Até quatro semanas predominam aglomerados difusos de células linfóides (Fagerland, Arp, 1993), ou seja, uma resposta de linfócitos T (imunidade celular). A distribuição e a quantidade de MALT no intestino delgado e no ceco é extremamente influenciada pela flora bacteriana normal e por infecções por coccídias. O estímulo excessivo para proliferação do MALT reduz a capacidade absorptiva do intestino. O MALT que se desenvolve no intestino nem sempre é macroscopicamente visível, mas no duodeno e no jejuno, às vezes, podem ser vistas, pela serosa ou pela mucosa, áreas hiperêmicas arredondadas de 1 a 5mm de diâmetro que se parecem com sufusões. Sob o ponto de vista microscópico, estas áreas correspondem a focos de hiperemia e de exsudação de granulócitos e de células mononucleares na muscular mucosa adjacente à cripta de Lieberkühn, que numa fase posterior, evoluem para um acúmulo difuso de células linfóides com formação de centros germinativos. Portanto, como já mencionado para os ninhos linfóides ectópicos, MALTs também são formados após um estímulo antigênico ou flogogênico ou pró- inflamatório e estão associados com infiltração de células T citotóxicas na camada epitelial e uma resposta de células B na lâmina própria. Quando a resposta do MALT está exacerbada, observa-se espessamento da parede ou uma mucosa intestinal com aspecto felpudo ou do tipo toalha turca e indução de diarreia.

## GALT

O trato gastrointestinal do homem contém uma quantidade elevada de linfócitos, tanto quanto àquela que é encontrada no baço. Na galinha a situação não é diferente, porque o TGE precisa adquirir tolerância para um número elevadíssimo de microorganismos que transitam pelo lúmen ( $10^{12}$  UFC/g). Estima-se que 25% do total das células presentes no intestino são linfócitos, totalizando um número de  $10^{10}$  linfócitos/m, que podem secretar 3 a 4g de IgA por dia. Por esta razão, o tecido linfóide do TGE, depois do baço, é considerado o principal componente do sistema imune periférico.

Considera-se que, no mamífero, façam parte do GALT, as tonsilas faríngeas, as adenóides, o apêndice cecal e as placas de Peyer que coletam antígenos das superfícies epiteliais. Nas aves, além das placas de Peyer, existem as tonsilas cecais e esofagianas, a bolsa de Fabrício, o divertículo de Meckel, além de uma grande quantidade de tecido linfóide difuso que se assenta na lâmina própria e submucosa do intestino e do proventrículo (MALT). No jejuno e íleo há um aumento significativo da densidade do MALT conforme idade, que parece estar relacionado com a periferização secundária de células linfóides, o esclarecimento e a maturação da resposta imune. Em aves que apresentam a atrofia da bolsa de Fabrício, observa-se um aumento compensatório de células linfóides no íleo e no jejuno.

**Divertículo de Meckel (DM)** - o cordão da gema, ou o divertículo de Meckel, é uma região que possui um tecido mielocitopoiético responsável pela gênese de monócitos e de granulócitos e um tecido linfocitopoiético rico em linfócitos B e células dendríticas, que capturam antígenos. Na superfície mucosa do íleo, adjacente ao DM é comum observar um tecido linfóide do tipo difuso equivalente ao MALT, porém de maior dimensão, que pode ser detectado macroscopicamente pela presença de uma área hiperêmica extensa, de aspecto hemorrágico e visível pela parede serosa e mucosa quando da ocorrência de enterite necrótica ou da coccidiose.

**Placas de Peyer** - as placas de Peyer (PP) são áreas linfóides que, quando antigênicamente estimuladas, apresentam-se como estruturas visíveis que se projetam temporariamente na superfície mucosa do intestino das aves, em número variável de um a seis. Ao momento do nascimento, PPs não são visíveis a olho desarmado, mas ao exame microscópico são detectadas áreas com infiltração linfóide nos pontos presuntivos de seu aparecimento, por exemplo, no fundo cego do ceco e na região cranial do duodeno. A partir de 10 dias de idade até 12 semanas de idade, as PPs se tornam visíveis e aumentam de tamanho. Nas aves adultas, as PPs são macroscopicamente visíveis quando ocorre um estímulo antigênico local mas, em condições normais, são vistas somente ao exame microscópico e caracterizadas pela presença de agregados linfóides em evolução ou em involução junto a uma região com descontinuidade do epitélio. A quantidade e a distribuição das PPs se altera com a idade e de ave para ave de mesma idade (Befus *et al.*, 1980). Uma ave de 12 semanas possui 5 a 6 PPs (Glick, 2000) e, na ave adulta de 58 semanas, só é vista uma PP próxima à junção íleo-cecal (Befus *et al.*, 1980).

A PP não é visível pela parede muscular mas, ao exame da superfície mucosa distendida em solução salina, observa-se uma área oval de aproximadamente 6 x 4mm, mais irrigada, sobressalente, com dobras semelhantes a folhas achatadas e mais largas que os vilos intestinais adjacentes. PPs são estruturas linfóides mais desenvolvidas que os ninhos linfóides ectópicos e tem uma organização diferente dos MALTs. As PPs são constituídas de dobras ou rugas curtas desprovidas de criptas de Lieberkühn, que apresentam áreas irregularmente distribuídas, freqüentemente próximos ao seu ápice, que não possui células epiteliais colunares e caliciformes assentadas sobre uma lâmina basal contínua. Estas áreas são denominadas de linfoepitélio. O linfoepitélio é constituído de células colunares que possuem microvilosidades denominadas de células M (Microfold), intercaladas por linfócitos e plasmócitos. Abaixo do epitélio estão presentes um tecido linfóide difuso e inúmeros centros germinativos. Os centros germinativos são separados do tecido linfóide difuso por muitas camadas de células linforeticulares. No tecido linfóide difuso são encontradas células T, principalmente TCR1 e CD4+ (auxiliar), macrófagos e células dendríticas que fagocitam e transportam antígenos. Nos centros germinativos e na região subepitelial são encontrados linfócitos B, principalmente do tipo IgA+ e IgM+ e, em menor proporção, IgY+.

**Tonsila cecal** – as tonsilas são coleções de tecido linfático difuso ou de nódulos linfáticos que podem conter centros germinativos e que estão presentes sob o epitélio de regiões específicas, como esôfago e na entrada do ceco. As tonsilas podem apresentar criptas (tonsilas foliculares) ou não apresentar cripta. A tonsila cecal é uma tonsila folicular que está localizada na entrada do ceco, próxima à junção íleo-ceco-cólica e que contém, após o nascimento, massas difusas de tecido linfóide que se infiltram na lâmina própria e na submucosa. No 18º dia de incubação a tonsila é constituída de células linforeticulares e um pequeno número de linfócitos e, a partir do 10º dia de idade, o tecido linfóide é morfologicamente semelhante àquele visto na placa de Peyer, exceto que é maior e que nunca desaparece. A tonsila cecal mede de 4 a 8mm, possui aproximadamente 400 unidades ou vilos esféricos achatados, curtos e proeminentes, cada um com uma cripta de Lieberkühn na sua base. Os vilos apresentam células linfóides dispersas por toda a lâmina própria. O linfoepitélio está presente e predomina na região basal adjacente à cripta de Lieberkühn, enquanto que no ápice do vilos, o epitélio que estabelece o contato íntimo com as bactérias que estão no lúmen é do tipo colunar simples, com ou sem células caliciformes. Os centros germinativos próximos ao epitélio geralmente são encapsulados e os mais profundos são

parcialmente encapsulados. O número máximo de centros germinativos está presente em uma ave de oito semanas de idade, no entanto, a quantidade pode variar conforme intensidade e a quantidade de estímulos antigênicos. Tonsilas cecais hiperêmicas, ou descritas erroneamente como hemorrágicas, são vistas ao início e durante o estímulo antigênico, e resultam em hipertrofia discreta ou acentuada das criptas ou dos vilos, de acordo com a taxa de proliferação das células linfóides do tipo T (tecido linfóide difuso) ou do tipo B (centros germinativos) e eventos inflamatórios caracterizados pela migração de granulócitos ou de células mononucleares na lâmina própria. Nas aves são vistas pelo menos seis tonsilas que não possuem criptas, que apresentam uma superfície lisa, um pouco sobressalente ou com dobras, mas que não possuem invaginações epiteliais profundas. Como exemplo, nas aves encontramos a tonsila esofagiana associada com as glândulas salivares e localizada no esfíncter esôfago-proventricular. Na tonsila esofagiana encontramos células vigilantes de permeio a células reticuloendoteliais, granulócitos e linfócitos que estimulam a proliferação de ninhos linfóides encapsulados (centros germinativos) ou não encapsulados, sempre que a mucosa é injuriada por substâncias antigênicas.

**Bolsa de Fabrícus** – o reto não possui ninhos linfóides, mas na cloaca, na região do urodeo proctodeo e, principalmente ao redor do ducto bursal, são observados tecidos linfóides. A bolsa de Fabrícus é uma invaginação de fundo cego do proctodeo, cujo lúmen é delimitado por uma camada pseudoestratificada de células epiteliais colunares e caliciformes e que, além de ser um órgão linfóide primário essencial para o desenvolvimento dos linfócitos B, exerce também um papel de órgão linfóide secundário. Existem evidências de que antígenos que transitam pelo intestino e pela cloaca são transportados da cloaca para o ducto e lúmen bursal. Estes antígenos são capturados pelas células linfoepiteliais da mucosa bursal e chegam à região medular do folículo linfóide, onde são processados pelas células dendríticas ou pelos macrófagos residentes e apresentados para os linfócitos B, que promovem o aumento das respostas humorais nos tecidos periféricos e no próprio tecido bursal. Patógenos intestinais como o *Cryptosporidium baileyi*, que colonizam o epitélio bursal, causam atrofia do folículo linfóide do mesmo modo que o vírus da doença de Gumboro, que além de infectar linfócitos medulares dos folículos linfóides, infectam as células linfoepiteliais e epiteliais expostas na superfície mucosa. *Histomonas meleagridis* e gametócitos de *Eimeria* sp podem, excepcionalmente, infectar as células epiteliais. Os vírus da doença de Marek, da anemia infecciosa das galinhas e da leucose linfóide podem causar diminuição da diferenciação de linfócitos B e da resposta linfóide local.

## Movimentos do TGE

Os movimentos no TGE, que permitem que ocorram a digestão e a absorção dos nutrientes, também efetuam a proteção local, propiciando a mistura e a diluição das substâncias nocivas com os fluidos secretados pelos enterócitos, a ação do muco e do ácido clorídrico e a expulsão das substâncias lesivas ou injuriantes presentes no conteúdo alimentar, através do aumento da peristalse. Em condições fisiológicas, existem dois tipos de movimentos no TGE, sendo eles movimento propulsivo ou o peristaltismo e movimentos de mistura.

**Movimento propulsivo ou o peristaltismo** - que impele o alimento ao longo do tubo digestivo, com velocidade apropriada, para que ocorra a digestão e a absorção. O peristaltismo é uma propriedade conferida pelo músculo liso sincicial que, quando estimulado em qualquer ponto, possui um potencial de ação que contrai a fibra muscular e que percorre todas as direções do

músculo e se propaga por todo o tubo digestório. A contração exacerbada do músculo causa a diarreia, enquanto que a diminuição da contratibilidade muscular resulta em atonia intestinal e constipação. Qualquer fator que reduz o movimento propulsivo favorece o acúmulo de bactérias, de vírus e de toxinas, e aumenta a susceptibilidade para infecções persistentes ou para o desequilíbrio da flora bacteriana. Sempre que ocorre um estímulo à luz do intestino ou uma injúria epitelial, observa-se um aumento da motilidade intestinal para expulsão do agente nocivo e a manifestação de diferentes tipos de diarreia ou de disenteria.

**Movimentos de mistura** - são conferidos por ondas que induzem contrações e relaxamento segmentado da fibra muscular e possibilitam que o conteúdo intestinal seja constantemente misturado em cada segmento do TGE. O processo de mistura ocorre devido à contração peristáltica que se instala em um segmento após o bloqueio do bolo alimentar pela contração de um esfíncter, ou devido à instalação de contrações peristálticas locais

constrictivas e intermitentes a cada poucos centímetros do intestino. Quando estes movimentos são bloqueados, observamos má digestão ou má absorção e, quando exacerbados, trânsito rápido com eliminação do ingesta ou a enterite osmótica.

As funções motoras do TGE são executadas pelas diferentes camadas de músculo liso, que são representadas por uma rede ramificada de feixes musculares lisos que se comportam como um sincício, que são encontradas nas seguintes camadas funcionais do tubo digestório:

- Na camada muscular da mucosa, que é constituída por uma delgada camada de fibra muscular lisa a qual possui movimentos localizados que induzem invaginações da mucosa, promovendo o contato e a absorção de nutrientes.
- Na camada muscular que é subdividida em duas camadas, uma circular interna, e outra longitudinal externa que se movimentam opostamente entre si e em ângulo reto, e resultam no movimento peristáltico.

O músculo liso do TGI é excitado por uma atividade elétrica intrínseca, lenta e quase contínua, que se propaga ao longo das membranas das fibras musculares, em ondas de dois tipos: ondas lentas e ondas em ponta. As ondas lentas são representadas por alterações ondulantes no potencial de repouso da membrana, que é de -50 milivolts. Em geral, sua amplitude é de -5 a -15 milivolts e sua frequência varia conforme o segmento do TGE. As ondas lentas não causam a contração muscular, mas controlam o aparecimento dos potenciais em ponta intermitentes ou as ondas em ponta que excitam a maior parte da contração muscular. O potencial de ação das ondas em ponta do músculo liso gastrintestinal ocorre automaticamente quando os picos de ondas lentas se elevam temporariamente para mais de -40 milivolts e duram 10 a 40 vezes mais que os potenciais de ação nas fibras nervosas que persistem por 10 a 20 milissegundos, e ocorrem numa frequência que varia de 1 a 10 pontas por segundo. O potencial de ação do músculo liso gastrintestinal que causa a contração muscular é lento porque é gerado pelos canais de cálcio – sódio, que se abrem e se fecham lentamente, permitindo a entrada de grande quantidade de ions cálcio junto com uma pequena quantidade de sódio. Quando o potencial de repouso da membrana, que normalmente é de -50 a -60 milivolts se altera, há modificação da excitabilidade da fibra muscular lisa. Desta forma, observa-se:

**Aumento da excitação** - que causa a diarreia e se instala quando o potencial da membrana fica

menos negativo ou ocorre a despolarização da membrana devido ao estiramento do músculo devido à presença de alimento, estimulação pela acetil colina, estimulação dos nervos parassimpáticos que secretam acetil colina nas suas terminações, estimulação por vários hormônios gastrintestinais específicos, como a neurotensina e a colecistocinina, que modulam a contração do proventrículo, moela, do intestino e da vesícula biliar.

**Diminuição da excitação** - que causa a estase do bolo alimentar e que ocorre quando o potencial da membrana fica mais negativo ou ocorre a hiperpolarização da membrana devido ao efeito da norepinefrina e epinefrina sobre as membranas, estimulação dos nervos simpáticos que secretam a norepinefrina ou outras substâncias neurotransmissoras em suas terminações.

Alguns músculos lisos do TGE exibem contrações tônicas ou rítmicas, que podem durar minutos a algumas horas e que não estão associadas com o ritmo elétrico básico das ondas lentas, mas que pode ser causada por potenciais em pontas repetitivos e contínuos, hormônios ou fatores que desencadeiam a despolarização parcial e contínua da membrana da fibra muscular lisa, sem gerar um potencial de ação, entrada contínua de cálcio pelos poros da membrana.

O trânsito do alimento, conferido pela motilidade ou peristaltismo intestinal, é controlado pelo plexo mioentérico ou de Auerbach, enquanto que o plexo submucoso, ou de Meissner, controla o fluxo sanguíneo, a secreção gastrintestinal, a absorção e a contração local, que é responsável pelo pregueamento localizado da mucosa gastrintestinal. As fibras nervosas simpáticas (SNAS) e parassimpáticas (SNAP) estabelecem conexões com os dois plexos. A acetil colina, liberada sob modulação do SNAP, excita a atividade gastrintestinal. E a norepinefrina, liberada localmente e a que chega através do sangue circulante após ter sido liberada pela adrenal sob estímulo do SNAS inibe a atividade gastrintestinal, relaxa o intestino e contrai os esfíncteres. O plexo mioentérico está localizado entre as camadas longitudinais e circulares do músculo liso intestinal, formando uma cadeia linear de vários neurônios interconectados que se estendem por todo o comprimento do trato gastrintestinal. Por esta razão, ele é responsável pelo controle da atividade motora ao longo de todo o intestino ou pela motilidade propulsiva ou peristaltismo intestinal, enquanto que o plexo submucoso controla a função da parede de cada diminuto segmento e confere a mistura do quimo. Quando o plexo mioentérico é estimulado, instalam-se as seguintes respostas: aumento das contrações tônicas ou modificação do tônus da parede intestinal, que confere ao intestino, o aspecto de “salsicha”, aumento da intensidade das contrações rítmicas, que é expressa em fibrilação muscular ou constrictões intensas da parede intestinal, aumento da frequência do ritmo de contração, maior velocidade de condução das ondas excitatórias ao longo da parede intestinal, resultando no movimento mais rápido das ondas peristálticas e, portanto, tendo como consequência, diarreia ou a disenteria.

A motilidade gastrintestinal pode ser influenciada por alguns hormônios, por exemplo pela colecistocinina, que é secretada pelas células “I” da mucosa do duodeno e do jejuno em resposta a produtos de degradação das gorduras, dos ácidos graxos e dos monoglicerídeos presentes no conteúdo intestinal. Este hormônio contrai a vesícula biliar, inibe moderadamente a motilidade da moela e favorece a liberação do suco biliar, que promove a emulsificação, a digestão e a absorção das gorduras. Quando a colecistocinina não é liberada, observa-se má digestão das gorduras e, por conseguinte, enterite osmótica e esteatorrêia. A secretina é secretada pelas células “S” do duodeno em resposta ao esvaziamento do suco gástrico ácido liberado pelo proventrículo,



da moela para o duodeno. O peptídeo inibitório gástrico é secretado pelas células localizadas no duodeno em resposta à presença de ácidos graxos e de aminoácidos e, em menor grau, de carboidratos na luz do intestino e diminui a atividade motora da moela, reduzindo a passagem do quimo para o duodeno quando ele está repleto. Quando a secretina ou a enterogastrona não são secretados, observa-se má digestão e, como consequência, diarreia osmótica ou trânsito rápido com passagem de ração nas fezes.

A disposição anatômica do sistema nervoso entérico e de suas conexões com SNAS e SNAP constitui o suporte de três tipos de reflexos gastrintestinais:

- **Reflexos que são totalmente integrados no sistema nervoso entérico**, que incluem reflexos que controlam a secreção gastrintestinal, o peristaltismo, as contrações de mistura e os efeitos inibitórios locais, ou seja, processos relacionados principalmente com a digestão e a absorção.
- **Reflexos do intestino para os gânglios simpáticos pré-vertebrais que retornam para o trato gastrintestinal**, que incluem o reflexo gastro-cólico (evacuação cecal) e o reflexo colonoileal (esvaziamento do conteúdo ileal para o cólon ou para o ceco), ou seja, que controlam a defecação e o estado de repleção do ceco.
- **Reflexos do intestino para a medula espinhal ou para o tronco cerebral**, que retornam para o TGE, modulando a atividade e a secreção gástrica, os reflexos de dor que inibem totalmente o TGE e o reflexo da defecação, ou seja, as manifestações sob controle somático, da fome, da inapetência e do ato de defecar, que não está presente quando há diarreia ou disenteria.

Flora bacteriana e a proteção da mucosa

O TGE de um neonato ou recém-nascido é estéril e muito susceptível à colonização por patógenos enterotrópicos porque o sistema imune está imaturo e não existe uma flora bacteriana normal. A ave adulta é mais resistente porque o sistema imune está maduro e a flora microbiana normal que se estabelece no intestino modifica ou influencia a taxa de colonização de bactérias enteroinvasivas. O fenômeno pelo qual bactérias da flora bacteriana normal influenciam na taxa de colonização de bactérias enteroinvasivas e enterotoxigênicas é conhecido como exclusão competitiva, efeito de Nurmi, suplementação de probióticos, entre outros. Existem evidências de que a microflora entérica normal inibe a colonização de bactérias entero- patogênicas ou enteroinvasivas através dos seguintes mecanismos: estímulo para secreção de mucina; competição por sítios de aderência no muco, no glicocálice e nos enterócitos, competição por nutrientes, por exemplo, por oxigênio ou pelo dióxido de carbono, ferro, serina, treonina, ácido aspártico; produção de substâncias antibacterianas, como os ácidos graxos de cadeia curta ou voláteis, ou orgânicos (por exemplo, ácido acético, propiônico e butírico) e as bacteriocinas. Os ácidos orgânicos inibem o crescimento de bactérias porque diminuem o pH, principalmente do ceco, e interferem com o metabolismo de alguns microorganismos. As bacteriocinas são peptídios ou proteínas produzidas por bactérias, que matam ou inibem o crescimento de outras bactérias.

- Imunoestimulação, principalmente da imunidade inata ou inflamação. Por exemplo, heterófilos e macrófagos liberam metabólitos da queima oxidativa que são tóxicos para outras bactérias (peróxidos), enzimas líticas (lisosimas) e péptides antimicrobianos.
- Bacteriófagos são vírus pequenos que podem fazer parte da microflora entérica e que são

altamente específicos e letais para bactérias. Bacteriófagos específicos para *Salmonella* spp e *Campylobacter* spp têm sido descritos, porém existem evidências de que alguns deles possam ser imunossupressores.

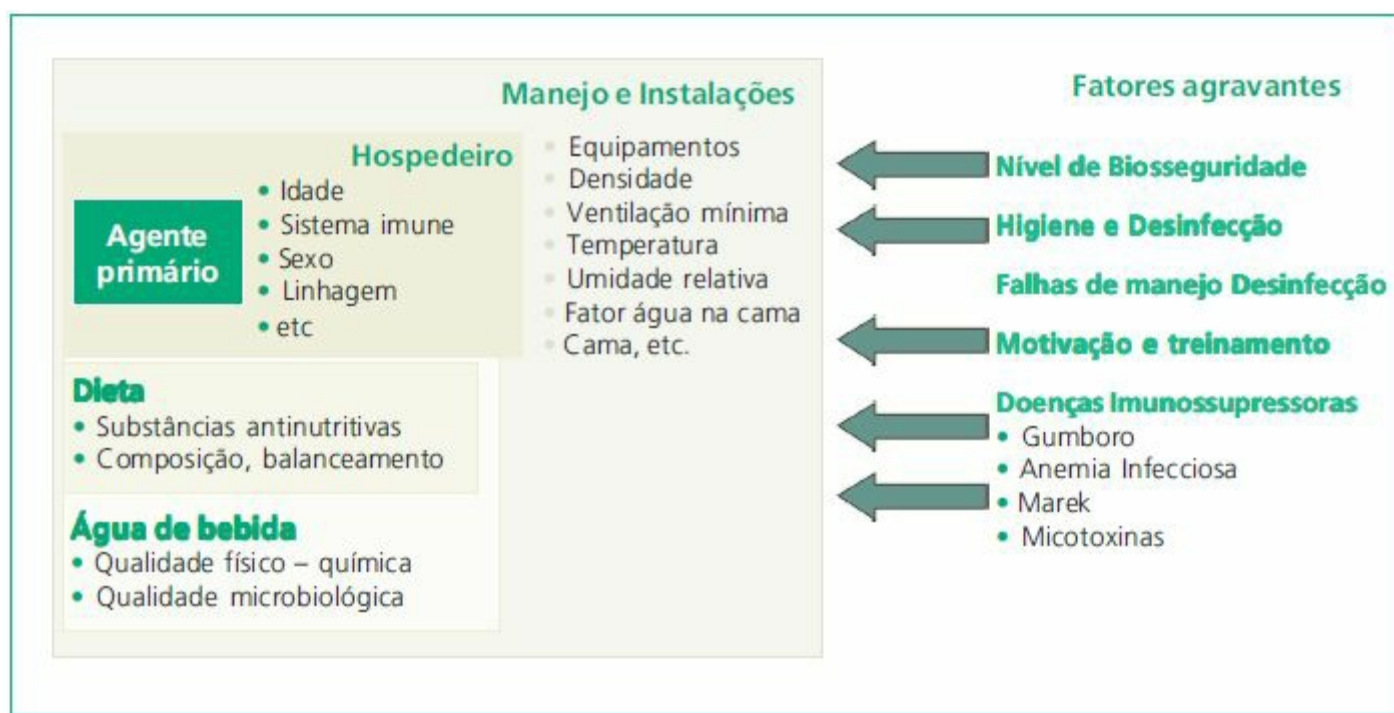
A colonização do TGE por microorganismos que compõem a flora normal e que esclarecem a exclusão competitiva pode ser modificada pela dieta, pelo pH e pela disponibilidade de oxigênio ou de dióxido de carbono nas diferentes partes do intestino, por substrato ou nutrientes essenciais e por promotores de crescimento, anticoccidianos, antibióticos ministrados profilática ou terapêuticamente, enzimas dietéticas que atuam sobre a fibra ou celulose ou carboidratos ou outros nutrientes que atuam como substrato para aderência ou multiplicação e prebióticos ou ingredientes alimentares não digeríveis que nutrem a microflora entérica (oligossacárides) e ácidos orgânicos e desinfetantes (paraformaldeído) adicionados na ração, que inibem a proliferação de algumas bactérias conforme a concentração presente no lúmen intestinal

## Patogênese das doenças gastrintestinais

### Considerações gerais

Sob o ponto de vista anatômico e funcional, não há diferença entre o TGE de poedeiras, de frangos de corte e de reprodutoras de diferentes linhagens. No entanto, com a emergência do uso de vacinas, com o advento de linhagens mais produtivas e a crescente restrição do uso de antibióticos e dos promotores de crescimento, é importante e necessário ampliar a abordagem das condições mórbidas que são encontradas no TGE dos frangos de corte. Sob o ponto de vista histórico, até a última década, quando discutíamos doenças do TGE, dava-se muita ênfase às gastroenterites causadas por bactérias, fungos, protozoários, vírus e micotoxinas. Nos últimos anos, temos visto que os problemas relacionados com desuniformidade, refugagem, conversão alimentar elevada, redução do ganho de peso, má qualidade de carcaça ou de ovos, podem estar relacionados com modificações fisiológicas do TGE, ou seja, gastroenteropatias (Ito *et al.*, 2004). Sob o ponto de vista prático, a incidência de gastroenteropatias é muito mais elevada do que de gastroenterites e elas têm maior impacto econômico, em particular nos frangos de corte (Ito *et al.*, 2004a). Sob o ponto de vista clínico - patológico, gastroenteropatias quase sempre resultam em síndromes de etiologia multifatorial ou complicada, porque estão relacionadas com infecções múltiplas, secundárias ou oportunistas por vírus, por bactérias ou por protozoários da flora normal, que são apatogênicos ou são avirulentos. A gastroenteropatia também pode ser induzida por inúmeros fatores relacionados com a dieta, o manejo e condições ambientais, que interferem com a modulação hormonal, o metabolismo, a função e o desenvolvimento e a reparação do TGE principalmente das aves geneticamente selecionadas para elevado desempenho. Por exemplo, a seleção genética para rápido crescimento dos frangos de corte modificou o apetite: quando as reprodutoras (matrizes) são vorazes, a sua progênie geralmente é hipoativa e tem um metabolismo basal muito mais baixo (Kuenzel, 2000). O contrário também é observado entre algumas seleções genéticas de frangos de corte e de poedeiras: quando a progênie é hiperreativa, a reprodutora é hipoativa. Isto significa que é importante conhecer a linhagem e manipular zootecnicamente as características geneticamente herdadas que modificam o comportamento e o aprendizado cognitivo das aves. É importante lembrar que o TGE é o único sistema orgânico que permite que um ser vivo destine os nutrientes ingeridos para a manutenção do seu crescimento e das suas funções vitais e reprodutivas.

A patogenese das doenças que acometem o trato gastroentérico é complexa e de etiologia igualmente complexa. Combinações e interações entre vírus, bactérias e outros fatores infecciosos e não infecciosos são necessárias para esclarecer uma doença gastrointestinal mais ou menos severa. Raramente existe um único fator. Através de exames laboratoriais, pode-se diagnosticar a existência de um patógeno infeccioso ou toxigênico conhecida- mente virulento, mas quase sempre o agente por si só não reproduz experimentalmente o quadro clínico visto no campo, porque são inúmeros os fatores desencadeantes que podem dar origem a um determinado sintoma. Os fatores desencadeantes de uma doença gastrointestinal mais ou menos severa podem estar relacionados com o hospedeiro, com o meio ambiente, com o manejo, com a dieta e outros patógenos associados, que interagem entre si (**Figura 2**).



**Figura 2** - Diagrama sobre fatores que podem interagir e favorecer a emergência de gastroenterites ou de gastroenteropatias.

## Patologia

As enfermidades que acometem o TGE podem ser causadas por vários fatores, distintos ou isolados, que podem interagir entre si, estabelecendo uma seqüência de eventos fisiopatológicos comuns, que quase sempre resultam em um único sintoma ou em uma síndrome caracterizada pela expressão de uma multiplicidade de sinais e sintomas comuns. Por exemplo, em um lote que apresenta coccidiose, pode-se encontrar, simultaneamente, fatores predisponentes para a ocorrência e o agravamento da infecção pela coccidia, independente de estarmos diante de um fator intrínseco que esteja relacionado com resistência adquirida para o anticoccidiano (**Figura 3**).



**Figura 3** - Interrelações entre fatores predisponentes e desencadeantes. Setas cheias indicam que a coccidiose pode ser um fator predisponente para ocorrência de erosão da moela (*E. acervulina* induzindo comprometimento do refluxo enterogástrico) e de hepatites e de necrose do baço e, ainda, que existem outros fatores, que ao causar os mesmos distúrbios e a queda de consumo, favorecem a coccidiose. Do mesmo modo, a coccidiose pode induzir esplenomegalia devido ao estímulo do sistema imune e a hepatite decorrente do aumento da atividade fagocítica das células de Küpffer, porque ela favorece a ocorrência de enterotoxemia, de endotoxemia, de enterite necrótica e da disbacteriose, como também, estes quatro fatores podem favorecer, ao causar queda do consumo dos anticoccidianos, a coccidiose. Setas pontilhadas representam fatores que podem participar como facilitadores ou agravantes ou variáveis independentes: a imunossupressão pode estar impedindo a implantação de resposta imune contra as coccídeos, enquanto que a traqueíte e a pneumonia podem estar sendo induzidas por patógenos específicos e independentes ou de ocorrência casual, por exemplo, calor, bronquite infecciosa, micoplasma, que podem causar queda de consumo da ração e, portanto, escape de coccidiose ou favorecer esplenomegalia e hepatite pela disbacteriose devido à diminuição da taxa de ingestão de anticoccidianos ou de promotores de crescimento e/ou da peristalse intestinal (efeito do estresse).

De forma sucinta, pode-se dividir as enfermidades do TGE em três categorias: inflamações (gastroenterites), neoplasias e gastroenteropatias.

### Inflamação

Quando ocorre um estímulo ou uma injúria lesiva na mucosa de uma determinada região do TGE, independente de ter sido causada por bactérias, vírus, fungos, protozoários, irritantes ou por substâncias tóxicas, observamos uma resposta inflamatória aguda ou crônica, variável em intensidade e característica, de acordo com a natureza e a persistência do patógeno. Na maioria das enfermidades infecciosas que ocorrem no TGE, a inflamação aguda caracterizada pelo predomínio da infiltração de células mononucleares, de pequenos linfócitos e de granulócitos, é finalizada por uma resposta do sistema MALT e GALT, resultando em resolução do processo e cura. A gastroenterite crônica ou granulomatosa, caracterizada pela migração de monócitos, fusão de monócitos dando origem a células gigantes ou policariontes que circunscrevem o tecido necrótico ou o parasita, ou diferenciação de monócitos para células epitelióides, formando um nódulo marginalizado por linfócitos é raramente vista em aves criadas industrialmente. Granulomas são vistos na tuberculose, que é causada pelo *Mycobacterium avium* e na colibacilose

crônica. No caso da pulorose (*Salmonella pullorum*), observa-se a gastroenterite crônica que, a despeito de ser nodular, nem sempre é do tipo granulomatosa, mas é caracterizada pela ocorrência de intensa migração, proliferação e acúmulo de células linfóides que é também observada em caso da encefalomielite aviária de transmissão vertical. Quando o TGE é injuriado, na dependência do tipo e da persistência do agente nocivo, da idade da ave, do órgão comprometido e do tipo de resposta desencadeada no hospedeiro após a reparação e cicatrização da área lesionada, podemos observar perda de função ou seqüelas que podem ser causa de gastroenteropatias.

## Neoplasias ou tumores

As formações tumorais encontradas no TGE, de modo geral, são metástases originadas pela migração e assentamento de células neoplásicas do tipo linfócito (leucose linfóide, doença de Marek) e do tipo mielócito (leucose mielóide) ou relacionadas com adenocarcinomas. Leiomiomas, tumores hepatocelulares e colangiocelulares e mesoteliomas são raros e mais encontrados, esporadicamente, em aves adultas.

## Gastroenteropatias

Gastroenteropatias podem estar relacionadas com seqüelas pós-inflamatórias, alterações geradas pelo estímulo e resposta exacerbada ou ausente do sistema de defesa local, injúria química e respostas imunes e peristálticas na ausência de inflamação. Substâncias antinutritivas ou tóxicas, dietas e manejo deficiente, taxa de consumo e de colonização bacteriana podem estimular ou reduzir a resposta de defesa local ou o desenvolvimento do TGE. O comprometimento do desenvolvimento do TGE durante o período pré e pós-natal no neonato, de modo geral, é irreversível e é a principal causa da síndrome da má digestão e da má absorção ou do pinto refugo, enquanto que o trânsito rápido, alimento não digerido e a passagem de ração podem ser também decorrentes do comprometimento da peristalse, geralmente desencadeadas pelo estímulo excessivo do sistema neuroendócrino. Em aves adultas, a ocorrência de gastroenteropatia resulta em queda de produção dos ovos ou da fertilidade dos machos e das fêmeas e na modificação da qualidade da casca, entre outros fatores reprodutivos. Em condições de campo ou naturais, é muito comum a ocorrência de gastroenteropatias complicadas evoluindo para quadros de gastroenterites, podendo ocorrer também o contrário, com aves convalescentes ou curadas de uma gastroenterite desenvolvendo gastroenteropatias irreversíveis. Por exemplo, quando órgãos como o pâncreas e o proventrículo, ou os músculos da moela e da parede intestinal sofrem processos inflamatórios graves ou persistentes, geralmente observa-se fibroplasia e perda da capacidade funcional de natureza irreversível e, como consequência, emergência de gastroenteropatia crônica.

## Patogênese

### Gastroenterites

Para denominar que um determinado órgão está com inflamação, adiciona-se o sufixo ite no final do nome de um determinado órgão ou sistema. Por exemplo: enterite, refere-se à inflamação no intestino. O sufixo ose é aplicado quando observamos necrose tissular. Por exemplo, enterocitose, e quando observamos degeneração das células, aplica-se o sufixo lise, (enterocitólise).

A inflamação é uma resposta imune inata que é desencadeada sempre que um tecido é injuriado ou lesionado por qualquer tipo de agente vivo ou inanimado ou perfurante. Imediatamente após a injúria, são desencadeados, em sequência, as seguintes respostas no sítio lesionado:

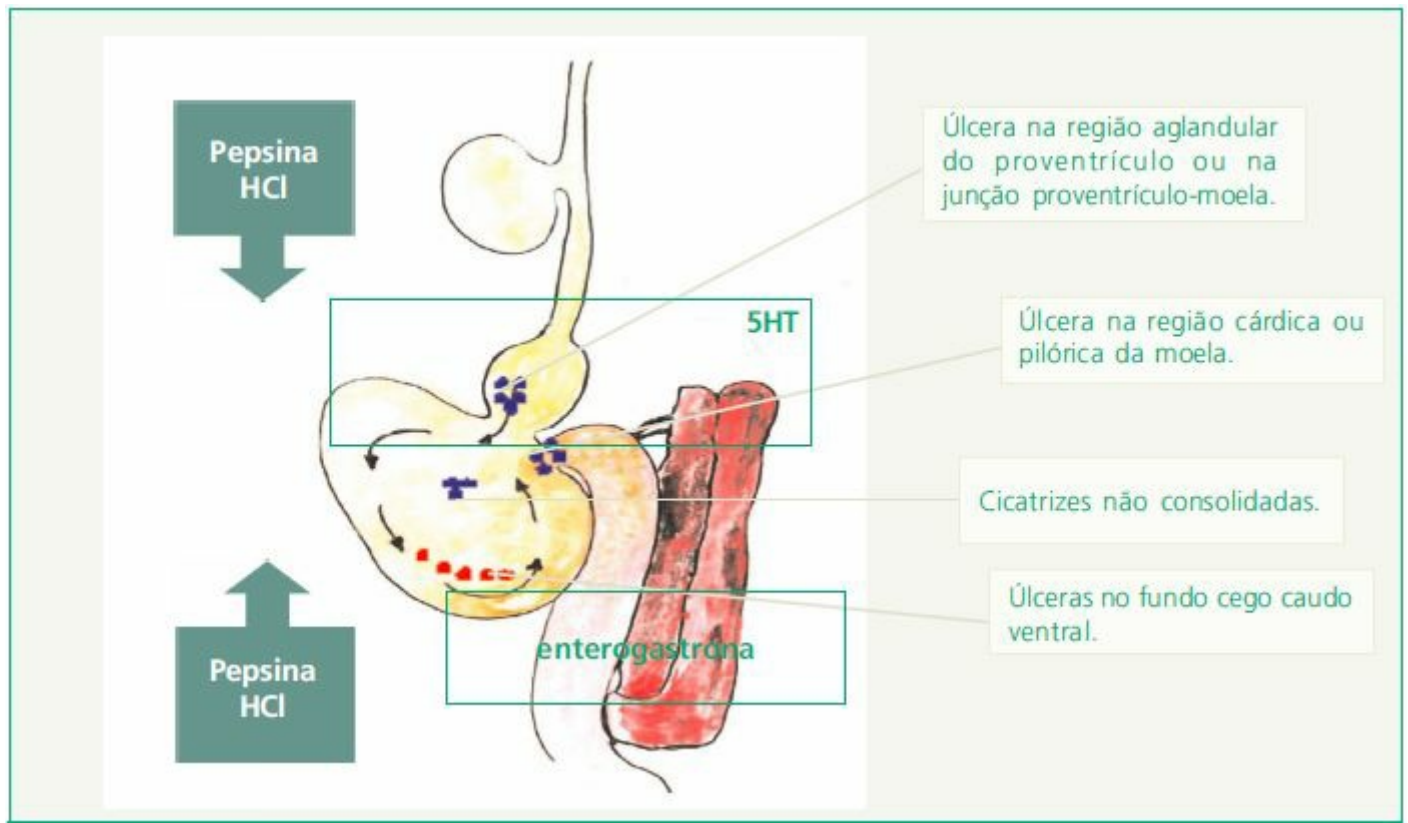
- Liberação de substâncias vasoativas pelos mastócitos residentes, que se degranulam sob estímulo nocivo e liberam a histamina e a serotonina (5-HT), que promovem a vasodilatação e a hiperemia, que se manifestam localmente como uma vermelhidão (rubor) e aumento da temperatura local (calor). Simultaneamente, os fagócitos residentes liberam fatores que promovem o afluxo e o acúmulo de leucócitos circulantes na área lesada.
- Sob o estímulo das aminas vasoativas liberadas pelos mastócitos presentes no sítio lesionado, ou mesmo sob a ação direta de exotoxinas, de endotoxinas ou de bactérias, ocorre o enfraquecimento e a separação dos pontos de contato entre as células endoteliais que revestem os vasos e, assim, ocorre o aumento da permeabilidade capilar, que permite a passagem de fluido plasmático para o interstício, que promove a diluição do fator injuriante e de leucócitos circulantes que efetuam a fagocitose. No intestino, a permeabilidade vascular é mais elevada do que em outras regiões, porque os capilares do ápice do vilão são fenestrados (estima-se que no glomérulo, que também possui capilar fenestrado, seja cerca de 100 vezes maior do que no músculo que não possui vasos fenestrados). O acúmulo de fluido plasmático e de células inflamatórias causa edema ou aumento do volume, por conseguinte, parede espessada ou mucosa de aspecto de “toalha turca” ou felpudo.
- Nas aves, num período tão curto quanto 48 horas, já se nota a migração de células linfóides e a formação de ninhos linfóides e, em particular no TGE, estímulo para uma resposta do sistema GALT. O intestino, diferentemente de outros órgãos, é uma área do TGE que está sempre inflamada devido à contínua exposição do epitélio aos microorganismos que compõem a flora bacteriana e às substâncias flogogênicas que são ingeridas. Por esta razão, diz-se que no intestino existe uma inflamação fisiológica perene.
- Durante a resposta inflamatória, os macrófagos secretam linfocinas (IL1, IL6, TNF $\alpha$ ), que estimulam a liberação de acetil colina pelo sistema nervoso autônomo parassimpático que, por sua vez, estimula a secreção de muco e de água para o lúmen do intestino e o aumento da motilidade gastrointestinal. Desta forma, é desencadeada no intestino uma resposta de tentativa de diluição do agente nocivo e a expulsão através da diarreia ou disenteria, e em todo o tubo gastrointestinal pode ocorrer um aumento da peristalse ou aumento do movimento de propulsão e eliminação do conteúdo existente na luz, resultando em trânsito rápido.

## Gastroenteropatia

O sufixo patia refere-se a doença ou dor ou sofrimento ocorrendo em um determinado órgão ou sistema do organismo e que serve para denominar enfermidades causadas pela perda ou pela redução da função, após infecção, ou após deficiências nutricionais, ou pós defeitos constitucionais (agenesia), metabólicos ou funcionais ou após respostas induzidas por substâncias antinutritivas. Nas gastroenteropatias observamos respostas únicas ou múltiplas caracterizando síndromes de etiologia complicada ou confusa ou múltipla.

Uma gastroenteropatia invariavelmente resulta em uma síndrome devido à instalação de uma sucessão de alterações nos órgãos ou nos tecidos que estão funcionalmente relacionados. Por exemplo, a úlcera péptica, na dependência de sua localização na moela ([Figura 4](#)), pode ter como

causa a redução da atividade pancreática na secreção do bicarbonato que tampona o ácido clorídrico secretado pelo proventrículo, ou o comprometimento da peristaltismo retrógrado duodeno-moela-proventrículo que promove a mistura do quimo com o alimento não digerido, ou o aumento da secreção de pepsina e de ácido clorídrico pela mucosa proventricular ou da redução da secreção de muco ou pela ação de substâncias irritantes como as fusariomicotoxinas induzindo gastrite. A úlcera péptica favorece a aderência ou a colonização secundária por fungos, por leveduras ou por bactérias e compromete a digestão enzimática e mecânica do ingesta, permitindo a passagem de alimento não digerido ou pouco digerido para o intestino. Em resposta à presença de alimento não digerido no lúmen intestinal é desencadeada a diarreia osmótica ou o “trânsito rápido” ou a “passagem de ração” nas fezes.



**Figura 4** - Úlceras pépticas (•) são causadas por fatores distintos ou pela somatória de eventos interrelacionados ou sequenciados. Nas galinhas, úlceras localizadas na região aglandular do proventrículo podem ser causadas pela secreção excessiva de ácido clorídrico ou de pepsina ou da diminuição da motilidade do proventrículo mediada pela serotonina (5HT que é liberada pelas células argentafins das glândulas proventriculares) ou pelo aumento da secreção de muco pelas glândulas tubulares, por exemplo, na deficiência de vitamina A, ou devido à redução do esvaziamento gástrico devido à hiperplasia linfóide na tonsila esofagiana (dilatação do proventrículo). Úlceras na região cárdica ou pilórica podem ter relação com o refluxo exacerbado do quimo, causando uma redução da acidez e comprometendo a solidificação da matriz coilínica, ou com a diminuição da secreção de ácido clorídrico devido à atrofia dos ácinos proventriculares ou com o aumento da secreção de bicarbonato pelo pâncreas (hipertrofia pancreática). Úlceras no fundo cego caudo ventral da moela podem ser causadas pela secreção excessiva de ácido clorídrico inibindo reflexamente a secreção gástrica e a peristalse, ou porque houve uma redução da secreção de bicarbonato pelo pâncreas ou houve comprometimento do refluxo gastroduodenal devido à presença de injúria no duodeno ou devido à redução da liberação de enterogastrona que modula o esvaziamento da moela e a propulsão do digesta para o duodeno. Cicatrizes não consolidadas vistas na região medial da moela podem ser seqüelas complicadas ou resultantes de inapetência crônica ou da ingestão de substâncias antinutritivas ou de areia, que causa a impactação da moela.

As gastroenteropatias podem ser observadas nas seguintes situações:

- Em aves convalescentes de gastroenterites - quando o proventrículo ou o pâncreas são lesionados, não há regeneração dos ácinos, portanto, instala-se uma atrofia irreversível. O intestino é capaz de se regenerar em um a dois dias após o término da injúria, no entanto, nem sempre as células que substituem as originais apresentam a mesma competência. O fígado regenera-se lentamente em aproximadamente 7 a 14 dias e, durante este período, observa-se redução da função hepática, ou seja, de toda a atividade catabólica e metabólica.



- Comprometimento do desenvolvimento pré- natal ou pós-natal devido a dietas marginais, ou devido à diminuição do estímulo trófico conferida pela redução ou falta do consumo de ração ou devido a estresses ou infecções locais em idade prematura.
- Dietas marginais contribuindo com diminuição ou perda da proteção local conferida pelas barreiras físicas e químicas.
- Estresses favorecendo diminuição da motilidade gastrointestinal ou comprometendo o esvaziamento da vesícula biliar ou do pâncreas e a secreção de enzimas e hormônios intestinais.
- Estímulo exacerbado do sistema imune (GALT – MALT) ou imunodeficiência.
- Desequilíbrio da flora bacteriana ou disbacteriose.

## Enfermidades que acometem o TGE e órgãos anexos

### Etiologia

### Considerações gerais

O TGE é um sistema aberto, à exposição a tudo que uma ave ingere, além da água e da ração, insetos, fezes, cama, vacinas e inúmeras bactérias comensais ou simbióticas que compõem a flora normal residente. No passado, considerava-se que as enfermidades que acometiam o TGE eram causadas somente por agentes patogênicos específicos ou com tropismo para determinados segmentos do tubo gastrointestinal. Assim, Carlson (1982), ao analisar 1391 artigos científicos relacionados com doenças que acometiam as aves, relatou que apenas 391 (28,0%) publicações descreviam afecções no TGE e, surpreendentemente, identificou 112 causas etiológicas. Esta diversidade elevada de causas etiológicas ([Tabela I](#)), certamente não é mais encontrada nas criações industriais de galinhas. Por exemplo, vermes como Trematodas, problemas de deficiência nutricional e muitas infecções bacterianas não ocorrem nas criações industrialmente exploradas, porque o sistema de criação em confinamento, o manejo, as formulações dietéticas e as medidas profiláticas e preventivas adotadas limitam ou evitam a sua emergência.

<b>Tabela I</b> - Pesquisa bibliográfica enumerando patologias no TGE das aves domésticas, segundo Carlson (1982).			
<b>Etiologia</b>	<b>Nº de artigos pesquisados</b>	<b>Nº de referências com descrição de lesão no TGI</b>	<b>Nº de causas ou de condições patológicas</b>
Bactéria	218	74	20 (17,8%)
Micoplasma	50	0	0 ( 0,0%)
Vírus	274	60	14 (12,5%)

Fungo	75	21	8 ( 7,1%)
Parasita externo	8	0	0 ( 0,0%)
Nematoda	10	2	9 ( 8,0%)
Cestoda	1	1	7 ( 6,2%)
Trematoda	52	38	6 ( 5,3%)
Protozoários	130	67	7 ( 6,2%)
Intoxicação	146	40	19 (16,9%)
Nutrição	149	29	10 ( 8,9%)
Manejo	62	21	7 ( 6,2%)
Não conhecido	216	38	5 ( 4,4%)
Total	1391	391	112

De acordo com a [Tabela II](#), bactérias, intoxicações e vírus são os principais agentes etiológicos a causar problemas no TGE. Fungos, vermes e protozoários são condições quase tão frequentes quanto os erros nutricionais e os de manejo a comprometerem o sistema digestório. Na Tabela II é apresentada a ocorrência de lesões segundo órgãos e tipos de agentes injuriantes, baseado em levantamento efetuado no **Diseases of Poultry** (Saif *et al.*, 2003) e outros livros textos. Baseado na localização das lesões no TGE, observa-se que o intestino (42,5%) e o fígado (18,9%) são os órgãos mais frequentemente comprometidos e, em segundo plano, o proventrículo, o pâncreas e a moela. Surpreendentemente, fatores alimentares, micotoxinas, deficiências nutricionais e intoxicações compreenderam um total de 34,8% das causas etiológicas e, dentre os fatores infecto- contagiosos, verificou-se uma prevalência elevada para verminoses e para infecções por protozoários. No entanto, levando-se em consideração o órgão comprometido, de um total de 216

causas etiológicas, os vírus e as bactérias são os agentes que induzem maior número de condições mórbidas diferenciadas.

**Tabela II** - Órgãos do sistema gastroentérico acometidos por diferentes agentes etiológicos.

Órgão	Tipo de Agente						
	Bactéria	Fungo/Levedura	Vírus	Protozoário	Micotoxina	Vermes	Intoxicação/d alimentar
Fígado	14	2	6	3	11	0	5
Pâncreas	1	2	3	0	8	0	5
Boca / Faringe / Esôfago	0	1	1	1	3	3	3
Papo	1	1	0	1	1	3	3
Proventrículo	1	2	6	2	1	4	7
Moela	2	1	3	1	5	1	6
Intestino delgado	10	2	7	10	6	12	10
Ceco	7	0	5	9	0	8	0
Cloaca/reto	1	0	1	3	0	1	0
Tipos de agentes etiológicos	14 (13,5%)	2 (1,94%)	11 (10,6%)	16 (15,3%)	11 (10,6%)	24 (23,3%)	25 (24,2%)
Tipo de doença	12 (32,43)	2 (5,4%)	14 (37,83)	6 (16,2%)	1 (2,7%)	1 (2,7%)	1 (2,7%)

Nos tempos atuais, é sabido que muitas enfermidades que acometem o TGE dos frangos de corte não são causadas por patógenos específicos e são, na maioria das vezes, de etiologia multifatorial ou confusa. Por esta razão, pode-se considerar que as enfermidades que acometem as galinhas e os perus podem ser classificadas conforme sítio de injúria nos diferentes compartimentos do TGE ou por distúrbios funcionais desencadeados nas diferentes áreas do tubo gastrintestinal devido à interrelação que existe entre elas.

## Patologias conforme região anatômica do TGE

### Orofaringe

**Estomatite** ou **úlceras** - na mucosa da boca ou da faringe são observadas, de modo geral, em frangos de corte com boa conformação e que perderam peso, ou em reprodutoras adultas, e podem ser causadas pelo consumo de substâncias corrosivas ou ácidas, por exemplo, fusariomycotoxinas ou desinfetantes, ou pela ingestão acidental ou aberrante de material contundente, por exemplo, palha de arroz.

**Placas diftéricas** - na mucosa da boca e da faringe são vistas em aves não vacinadas e infectadas com o vírus virulento da boubá aviária (*Poxvírus*). Aves com boubá diftérica ou eritematosa eliminam fezes biliosas e apresentam um quadro de debilidade geral.

**Engluvite** - refere-se à inflamação no papo e pode ter, como fator desencadeante, a disfagia (dificuldade de deglutição) induzida pela redução do tônus e da motilidade do trato digestivo superior devido ao comprometimento dos nervos periféricos (nervo vago) ou devido à acalasia (o esfíncter esofágico não relaxa após a deglutição e não permite passagem do alimento para a moela), resultando em papo pendular ou impactação do papo. O consumo de substâncias ácidas ou corrosivas, de toxinas botulínicas e de arsenicais diminui a motilidade e pode causar a engluvite. Bactérias ou leveduras (*Candida sp.*) ou *Trichomonas sp.* podem causar a engluvite, primária ou secundariamente aos fatores desencadeantes ou predisponentes.

**Neoplasia** - na região da laringe, osso hióide, laringe, palato, pode haver uma proliferação neoplásica de mielócitos (leucose mielóide). Linfomas podem ocorrer em casos de linfomatose devido à doença de Marek ou à leucose linfóide.

**Verminoses** - os vermes, como a *Capillaria contorta*, *Capillaria anulata* e *Gongylonema ingluvicola*, são vistos no papo e no esôfago de aves ornamentais e caipiras e não ocorrem em aves criadas em granjas porque o hospedeiro interme-diário (minhoca, barata, besouro) não ocorre no ambiente de criação.

**Glossite** - a inflamação na língua ocorre na deficiência de ácido fólico, nas carências polivitamínicas e quando há ingestão de fusario-micotoxinas, de cama e de desinfetantes que lesam a mucosa.

**Hipertrofia e necrose de glândulas no esôfago, na faringe e na cavidade oral** - ocorre na deficiência de vitamina A e é causa de diminuição da secreção de muco e de enzimas digestórias.

### Proventrículo

**Proventriculose** - infecções virais (*Birnavirus*, *Hepevirus*), doenças linfoproliferativas (Marek, leucose linfóide), proliferação idiopática do GALT e outros fatores, como injúria ácida e viroses (vírus enterotrópicos), induzem a degeneração das células glandulares ou hipotrofia glandular. A proventriculose infecciosa com afluxo de células inflamatórias pode ser elucidada por infecções mistas (bactérias, fungos, vírus) ou causada por Aviadenovírus e, mais raramente, pelo *Cryptosporidium sp.*

**Miodistrofia e esteatite** - são causadas pela intoxicação por ionóforo, carência de vitamina E e selênio, ingestão de fedegoso, entre outros. A miodistrofia associada com infiltração e hiperplasia de células linfóides pode ser causada pelo vírus da encefalomielite aviária e pela *Salmonella Pullorum*. Estas alterações podem causar a dilatação do proventrículo, do mesmo modo que a redução da motilidade do TGE induzida pelo calor e pela bulimia.

**Proventriculite catarral** ou **necrótica** ou **ulcerativa** ou **hemorrágica** - na mucosa pode ser causada por agentes físicos ou químicos, fusariomicotoxinas, sulfas, olaquinox, cobre, fedegoso, entre outros, que promovem a redução do estado de repleção do proventrículo e a dilatação da luz glandular, paralelamente à redução do consumo. Os vírus da doença de Newcastle, da influenza aviária, da anemia infecciosa e da doença de Gumboro, *Erysipelotrix rhusiopathiae*, *Borrelia anserina*, *Candida albicans* e *Trichomonas gallinae* também podem causar proventriculite. Arsenicais e carbamatos podem induzir aumento da secreção de muco e redução da motilidade e, como consequência, uma proventriculite muco catarral.

**Neoplasias** ou **tumores** - na mucosa ou nos ácinos podem ser vistos na doença de Marek, na reticuloendoteliose e na leucose linfóide.

**Verminose** - nematóides como o *Dispharynx nasuta*, *Tetrameres americana*, *Tetrameres fissispina* são vistos somente em galinhas caipiras e aves selvagens.

**Regurgitação e necrose** - são causadas por aminas biogênicas (gizzerozina ou agonista da histamina), que induzem o vômito negro ou podem estar presentes em casos de infecção pancreática pelo Aviadenovírus.

## Moela

**Necrose hemorrágica no epitélio da junção proventrículo e moela** - é vista em caso de anemia infecciosa das galinhas, de intoxicação por sulfas ou por olaquinox, de doença de Newcastle, de doença de Gumboro, de carência vitamínica e em casos de distúrbios funcionais da motilidade gastroduodenal.

**Coilínea pálida e com fissura na região cárdica da moela** - qualquer distúrbio que cause redução da secreção de ácido clorídrico no proventrículo, ou destruição epitelial, ou a falta de renovação ou reposição celular nas glândulas tubulares da moela (carência nutricional de vitaminas, aflatoxinas), produz este quadro. Geralmente as aves apresentam perda de pigmentação. As fissuras geralmente se contaminam e, como consequência, ocorre a inflamação.

**Corrosão ou abrasão da membrana coilínea** - pode ser causada pela redução do consumo ou pela ingestão de fibra ou de cama, ou geradas secundariamente ou em associação com outros

quadros que comprometem o duodeno, o pâncreas e o proventrículo, ou com fatores que reduzem a mistura e a propulsão do alimento.

**Úlcera miliar na zona fúndica** - tem relação com problema no duodeno (duodenite) ou no pâncreas, sendo, na maioria das vezes, geradas por comprometimento funcional e infecção secundária por bactérias, fungos e leveduras como a *Candida sp.*

**Cicatrizes ou lesões na zona média da moela** - podem estar com contaminação secundária por fungos, leveduras e bactérias. Geralmente são seqüelas de lesões iniciadas na junção proventrículo e moela ou no fundo da moela, ocorridas há um certo tempo.

**Gastrite** - refere-se à necrose das glândulas tubulares situadas nos fundos das fossetas gástricas ou nos ápices dos ductos secretórios e é caracterizada pelo fácil descolamento ou adelgaçamento da membrana coelínea. A gastrite pode ser causada por nutrição marginal ou pela carência nutricional metabólica e viroses. Cobalto, cobre, zinco, arsênico, ferro e deficiência de vitamina B6 podem induzir este quadro.

**Distrofia muscular ou miodegeneração** - pode ser causada pela deficiência de vitamina E e selênio e pela intoxicação por ionóforo.

**Verminoses** - são vistas em galinhas caipiras às vezes em aves criadas comercialmente, e podem estar relacionadas com infestação pelo *Streptocara crassicauda*, pela *Cheilospirura hamulosa* ou pelo *Epomidiostomum uncinatum*.

**Manchas brancas na camada muscular** - podem ser ninhos de células linfóides e são vistas quando da infecção pelo vírus da encefalomielite aviária ou pela *Salmonella Pullorum* ou serem tumores relacionados com a doença de Marek, leucose linfóide ou leucose mielóide.

**Refluxo biliar** - é visto em qualquer doença septicêmica que cause uma redução do consumo e, também, após jejum prolongado. Na intoxicação por aminas biogênicas ou na infecção pelo Aviadenovírus, observa-se o vômito negro ou regurgitação da biliverdina ou da bilirrubina.

## Intestino

**Duodenite catarral com ou sem hiperemia ou congestão difusa** - ocorre devido à vasodilatação e à diapedese de eritrócitos na lâmina própria da vilosidade intestinal durante a fase inicial da inflamação aguda, como também durante a fase ativa da digestão e da absorção em aves que não recebem ração ad libitum e, ainda, pode ser causada pelo aumento da secreção endógena de substâncias vasoativas (serotonina e histamina) devido à fome ou pela ingestão de aminas biogênicas ou de micotoxinas ou pela infecção por trofozoítos da *Eimeria acervulina* ou devido à disbacteriose ou enterotoxemia bacteriana.

**Sufusões ou equimoses** - geralmente são vistas durante e após infecções virais, por exemplo, na doença de Gumboro e na bronquite infecciosa, ou em situações de acentuado estresse imunológico. Sufusões são caracterizadas por apresentar migração e acúmulo de granulócitos, hiperemia e hiperplasia de linfóide na lâmina própria das criptas de Lieberkühn ou na muscular mucosa da vilosidade e estarem associadas com inflamação aguda.

**Enterite ulcerativa e necrótica** - *Clostridium perfringens* e *Clostridium colinum* patogênicos induzem a necrose e a descamação epitelial no jejuno e no íleo devido à enterotoxemia ou lise de enterócitos. A associação de infestações elevadas por vermes cecais (*Heterakis* sp) ou de infecções por coccídeas (*E. tenella*, *E. brunetti*) ou pelo *Clostridium* sp com o *Histomonas meleagridis* induz a tiflíte ulcerativa.

**Acúmulo de cáseo e erosão focal na dobra ou ruga do ceco** - é vista na espiroquetose intestinal aviária (*Brachyspira* spp). A infecção pela *B. hyodysenteriae* causa diarreia e eliminação de fezes cecais enegrecidas, má digestão das gorduras, comprometimento do crescimento de frangos de corte e, em poedeiras, redução da produção e do tamanho dos ovos, e em avestruzes, enterite necrótica.

**Verminoses** - nemátodas como a *Ascaridia galli*, a *Capillaria* sp e o *Heterakis* sp e os cestodas (*Raillietina* sp é a mais comum) são vermes que, na dependência da taxa de infestação larvar e da presença e virulência dos vermes adultos, podem induzir alterações inflamatórias no intestino, competição por nutrientes e modificações da peristalse.

## Coccidioses

**Duodeno** - a *Eimeria acervulina*, durante a fase gametocítica ou sexuada do seu ciclo vital, produz lesões esbranquiçadas puntiformes ou em escada visíveis na mucosa e, no início do ciclo durante a fase assexuada, enterite hiperêmica muco catarral e descamação epitelial devido à presença de trofozoítos. Pontos brancos são visíveis pela serosa devido à presença de esquizontes. Durante ou ao término do ciclo vital, de acordo com a intensidade da infecção, observa-se perda das vilosidades e o adelgaçamento da parede intestinal. A *Eimeria praecox*, a *Eimeria mitis* e a *Eimeria mivatis* causam enterite mucóide. Durante e após a infecção por coccídeas pode ocorrer a disbacteriose ou colonização exacerbada pelo *Clostridium* spp.

**Jejuno e íleo** - durante a infecção pela *Eimeria maxima* podem ser vistas, pela serosa, petéquias e, no lúmen, conteúdo muco catarral amarelado, ou enterite hemorrágica associada com extensa descamação epitelial. A *Eimeria necatrix* produz uma lesão visível pela serosa em “sal e pimenta”, ou seja, com petéquias e pontos brancos e, no lúmen, descamação epitelial, necrose e sangramento. Nos dois casos, na fase de convalescença, nota-se congestão ou hiperemia das placas de Peyer ou complicação secundária pelo *Clostridium perfringens* ou emergência de disbacteriose.

**Ceco** - a *Eimeria tenella* induz lesão em sal e pimenta visível pela serosa e, à luz do ceco, enterite necrótico – hemorrágica ou retenção de exsudato caseoso no lúmen, que pode estar complicada ou associada com proliferação profusa de bactérias, por exemplo, *Clostridium* sp. Em caso de infecção discreta ou moderada, observa-se edema das pregas do ceco, áreas ou pontos brancos na mucosa e esvaziamento cecal.

**Reto** - a *Eimeria brunetti* causa necrose hemorrágica com descamação epitelial no reto, no íleo terminal e no ceco proximal. Em caso de *E. brunetti* observa-se, com frequência, prolapso retal.

**Enterite mucóide ou muco catarral** - refere-se a um aumento da descamação epitelial e da secreção de muco e pode estar relacionada com o início de qualquer tipo de infecção, com



disbacteriose, com coccidíases ou ser causada pela ingestão de fatores antinutricionais (betaglucanos, arabinoxilanos, glucosinolatos, pectinas, tanino) e pela deficiência de ácido fólico. A necrose ou descamação epitelial também pode ser causada pelo excesso de cálcio, de cobalto e de potássio, que também reduz o tônus da parede intestinal.

**Tiflíte** - Salmonelas (*S. Pullorum*, *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis*, *S. Thyphimurium*) e protozoários (*Eimeria tenella*, *Eimeria necatrix*) podem causar inflamação e retenção de exsudato caseoso no ceco. *Cryptosporidium sp.*, *Trichomonas sp.*, salmonelas paratífóides *Campylobacter jejuni*, *E. coli* enterotoxigênica ou aderente causam inflamação focal e hiperplasia linfóide no ceco.

**Vasculite** - a *Pasteurella multocida*, o vírus da doença Newcastle e da influenza aviária e a deficiência de vitamina K podem causar hemorragias intestinais.

**Viroses** - *Reovírus*, Rotavírus, Astrovírus, vírus da nefrite aviária, Calicivírus (Hepevírus), vírus da doença Gumboro e Entero-like vírus (ELV) colonizam as células epiteliais, causam lise celular e, como consequência, de acordo com a virulência e extensão da injúria, podem induzir a enterite secretória ou a enterite osmótica ou a má absorção.

## Pâncreas

**Redução do tamanho e fibrose** - em caso de mau desenvolvimento inicial ou de refugamento de frangos de corte devido a fatores exógenos ou de enterite viral (*Reovírus*, Togavírus, Arenavírus), ou de infecção pelo vírus da encefalomielite aviária e da pancreatite por corpúsculos de inclusão (Aviadenovírus), pode ocorrer a atrofia acinar associada ou não com a vacuolização das células exócrinas e fibrose intersticial. Este mesmo tipo de lesão tem sido descrito na deficiência de selênio e em caso de excesso de cobalto e de zinco na dieta. A deficiência de tiamina, de riboflavina, de ácido pantotênico e de niacina produzem, além da vacuolização das células exócrinas, a formação de corpúsculos hialinos e a diminuição da atividade secretória.

**Hipertrofia do pâncreas** - a hipertrofia dos ácinos pancreáticos e o aumento da síntese e da liberação de proteínas, ou de enzimas contidas nos grânulos de zimogênio, estão fisiologicamente elevadas quando são ministradas dietas hipercalóricas e hiperprotéicas durante o período inicial da vida de uma galinha ou quando a ração contém soja integral ou extrusada com atividade ureática elevada.

**Pancreatite** - doenças infecciosas, como a encefalomielite aviária e a pulorose, induzem a hiperplasia de ninhos linfóides. Necrose multifocal do pâncreas, perda da estrutura acinar e infiltração de heterófilos têm sido descritos em casos de influenza aviária, de pulorose e de pancreatite por corpúsculos de inclusão intranucleares causados por Aviadenovírus.

**Tumor** - no pâncreas pode ser visto em casos de doença de Marek e de reticuloendoteliose, ou estar associado com adenocarcinoma ou fibrosarcoma.

**Síndrome da hipoglicemia e mortalidade fulminante** (Hypoglycemia - Spiking Mortality Syndrome) - é uma enfermidade caracterizada pela ocorrência de hipoglicemia e redução dos níveis de glucagon (Davis *et al.*, 1995) desencadeados pelo consumo de peróxidos presentes em subproduto animal ou no óleo oxidado ou devido a infecção viral múltipla no trato digestivo

(Arenavírus, Aviadenovírus do sorotipo 12, vírus da encefalomielite aviária e da bronquite infecciosa das galinhas) associada com estresse e jejum prolongado, que favorecem a glicogenólise. Este quadro parece ter relação com uma afecção do pâncreas endócrino ou das ilhotas de Langerhans, que são constituídas de células alfa (alfa 1 ou delta e alfa 2, que são células escuras e grandes) e beta (que são as células claras). As células alfa 1 secretam gastrina, as alfa 2, glucagon e as beta, insulina. Como se sabe, a insulina e o glucagon, além de atuar no metabolismo glicídico, expressam também um efeito sobre o metabolismo energético, do crescimento e do desenvolvimento corporal.

## Fígado

O fígado é um órgão grande e bilobado, que possui muitas funções, dentre as quais uma função digestória relacionada com a produção da bile. A bile sintetizada no fígado é armazenada na vesícula biliar e conduzida para o duodeno distal através do ducto biliar. A bile é constituída por ácidos biliares (ácido chenodeoxicólico, cólico e alocólico), sais biliares (glicocolato, taurocolato), pigmentos (biliverdina e bilirrubina) e, nas aves com mais de 8 semanas, amilase. A função da bile é auxiliar na absorção das gorduras devido a sua ação emulsificante e efeitos ativantes sobre a lipase pancreática e na digestão dos carboidratos, devido à secreção e atividade da amilase. O fígado é considerado o guardião nutricional do corpo, portanto, fatores infecciosos, tóxicos, nutricionais ou hipóxicos podem interferir em sua função. O fígado pode apresentar:

**Neoplasias ou tumores** - devido à doença de Marek, à leucose linfóide ou mielóide e à reticuloendoteliase. Eventualmente, pode-se observar hepatomas ou adenocarcinomas ou fibrosarcomas.

**Hepatites bacterianas** - particularmente *Clostridium* sp e *Salmonella* sp podem causar a colangite ou a colangiohepatite e, como consequência, podemos observar fezes hipercólicas ou esteatorréicas. A endotoxemia pelo *Clostridium perfringens*, ou mesmo o botulismo, podem induzir a estase biliar à semelhança de septicemias bacterianas (*E. coli*, campilobacteriose, hepatite vibriônica). De acordo com a patogenicidade das bactérias, observamos hepatite aguda associada com necrose coagulativa purulenta ou fibrino purulenta como visto nos casos de infecção por salmonelas virulentas como a *S. Pullorum*, *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis* e *S. Thyphimurium* e nas colisepticemias. A hepatite do tipo trombofibrinosa associada com necrose de coagulação ocorre quando há infecção pela *Pasteurella multocida*, *Listeria monocytogenes* e *Enterococcus* sp.

**Hepatites virais** - são mais raras, porém, no caso da hepatite por corpúsculo de inclusão, podemos notar esteatorréia e o comprometimento multisistêmico do fígado, do pâncreas e do intestino (Goodwin, 1990; Tanimura *et al.*, 1993). Na síndrome do fígado e do baço grande (BLS – “Big Liver Spleen Syndrome”) causada pelo Hepevírus e na fase aguda da doença de Gumboro e da anemia infecciosa das galinhas, nota-se linfocitólise ou hepatose associada com o encontro de fígados pálidos e com aumento de volume.

**Hiperplasia linfóide** - a hiperplasia linfóide está presente em aves que convalescem de septicemias bacterianas ou virais e endotoxemias bacterianas ou que estão cronicamente infectadas pela *S. Pullorum*. Como o fígado estabelece uma relação íntima com intestino, quando ocorre o desequilíbrio da flora bacteriana ou a enterotoxemia, também observa-se o aumento da

atividade fagocítica das células de Küpffer, a hiperplasia linfóide e a hepatite. Bactérias enteroinvasivas e enterotoxigênicas causam enterite e comprometimento hepático devido ao estímulo da atividade fagocítica das células de Küpffer, que são os fagócitos residentes responsáveis pela limpeza de tudo que é absorvido pelo intestino e que cai na circulação esplâncnica ou no espaço porta (**Tabela III**).

**Tabela III** - Bactérias enteroinvasivas e enterotoxigênicas que causam hepatites em aves.

<b>Espécie</b>	<b>Período de maior prevalência ou fatores facilitadores</b>	<b>Tipo de enterite</b>	<b>Tipo de comprometimento hepático</b>
<i>Campylobacter jejuni</i>	Pintainhas de 1 a 2 semanas de idade	<b>Enterite secretória osmótica e má absorção</b> com acúmulo de muco e	Fígado reticulado e icterico e presença de necrose de coagulação devido à enterobacteremia.
	Quando associado com imunodeficiência e fatores que favorecem a translocação (estresse por calor, <i>Salmonella</i> sp)	<b>Enterite secretória</b> moderada ou discreta e redução do consumo	Cor avermelhada e degeneração hepatocelular com perda de reserva ou com glicogenólise e/ou endotoxemia e/ou bacteremia.
<i>E. coli</i> aviário intra-intestinal	<i>E. coli</i> ETEC ou AEEC em pinto ou quando associado com vírus enterotrópicos.	<b>Enterite osmótica e má absorção</b>	Bacteremia causando perihepatite e/ou hepatite aguda e/ou endotoxemia.
	↑ translocação bacteriana devido à imunodeficiência	<b>Enterite secretória</b>	Enterobacteremia causando fígado verde ou focos pálidos múltiplos evoluindo para hepatite heterofílica ou crônica ou granulomatosa, podendo ocorrer colisepticemia de origem entérica
<i>Clostridi</i>	Raro em	<b>Enterite</b>	Hepatite e Esplenite

<i>u m colinum</i>	galinhas Primários em perdizes Sucedendo <i>E.</i> <i>necatrix</i> ou <i>E. maxima</i>	<b>ulcerativa:</b> úlcera na muscular mucosa e parede muscular do ceco e do íleo com exsudação intensa de monócitos e heterófilos	necrótica coagulativa e presença de bactérias  Fígado reticulado com áreas amareladas ou acinzentadas ou focos amarelos devido à endotoxemia
<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> do tipo A e C	Ocorrem em qualquer idade e é mais grave quando associado com fatores facilitadores	<b>Enterite fibrino necrótica</b> no jejuno e no íleo, às vezes, no ceco	Colangiohepatite ou colecistite devido à enterobacteremia.

**Hiperplasia de granulócitos no espaço perivascular** - em casos de granulocitopenia ou de granulocitose, e sempre que é requerida uma resposta elevada de heterófilos, observa-se a hiperplasia de mielócitos ou granulócitos imaturos no espaço perivascular da região portal ou perilobular.

**Fígado consistente, de coloração escura e com bordos adelgaçados** - pode ter relação com a perda da capacidade de metabolização e de armazenamento de nutrientes desencadeada por formulações dietéticas inadequadas e/ou por sobrecarga hepática causada por substâncias tóxicas ou medicamentos, diminuição do consumo ou da absorção causando a redução e o aporte de metabólitos da digestão para o fígado, ou do aumento das necessidades metabólicas para atender a demanda de reparação tissular ou resposta imune, ou qualquer condição que aumente a demanda de energia, por exemplo, estresse por frio aumentando a necessidade de energia para superar a hipotermia e manter a temperatura corporal, induzindo glicogenólise.

**Fígado amarelo, friável e com bordos arredondados** - pode estar relacionado com gliconeogênese desencadeada por estímulos que aumentam subclínicamente a demanda por energia, ou ser causado por deficiências marginais ou pelo acúmulo de gorduras (vacúolos) devido ao comprometimento do metabolismo dos ácidos graxos induzido por endotoxinas bacterianas, tetracloreto de carbono, álcool ou de fatores que interferem com o metabolismo e a necessidade das gorduras, por exemplo, estresse por calor.

**Cirrose** - nesta condição pode-se observar fígados com bordos arredondados, consistentes, de tamanho menor ou com fibroplasia intersticial. A cirrose pode ser induzida pela hipertensão pulmonar desencadeando a ascite, ou vista em caso da síndrome hidropericárdica, ou doença de Angara causada por Aviadenovírus. A cirrose caracterizada pela presença de fígados amarelados ou ictéricos e consistentes ocorre devido à intoxicação crônica por aflatoxinas, ou devido à insuficiência pulmonar crônica induzida pela pneumomicose pulmonar (aspergilose) e à glicogenólise em pintos precoce.

**Granuloma hepático** - *Mycobacterium avium*, *Salmonella Pullorum*, septicemia por *E. coli* extraintestinal (colibacilose) e larvas de *Ascaridia galli* e *Heterakis* sp podem causar a hepatite granulomatosa. Granulomas hepáticos e hepatites crônicas também podem ser causados por bactérias enteroinvasivas (**Tabela III**), endotoxemia tóxica- infecciosa de origem intestinal, disbiose ou aumento da translocação de bactérias da flora intestinal (**Tabela IV**).

**Tabela IV** - Isolamento de bactérias de fígados condenados no abatedouro devido a hepatite.

<b>Tipo de Ave</b>	<b>Bactérias</b>	<b>Referência</b>	
Geral	<i>Actinomyces sp</i> <i>Corynebacterium sp</i> <i>Catenabacterium sp</i> <i>Nocardia sp</i> <i>Rhothia sp</i>	<i>Eubacterium sp</i> <i>Propionibacterium sp</i> <i>Enterococcus sp</i> <i>Staphylococcus sp</i>	Saif <i>et al.</i> , 2003
Perus	<i>Eubacterium sp</i> (G + LSFO), <i>Catenabacterium sp</i> <i>Catenabacterium sp</i> e <i>E. tortuosum</i> com quadro agravado quando associado com <i>Staphylococcus epidermidis</i> ou com <i>Enterococcus faecalis</i> .		Saif <i>et al.</i> , 2003
	Estreptococos anaeróbios facultativos > <i>Bacteroides spp</i> > <i>Catenabacterium spp</i> > <i>Lactobacillus</i> > <i>Micrococcus anaeróbios</i> > <i>Eubacterium spp</i> , <i>E. coli</i> , <i>Gaffkya spp</i> , cocos Gram + não identificados.		Moore, Gross, 1968
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , bacilos Gram positivos ( <i>Eubacterium tortuosum</i> ?)		Arp <i>et al.</i> , 1983
	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp</i> > <i>Streptococcus sp</i> , <i>Proteus mirabilis</i> > <i>Enterococcus sp</i> , <i>Staphylococcus sp</i> , totalizando 90,14% e mais 9,86% de <i>Clostridium spp</i> e coinfeção com <i>Ascaridia dissimilis</i> e/ou <i>Heterakis gallinarum</i> .		Norton <i>et al.</i> , 1996
	<i>Propionibacterium sp</i> , <i>Staphylococcus sp</i> , <i>Corynebacterium sp</i> .		Langheirinch, Schwab, 1972
Frangos de corte	LSFO "Long Segmented Filamentous Organisms" ou bacilos Gram + anaeróbicos.		Hill <i>et al.</i> , 1992
	<i>Eubacterium tortuosum</i> também causando granuloma no baço.		Hafner <i>et al.</i> , 1994
	<b>EUA:</b> bactérias filamentosas Gram +, LSFO, <i>Actinomyces sp</i> e <i>Nocardia sp</i> (também no ceco/baço).		Saif <i>et al.</i> , 2003
	<b>Holanda:</b> <i>E. coli</i> , <i>Bacteroides sp</i> , <i>Lactobacillus sp</i> , <i>Staphylococcus sp</i> e <i>Streptococcus sp</i> .		Supartika <i>et al.</i> , 2003
	<b>Canadá:</b> <i>E. coli</i> + <i>Streptococcus sp</i> , <i>Staphylococcus sp</i> , <i>Proteus sp</i> , <i>Clostridium sp</i> , <i>Aerobacter sp</i> , <i>Bacillus sp</i> , <i>Flavobacterium sp</i>		Mutalib, Riddel, 1982
	<b>UK:</b> <i>E. coli</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Pasteurella haemolytica</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> .		Randall <i>et al.</i> , 1983

**Intoxicações** - das mais variadas, até mesmo por aditivos alimentares, por exemplo, ácido 3-nitro (Shapiro *et al.*, 1988), podem causar o comprometimento da secreção de bile. Micotoxinas sempre comprometem e lesam o fígado em maior ou menor extensão, assim como a sulfa, o

cobalto, o selênio, os arsenicais, podem induzir fígado gordo ou a esteatose ou a gliconeogênese ou a glicogenólise. Tratamentos curativos ou profiláticos também causam sobrecarga hepática.

## Histofisiopatologia do TGE

No item anterior foram descritas a distribuição topográfica das afecções e infecções que ocorrem no TGE, mas para compreender porque são desencadeadas as gastroenteropatias funcionais ou metabólicas em aves convalescentes de uma enfermidade ou submetidas a estresses e deficiências nutricionais, é importante saber como é desencadeado um desequilíbrio da digestão, da modulação neuro-endócrina, da imunidade local e uma redução das defesas físicas e químicas. Sabe-se que injúrias tissulares, como a má formação dos tecidos e o desequilíbrios neuro-endócrinos, podem atuar como fatores desencadeantes das gastroenteropatias e resultar em síndromes ou sintomas semelhantes (má digestão, má absorção) ou em diarreias. Assim temos, baseado na histofisiologia e na modulação neuro-endócrina do tubo gastrintestinal, respostas desencadeadas à luz ou na mucosa do TGE, modificações de consumo, de voracidade, e do apetite da motilidade do bolo alimentar e interações com os órgãos anexos.

## Proteção não imune e imune da mucosa TGE

### Barreira física

A mucosa da região anterior do TGE é revestida por um epitélio pavimentoso estratificado que serve como barreira física de proteção contra a invasão, a corrosão por atrito e a ação do pH ácido ou das enzimas digestórias (pepsina, tripsina). Esta proteção é complementada pelo muco que é secretado pelas glândulas mucosas. Neste segmento do TGE, quando ocorre o desequilíbrio entre a taxa normal de descamação epitelial e a renovação celular, ocorre um aumento de susceptibilidade para infecções, ou a disfagia, ou a dificuldade para deglutição. São fatores que comprometem a integridade da barreira física:

**Redução da “renovação” de células** - devido à diminuição da divisão celular, por exemplo, em casos de ingestão de aflatoxina, deficiência nutricional, etc.

**Aftas ou úlceras** - causadas pelo aumento da degeneração ou da necrose do epitélio devido à ação de micotoxinas fusárias, sulfato de cobre, paraformaldeído, bactérias, fungos, protozoários, etc.

**Nódulos** - devido à hiperplasia epitelial e degeneração e descamação das células hiperplásticas em caso de boubia aviária eritematosa ou diftérica.

**Necrose da papila secretória ou metaplasia cuboidal** - do epitélio que reveste a mucosa dos ductos secretórios devido à deficiência de vitamina A.

A moela não é revestida internamente por um epitélio pavimentoso, mas possui a membrana coilínea, que é secretada pelas células das glândulas tubulares localizadas entre a membrana e o músculo. São fatores que reduzem a espessura, a solidificação e a resistência da membrana coilínea e que favorecem o aparecimento de úlceras gástricas ou na coilínea e contaminação

oportunista por bactérias, fungos e leveduras:

**Taxa de renovação celular das células secretoras da matriz coilínea** - aves jovens, do tipo frango de corte, apresentam uma taxa mais elevada de renovação do que as poedeiras comerciais e, por esta razão, a membrana coilínea é mais fina e de cor amarelo claro. A capacidade de renovação celular (figuras de mitose na cripta) pode estar limitada pela carência marginal de vitaminas, por exemplo, vitamina A, e pela aflatoxina, que inibe a divisão celular, ou estar modificada devido à excessiva degeneração ou redução da atividade metabólica das células profundas.

**Aumento da abrasão na superfície da membrana coilínea** - induz o aumento da secreção de coilínea e, portanto, se não supridas as necessidades metabólicas, a membrana poderá tornar-se mais fina. Por exemplo, pintos que ingerem cama em função de doenças ou erros de manejo, apresentam uma corrosão mais intensa da membrana coilínea e, portanto, precisam de uma maior taxa de renovação celular. A inclusão do sulfato de cobre em níveis elevados pode causar abrasão e, ainda, comprometimento da secreção glandular no proventrículo.

**Resistência da membrana coilínea** - depende do grau de solidificação da matriz coilínea, que ocorre no sentido da superfície epitelial para a luz da moela, à medida que o pH fica mais ácido. A resistência e a solidificação da membrana coilínea fica alterada quando ocorre degeneração ou descamação excessiva das células colunares que revestem o ductos secretórios ou quando ocorre a acloridria ou uma redução da secreção do ácido clorídrico devido a proventriculite ou atrofia proventricular, ou quando aumenta o refluxo enterogástrico favorecendo a entrada, em excesso, de enzimas pancreáticas e de bicarbonato de sódio que aumenta o pH do conteúdo luminal ou quando se agrega, ao alimento ou à água, substâncias basificantes ou quando a água de bebida tem pH muito elevado.

## Barreira química

No proventrículo, que é revestido por uma camada única de células prismáticas, e em todo o intestino, que é revestido pelos enterócitos absorptivos ou imaturos, o epitélio não confere proteção física suficiente para suportar a ação do alimento que transita no lúmen. Por esta razão, no proventrículo a mucosa é protegida pela atividade do muco secretado pelas células caliciformes, pelo pH ácido conferido pelo ácido clorídrico secretado pelas células oxínticas das glândulas proventriculares e pela passagem rápida do bolo alimentar por este segmento. Em função da ausência de uma barreira física, a mucosa do proventrículo é muito susceptível a injúrias de natureza química e corrosiva, por exemplo, causadas por fusariomicotoxinas, paraformaldeído e sulfato de cobre, ou pela ação do suco gástrico, quando ocorre estase ou redução da motilidade do bolo alimentar ou o vômito negro devido à ação de aminas biogênicas exógenas ou endógenas. No proventrículo, assim como no intestino, o muco secretado pelas células caliciformes lubrifica e protege a mucosa e sempre que no alimento ingerido ou no ingesta estão presentes agentes nocivos, ocorre o aumento da quantidade de células caliciformes, por conseguinte, de muco, que tem pH ácido e contém lisosimas e anticorpos (IgA). São fatores que reduzem a atividade secretória do muco:

**Deficiência de vitamina A** - influenciando na taxa de diferenciação e na atividade secretória das células caliciformes.



**Proliferação excessiva de células linfóides** - nas glândulas mucosas da orofaringe, do esôfago e das tonsilas esofagianas devido à exposição natural ou ativa (vacinação), exacerbada ou continuada por substâncias antigênicas e imunogênicas ou por vírus vacinais epiteliotrópicos.

**Degeneração das células secretoras de muco** - pode ser causada por vírus, por exemplo, *Coronavírus* dos perus, algumas amostras do vírus da doença de Newcastle e da influenza aviária, vírus enterotrópico da bronquite infecciosa das galinhas e por protozoários como as coccídeas e os criptosporídeos.

No intestino delgado, principalmente no jejuno e no íleo ou no ceco, a quantidade de células caliciformes é mais elevada do que no duodeno, porque nestas regiões a mucosa tem que estar protegida, respectivamente, da ação do suco gástrico e das enzimas pancreáticas presentes no quimo e da flora bacteriana que coloniza a região distal do íleo e do ceco. Nestas condições, podemos dizer que a presença de uma certa quantidade de muco não significa que está ocorrendo uma enterite mucóide patológica, por exemplo, como aquela vista durante a infecção assintomática ou ao início do ciclo vital da *Eimeria* sp (fase esporozoítica e trofozoítica) ou quando da ingestão de peróxidos ou de ração degradada contendo aminas biogênicas. Na região distal do intestino, a enterite mucóide pode ser funcional e ser encontrada quando a ração é retirada ou houve restrição ou queda de consumo induzida por inúmeros fatores infecciosos, metabólicos ou nutricionais (Fussell, 1996). Neste caso, nota-se que houve secreção e acúmulo de muco sobre o epitélio, o qual se mistura com as células epiteliais de descamação natural, como se fosse uma enterite mucocatarral – este mecanismo é muito importante para proteger a mucosa da ação das enzimas e do pH local. Quando as aves passam por períodos prolongados de restrição de consumo ou retirada brusca de alimento, pode-se encontrar, na luz do jejuno e do íleo, a deposição de um material fluido de aspecto mucoso e de coloração alaranjada, representando acúmulo de muco e secreção de água e de carotenóides para conferir proteção da mucosa.

### **Sistema imune associado ao TGE (GALT)**

Por toda a extensão do TGE, na lâmina própria e na muscular mucosa, encontra-se um tecido linforeticlar que serve de sustentação para os leucócitos que migram durante a resposta inflamatória, para situar fagócitos residentes e permitir a amplificação clonal e hiperplástica de linfócitos durante um estímulo antigênico. No proventrículo e no intestino, que são áreas menos protegidas pelas barreiras físicas e sujeitas a um número maior e diverso de injúrias, na lâmina própria e na muscular mucosa, existem como células vigilantes ou leucócitos residentes, linfócitos (80%), monócitos (10 a 15%), outras células mononucleadas (5%), plasmócitos e heterófilos (menos de 1%) e no intestino, ainda, linfócitos T que se infiltram na camada epitelial. Além deste sistema de defesa inato, o trato digestivo da ave que não possui linfonodos como os mamíferos, possui tecidos linfóides dispersos por toda a sua extensão, que são capazes de responder através de resposta imune celular e humoral. Aparentemente, como em humanos, o trato digestivo das aves parece conter tecido linfóide tanto quanto o baço e quase 80% dos linfócitos B que produzem anticorpos podem estar presentes na mucosa intestinal.

Tudo que adentra o tubo digestivo, seja bactérias, vírus, toxinas e outros alérgenos, atua como fonte de estímulo antigênico e imunomodulador não específico, que influencia no número, na distribuição e na condição hiperplásica dos GALTs e, ainda, na regulação da resposta imune local. O sistema GALT e MALT atua focalizando uma resposta específica contra antígenos

ofensivos, como também pode apresentar um papel imunoregulatório. Ele pode ser responsável pela:

**Primeira linha de defesa** - iniciada com os linfócitos T, estimulando a proliferação de células caliciformes e a secreção de muco, a amplificação clonal de linfócitos B sensibilizados para plasmócitos secretores de IgA e a exclusão imune não inflamatória, prevenindo aderência e penetração de agentes infecciosos e tóxicos através da neutralização dos mesmos e expulsão do patógeno.

**Desencadeamento da segunda linha de defesa** - através da ativação de macrófagos e de linfócitos T em cooperação com os linfócitos B que secretam anticorpos e, concomitante degranulação dos mastócitos, que ao degranular liberam aminas vasoativas (histamina) e fatores quimiotáticos que estimulam a migração de mais células inflamatórias e, por conseguinte, a implantação de resposta inflamatória e, em um passo subsequente, a imunoregulação. Os granulócitos que migram para a área lesionada matam o parasita por meio de um mecanismo de citotoxicidade dependente de anticorpos e degranulam, liberando antagonistas dos produtos liberados pelos mastócitos, regulando a intensidade da inflamação.

A imunodeficiência do sistema imune gastrointestinal, que pode ser desencadeada por agentes que lesam ou modificam a função dos leucócitos vigilantes ou dos linfócitos virgens B e T que migram para as tonsilas cecais, é o principal fator desencadeante de infecções persistentes ou secundárias ou oportunistas. São fatores que causam imunodeficiência no TGE:

**Redução da diferenciação ou da amplificação clonal** - micotoxinas do tipo aflatoxina que inibem a síntese de DNA e, portanto, a diferenciação celular, fusariomicotoxinas em doses elevadas, deficiência nutricional (selênio, vitamina E) e nutrição marginal são causas de redução da população de células imunocompetentes ou da imunocompetência e, ainda, atuam como condições agravantes para reposição celular. A aflatoxina também diminui a atividade fagocítica dos macrófagos e a atividade microbicida dos heterófilos.

**Linfocitólise ou destruição dos fagócitos residentes** - macrófagos peritoniais, células de Küpffer e linfócitos podem ser lisados pela multiplicação intracelular de vírus da doença de Newcastle, da doença de Marek, da doença de Gumboro e da anemia infecciosa das galinhas. A lise das células linfoepiteliais ou das células M, que são células captadoras e transportadoras de antígenos que estão presentes nas placas de Peyer e nas tonsilas cecais, é induzida pelo *Reovírus*. O vírus da doença de Gumboro, da Marek, da Newcastle e da anemia infecciosa das galinhas, *Salmonella sp.*, *Campylobacter sp.*, aflatoxina e tricotecenas podem estimular a apoptose e, portanto, desencadear imunodeficiência que favorece a sobrevivência e a multiplicação de outros microorganismos. Como conseqüência das infecções nas células do sistema GALT, observa-se imunossupressão local e aumento de predisposição para infecções com outros agentes, como também, para enterite linfocítica. Agentes linfocitolíticos, além de causarem imunodeficiência, contribuem com o incremento do estresse imunológico.

**Redução da capacidade de destruição endocítica de antígenos internalizados pelos fagócitos** - *S. Enteritidis*, *S. Thyphimurium*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *Yersinia sp.*, *Pseudomonas sp.* e *Bordetella sp.* possuem o sistema de secreção do tipo III, que permite a translocação ou a injeção de proteínas bacterianas no citoplasma da célula do hospedeiro, que alteram, neutralizam ou

destruem a célula hospedeira e permitem a própria sobrevivência, endógena ou extracelular ou de outras bactérias (Gyles *et al.*, 2004). Por exemplo:

- *Yersinia* spp injetam Yops que, internalizados no citoplasma da célula do hospedeiro, favorecem a permanência extracelular e a evasão dos efeitos bactericidas dos granulócitos e dos macrófagos porque impedem a fagocitose.
- *Campylobacter jejuni* virulentos sobrevivem fora e dentro de macrófagos porque secretam superóxido dismutase (sod B) e catalase (cat A) que inativam os radicais livres secretados pelos fagolisossomos citoplasmáticos.
- *Salmonella* spp expressam o sistema de secreção do tipo III que transloca proteínas que permite a sua fagocitose e a sua sobrevivência intracelular e, também, proteínas que interferem com o processamento e a destruição endocítica de antígenos internalizados por macrófagos porque inibe a maturação do fagolisossomo impedindo a liberação de radicais livres (superóxido e peróxido de hidrogênio) e, por esta razão, também favorecem a sobrevivência endógena e extracelular de bactérias, por exemplo, do *Campylobacter jejuni* avirulento e virulento.

A hiperreatividade do sistema GALT também causa gastroenteropatias porque ocorre:

**Aumento da liberação de linfocinas devido ao estresse imunológico** - o estímulo excessivo dos macrófagos residentes e dos linfócitos causa o aumento da secreção de interleucinas (IL1 e IL6) e do fator de necrose de tumor (TNF $\alpha$ ) que induzem febre, anorexia e a redução da secreção enzimática e da motilidade intestinal. Enquanto a exposição das aves a vacinas (Gumboro, Newcastle, Marek, bronquite), ou a doses subtóxicas de fusariomicotoxinas, estimulam a proliferação das células do sistema GALT, a exposição exagerada ou simultânea a imunógenos ou a doses elevadas de toxinas fusáricas induzem o estresse imunológico. Vacinas muito imunogênicas, além de induzirem estresse imunológico, causam hipertrofia das placas de Peyer e das tonsilas cecais e da tonsila proventrículo - esofágiana e hiperplasia acentuada das células do MALT e de centros germinativos. A hipertrofia da tonsila esofágiana e das tonsilas cecais causa a estenose luminal, que interfere com o fluxo do bolo alimentar e com as respostas de relaxamento e de contração dos esfíncteres. A hipertrofia da tonsila esofágiana causa a dilatação do proventrículo.

**Duodenite hemorrágica** - às vezes também catarral, que é notada somente ao exame da mucosa intestinal, é caracterizada por uma resposta vascular, no qual os vasos fenestrados se apresentam com o lúmen repleto de hemáceas ou se nota a diapedese dos eritrócitos para o interstício. Esta reação vascular é mediada pela liberação endógena de histamina e de serotonina, que regula a vasodilatação e a vasoconstricção, porém ela pode ser mimetizada por substâncias como a gizzerozina, que é uma amina biogênica exógena semelhante à histamina, que pode estar presente na farinha de peixe, em subprodutos de origem animal e em proteínas em decomposição ou na ração em putrefação. Endotoxinas bacterianas, como os lipolissacárides (LPS) liberados pela morte natural das bactérias que fazem parte da flora normal ou após antibioticoterapia com antimicrobianos bactericidas, ou mesmo exotoxinas do *Clostridium perfringens* em concentrações elevadas, podem induzir o mesmo quadro, porque estimulam a liberação de aminas biogênicas endógenas ou porque inativam a enzima monoaminoperoxidase e diaminoperoxidase que inativam as aminas biogênicas.

**Sufusões ou equimoses** - representadas por máculas vermelhas vistas pela parede do intestino, são alterações mais profundas, localizadas na muscular mucosa da região das criptas de Lieberkühn e são microscopicamente caracterizadas por acúmulos focais de hemáceas, granulócitos maduros e imaturos e de células mononucleadas. Segundo Riddell (1987), estes focos não são de natureza inflamatória e representam sítios de granulocitose ectópica induzida pela heteropenia, ou pelo estímulo para resposta heterofílica. Estes focos são resultantes de uma condição de estresse imunológico que pode ser esclarecida por qualquer tipo de problema que induza imunodeficiência (doenças ou fatores imunossupressores e carência nutricional) ou o aumento de uma resposta granulocítica.

## **Neuroendócrino-Fisiopatologia do TGE**

O TGE possui células endócrinas que secretam hormônios, como colecistocinina, neurotensina, secretina, gastrina, entre outras, que modulam a motilidade, a secreção de enzimas e o transporte ativo de nutrientes. A secreção de hormônios pode estar comprometida quando ocorre a lise das células endócrinas localizadas na mucosa intestinal, ou quando há um desequilíbrio na liberação de substâncias neurotransmissoras, como a acetil colina (SNAP) ou a norepinefrina (SNAS), em resposta a estresses e doenças. São considerados moduladores da atividade secretória e da motilidade, portanto das respostas de expulsão ou de retenção de substâncias enteropatogênicas, os seguintes elementos:

**Mediadores dos ciclos peristálticos enterogástricos** – a serotonina modula o fluxo descendente da parte fluida do conteúdo da moela para o intestino e o retorno do quimo embebido com as enzimas digestórias e outros hormônios é modulado pela enterogastrona (**Figura 4**). As aminas vasoativas, como a histamina e a serotonina, são secretadas por todo o trajeto do proventrículo até o reto. A produção desta substância é muito importante na modulação do transporte ativo, da atividade das células transportadoras e da contração muscular. A hiperemia ativa durante a digestão é uma manifestação fisiológica modulada pelas aminas vasoativas endógenas, mas observa-se hiperemia catarral, distensão luminal ou formação de áreas de constrição (aspecto de salsicha) quando há excesso de sua liberação devido à ação de substâncias irritantes ou do consumo de agonistas (aminas biogênicas). A neurotensina está presente nas células do intestino e é responsável pela contração muscular (motilidade intestinal). Como as aminas vasoativas, o desequilíbrio de sua secreção pode causar o “balonamento” intestinal e a intussuscepção, além de comprometer a digestão. A gastrina é produzida e secretada principalmente no proventrículo, na moela na região do piloro e no duodeno e, em menor proporção, no jejuno. Ela é responsável pelo estímulo da secreção do ácido clorídrico e da pepsina. O polipeptídeo pancreático, que é liberado no proventrículo, no duodeno e no pâncreas, possui a mesma ação biológica da gastrina. Como consequência da redução da biossíntese destes hormônios, observamos uma diminuição da digestão química e da secreção de ácido clorídrico, portanto favorecendo a formação de úlceras de moela devido à má solidificação da matriz colínea. Afecções no proventrículo podem ter implicações sérias na modulação do processo digestório porque, além de comprometer a secreção da gastrina e do polipeptídeo pancreático, podem alterar a secreção de bombesina, que estimula a secreção pancreática e a contração do papo.

**Hormônios que diminuem o esvaziamento gástrico** - o duodeno e o jejuno são sítios de biossíntese da secretina, que modula a secreção de bicarbonato de sódio pelo pâncreas e inibe

discretamente a motilidade gástrica. Também secretam colecistocinina, que potencializa a ação da secretina e estimula o esvaziamento da vesícula biliar. O peptídeo inibitório gástrico também é secretado no duodeno e jejuno e estimula a secreção de enzimas pancreáticas. Estes hormônios diminuem a motilidade gástrica e, portanto, quando há diminuição da sua secreção ou quando ocorre redução do refluxo enterogástrico, há uma diminuição da digestão mecânica e, como consequência, passagem de alimento não digerido e aumento da predisposição para formação de úlceras na moela.

**Mediadores dos movimentos propulsivos ou da peristalse intestinal** - os movimentos propulsivos são importantes para que ocorra o trânsito do digesta e a digestão e absorção dos micronutrientes, como também para que haja a expulsão de patógenos, toxinas bacterianas e peróxidos e outras substâncias irritantes que estão no lúmen do intestino, ou seja, é um mecanismo intrínseco de proteção do TGE. São hormônios que potencializam a motilidade intestinal: gastrina, colecistocinina, insulina e a serotonina. A secretina e o glucagon inibem a motilidade. A secreção destes hormônios é modulada principalmente pelo plexo de Meissner ou submucoso, que controla o movimento de mistura do bolo alimentar. O plexo mioentérico, ou de Auerbach, controla os movimentos de propulsão. Os dois plexos estão conectados com os neurônios pós ganglionares do sistema nervoso autônomo parassimpático (SNAP), que quando estimulados, durante uma infecção, liberam a acetil colina que intensifica a maioria das atividades do TGE, aumentando inclusive o peristaltismo intestinal, por conseguinte, favorecendo o trânsito rápido do bolo alimentar e a diarreia. São fatores que estimulam aumento de resposta do SNAP:

- Enterites bacterianas, toxigênicas, parasitárias, virais.
- Intoxicação por carbamatos, organo- fosforados, diclorvós, compostos quaternários de amônia.
- Excesso de sódio, potássio, cloreto de sódio e ionóforos.
- Dieta com excesso de fibra, gordura ranci- ficada ou com destruição de ácidos graxos.
- Deficiência de biotina, ácido nicotínico, vitamina A ou de tiamina.

O sistema nervoso autônomo simpático (SNAS) age de modo contrário ou oposto ao sistema nervoso parassimpático: a liberação de norepinefrina diminui ou inibe a motilidade intestinal, portanto favorece a manifestação de efeitos lesivos na mucosa, a proliferação de bactérias da flora bacteriana (disbacteriose), a enterotoxemia, a endotoxemia e a translocação de bactérias para a corrente sanguínea. Nos frangos de corte geneticamente selecionados para elevado desempenho, durante as primeiras semanas de vida, existe domínio natural do SNAS, que induz a baixa voracidade e favorece uma melhor conversão alimentar, porque a peristalse é fisiologicamente mais baixa do que a vista em aves convencionais, no entanto, este tipo de ave é mais susceptível ao estresse e à disbacteriose. Quando as fibras nervosas pré-ganglionares da adrenal são estimuladas, ocorre a liberação imediata de norepinefrina (noradre- nalina) e epinefrina (adrenalina). Enquanto 80% da norepinefrina estimula o plexo nervoso entérico a relaxar, 80% da epinefrina cai na circulação sanguínea e interfere com a termogênese promovendo a glicólise e glicogenólise hepática, a redução da secreção de enzimas pancreáticas e o aumento da insulina. Em situações de estresse também ocorre a liberação de glicocorticóides e de mineralo- corticóides (aldosterona). Os mineralocorticóides atuam no intestino delgado e grosso estimulando a perda de potássio e de água, induzindo hipocalcemia e aumento da retenção de sódio, ou seja, favorecendo a enterite secretória ou o acúmulo de água na luz do intestino. O

cortisol, quando liberado sob um nível de estresse moderado ou prolongado, causa imunodeficiência, estimulando a apoptose e reduzindo a quantidade de linfócitos e de monócitos e promovendo a secreção de muco e a migração de granulócitos. No entanto, quando o nível de estresse é elevado, o cortisol promove aumento do trânsito intestinal e expressa um efeito anti-inflamatório, reduzindo a temperatura corporal ou a febre (IL1).

Sob condições fisiológicas, existe um equilíbrio entre os estímulos do SNAS e do SNAP sobre o sistema nervoso entérico, no entanto, fatores endógenos como exógenos podem estimular o domínio do SNAS, direta e indiretamente, devido a:

**Estímulo direto do SNAS** - é desencadeado pela deficiência de tiamina, estresse, serotonina, dieta com excesso de lipídeos e proteínas, alimentos de baixa digestibilidade ou com baixa granulometria ou com pouca fibra e ambiente escuro.

**Efeito indireto** - é desencadeado por fatores que bloqueiam o SNAP ou a ação da acetil colina, resultando em domínio do SNAS. Como exemplo de fatores indutores deste desequilíbrio, temos a deficiência de colina, de riboflavina (vitamina B12), de fatores que interferem com a biossíntese da colina (metionina, ácido pantotênico, T-butilaminoetanol), de sódio, de cloro, desequilíbrio ácido-básico, toxina botulínica e aumento da concentração de óxido nítrico, nitratos e nitritos.

**Mediadores do desenvolvimento de TGE** - durante o período de desenvolvimento embrionário, a formação dos enterócitos é sustentada pelos nutrientes essenciais que são transferidos pela reprodutora, via clara e gema e hormônios como a somatomedina (hormônio de crescimento), liberada

pela neurohipófise e a insulina, que é secretada pelas células das ilhotas de Langherhans localizadas no pâncreas. No período final do desenvolvimento embrionário e nos primeiros dias de idade, os enterócitos se especializam e ocorre o desenvolvimento dos vilos sob o estímulo da somatomedina, insulina, corticosterona, prolactina e da triiodotiroxina. Durante o período pós-natal, até três a quatro semanas de idade, sob estímulo da neurohipófise, há liberação do hormônio de crescimento e o seu acúmulo no fígado (que sustenta o ganho compensatório na fase de engorda do frango de corte), da insulina e de corticosteróide sob modulação do SNA e a liberação de tiroxina, que promove, através do estímulo para aumento do consumo de ração, o desenvolvimento trófico das vilosidades intestinais e o equilíbrio entre a renovação e a perda por envelhecimento dos enterócitos diferenciados.

Quando a ave é submetida ao estresse por calor, ou tem febre ou aumento da temperatura basal, por exemplo, durante a digestão, os neurônios sensitivos da neurohipófise são estimulados e, como consequência, há redução do consumo e da liberação do hormônio adrenocortical que estimula a adrenal a liberar epinefrina e norepinefrina e do hormônio do crescimento e aumento da liberação do hormônio tireotrófico, que induz o aumento do tamanho da tireóide e a redução da triiodotiroxina plasmática. Este conjunto de eventos neuroendócrinos induz a redução do consumo, do apetite e da voracidade, diminuição do comprimento do intestino, da proliferação dos enterócitos, da secreção de enzimas e da motilidade intestinal e aumenta as necessidades de vitamina A e o conjunto destes fatores, contribui para que ocorra mau desenvolvimento corporal ou nanismo devido à redução da digestão e da absorção de nutrientes.

O ceco, o reto e a cloaca (*proctodeum*, *urodeum* e *coprodeum*) possuem um epitélio especializado que é capaz de absorver íons e água, e metabolizar os ácidos graxos voláteis sintetizados pelas bactérias e degradar o ácido úrico da urina formando peptídios e aminoácidos que contribuem com a homeostasia nutricional e osmótica e estão anatomicamente posicionados e controlados neurologicamente de uma forma que permite a recuperação final e ajuste da urina e do quimo. As contrações retroperistálticas forçam a urina e o quimo a adentrarem o ceco, onde ocorre a fermentação microbiana e a absorção de nutrientes, de íons e da água e a reciclagem do nitrogênio da amônia, via atividade microbiana. O movimento retrógrado da urina é influenciado pelos níveis de nitrogênio presentes na dieta, enquanto que a osmolaridade e o estado de hidratação modulam as contrações musculares colônicas retroperistálticas. O cólon e a base do ceco, adjacente à junção ileocecal, possuem vilos e o coprodeum e o corpo do ceco possuem rugas ou dobras achatadas da mucosa, que amplificam a área de exposição das células que revestem a superfície mucosa. No cólon e no ceco, as células colunares possuem, na área exposta ao lúmen, uma bordadura em escova muito desenvolvida, mas no coprodeum, as microvilosidades são curtas e relativamente esparsas em aves que recebem dietas normais ou ricas em sal, mas em aves que recebem dietas pobres em sal, os microvilos são muito desenvolvidos. A camada epitelial do intestino grosso possui, além das células absorptivas, células caliciformes e células ricas em mitocôndrias. As células ricas em mitocôndrias são também denominadas de células em escova, que expressam a anidrase carbônica e um sistema de troca de sódio e hidrogênio que possibilita a secreção de prótons e a absorção de ácidos graxos voláteis. O epitélio possui uma elevada capacidade de absorção de cloreto de sódio e de solutos ligados com a água que é absorvida e secreção de íons  $H^+$  e  $K^+$  e cloretos. A atividade de transporte é controlada pelos níveis de sal na dieta e pela aldosterona. O transporte de água, íons e outros substratos também são controlados pela corticosterona, prolactina e a arginina vasotocina, que podem estar em níveis elevados durante a privação de água, adipsia e consumo de níveis elevados de sal. Quando ocorre o desequilíbrio de qualquer um dos fatores que regulam os níveis de  $Na^+$  e  $Cl^-$ , observa-se o comprometimento da taxa de crescimento, do desenvolvimento do osso e do conteúdo de umidade nas fezes. As células absorptivas também absorvem os gases liberados durante a fermentação bacteriana do quimo e, quando a mucosa é lesada, ocorre o acúmulo de gases ou a flatulência e, como consequência da tiflíte ou da injúria local, o esvaziamento cecal resultando em ceco sem conteúdo.

## Manifestações clínicas das enfermidades que acometem o TGE

A despeito da grande diversidade de fatores que comprometem a função ou que lesam o TGE, as respostas frente à disfunção ou à agressão quase sempre resultam em poucos distúrbios comportamentais ou funcionais, ou sinais e sintomas:

### Queda de consumo

As galinhas, diferente de muitas espécies animais, possuem a capacidade de efetuar o consumo de ração imediatamente após o nascimento e este comportamento é hereditário e está relacionado com os níveis de catecolaminas (Barbato, 1994). A redução do consumo é um dos primeiros sinais que se manifesta em qualquer tipo de doença, por esta razão, é importante diferenciar se a anorexia está sendo causada por septicemia ou por gastroenterite ou se ela está causando uma gastroenteropatia. São fatores que podem influenciar no consumo de ração na ausência de

enterites e modificar o ganho de peso e a conversão alimentar: diferenças genéticas, tipo de dieta (Denbow 1994), fatores ambientais, luminosidade, temperatura (May, Lott, 1994), dificuldade de locomoção, deficiência de piridoxina (vitamina B6), de sódio e de zinco, e consumo seletivo ou aberrante ou a alotrofagia (cama).

São condições que podem ter relação com a queda do consumo:

### **Receptores para repleção (estado de distensão do papo) e osmoreceptores no trato digestivo**

- podem ser modificados por lesões locais, ingestão de soluções hiperosmóticas de cloreto de potássio, hipertonicidade luminal e falta ou redução do consumo de água. O papo e o esôfago funcionam como sinalizadores do apetite, portanto lesões presentes nestes segmentos interferem muito com o apetite e a voracidade por alimento. Os processos que causam a dilatação do papo e do esôfago e, conseqüentemente, promovem a estase do alimento, tiram ou diminuem o apetite da ave e, nas reprodutoras pesadas, este mecanismo é extensivamente explorado para controlar o peso corporal. No entanto, a falta de consumo ou da disponibilidade de água em aves com o papo cheio de alimento pode gerar a atonia muscular e, como consequência, o quadro de timpanismo. O timpanismo pode ser agravado pela fermentação do alimento retido no papo, como também pode ser causado pela ingestão de alimentos fermentados. Na doença de Marek, a lesão do nervo vago ou a presença de linfoma no proventrículo podem induzir a atonia da musculatura do papo, com consequente dilatação e inflamação da mucosa. O comprometimento do esvaziamento do esôfago devido a constrição e falta de relaxamento do esfíncter esofágico (acalasia), modulado pelo SNAS, causa papo pendular ou a impactação de alimento.

**Comprometimento da apreensão do alimento** - às vezes, a galinha não apresenta inapetência, mas não come porque não consegue pegar o alimento com o bico. Este tipo de problema ocorre quando é feita uma debicagem profunda, que causa dor, hemorragia, deformação ou formação de um botão corneificado exuberante no bico ou quando há má formação do bico (bico torto ou bico de papagaio) devido a deficiência nutricional. Nas poedeiras leves, cuja capacidade de ingestão é naturalmente baixa, em não havendo suplementação adequada da ração, podemos ter graves consequências sobre o desempenho futuro do lote. Em algumas doenças, tais como a bouba aviária e a candidíase e, em caso de ingestão de alimento deteriorado, corpo estranho, fusariomicototoxicose, as lesões ulcerativas ou aftas na mucosa da boca, comprometem também a apreensão do alimento.

**Modificação do apetite** - o valor calórico do alimento e as reservas de tecido adiposo, fisiologicamente mantidos em homeostasia pelo fígado e pelo pâncreas endócrino, modificam o apetite das aves mediante um controle hipotalâmico que modula a quantidade de alimento que é ingerida. Agentes lesivos para hepatócitos (por exemplo, a aflatoxina e *Salmonella* sp.), processos febris desencadeados por vários agentes microbianos, estresse por calor, e todas as causas tóxicas que afetam a função da adrenal ou tem efeito radiomimético (fusariomicotoxinas) também podem induzir inapetência.

**Bloqueio na neurotransmissão** - o bloqueio ou o comprometimento do sistema nervoso central ou periférico ou o do sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático podem ser desencadeados por toxinas clostridianas, intoxicação alimentar por ionóforo, tetania hipercalcêmica ou hiperfosfatêmica e pela neurolinfomatose induzida pelo vírus da doença de Marek ou da reticuloendoteliose.



**Comprometimento da deglutição ou disfagia** - a deglutição é um fenômeno que ocorre na cavidade bucal e que envolve três mecanismos, o primeiro é a ação ativa e propulsora da língua que empurra o alimento para o teto da boca, o segundo são os movimentos da cabeça e do pescoço e o terceiro é a pressão negativa do esôfago. Posteriormente, por gravidade, o alimento desce para o papo. Este mecanismo pode estar comprometido nas seguintes condições: ração muito farelada, ração seca, lesões na língua ou deformidades congênitas (deformação do bico ou da mandíbula), neurites (Marek), lesões no epitélio (bouba, fusariomicotoxinas, monilíase, etc). A deglutição do alimento pode estar alterada na hiperqueratose do epitélio bucal, faringeano e esofágico causada pela deficiência de vitamina A, carências polivitamínicas causando edema e necrose da língua com características de uma glossite gelatinosa e carência de vitamina E e de selênio, induzindo distrofia muscular ou a diátese exsudativa no tecido subcutâneo do pescoço e no músculo peri-esofágico. A contaminação de vacinas, erros de aplicação das vacinas de Marek e da bouba aviária e vacinas oleosas no pescoço podem produzir lesões inflamatórias na região cervical e, por contigüidade, lesar a faringe, o esôfago e os músculos cervicais.

**Regurgitação e vômito** - a regurgitação e o vômito são fenômenos pouco conhecidos e raros na galinha e, talvez, estes processos não ocorram com frequência porque o alimento deglutido passa rapidamente para o papo e, em função do comprimento do esôfago e da posição do pescoço, mesmo que ocorra o reflexo do vômito, o alimento não retorna para a cavidade bucal. Em caso de dilatação ou de timpanismo do papo devido à repleção do compartimento engúvio-esofágico, o alimento pode ser regurgitado. A ocorrência de vômito foi experimentalmente demonstrada na micotoxicose induzida pelo deoxinivalenol (DON ou Vomitoxina) sintetizado pelo *Fusarium roseum*. A ingestão de doses elevadas de gizzerozina ou de farinha de peixe ou ração degradada contendo esta amina biogênica induz um quadro denominado de vômito negro. Também se nota, em casos de intoxicação crônica por ionóforo ou por carbamatos, a ocorrência de regurgitação do bolo alimentar. O quadro mais comum que ocorre nas aves, e que tem relação com regurgitação ou vômito subclínico, é o refluxo de bile para a moela e o proventrículo. Os frangos de corte são geneticamente vorazes para o consumo, ou seja, expressam bulimia, por esta razão, quando o consumo é restrito, por exemplo, por falta de ração, após a realimentação pode ocorrer o vômito, a passagem de ração, o trânsito rápido e fígados gordos devido ao aumento da taxa metabólica induzida pelo jejum.

### **Comprometimento das evacuações**

O quadro que causa a alteração do volume das fezes e que é comumente encontrado no campo é a diarreia, que significa evacuação frequente e líquida e que é relacionada com as gastroenteropatias. Diarreia não tem o mesmo significado que disenteria decorrente de gastroenterites, que além de alterar o volume das fezes causa uma eliminação profusa de fezes com células de descamadas e sangue. Nas galinhas, a constipação ou a prisão de ventre é mais rara e pode estar associada com desidratação crônica devido a falta de água, baixo consumo ou adipsia ou perda excessiva de água ou atonia muscular ou diminuição da peristalse mediada pelo SNAS e tífite crônica. No caso de sua persistência, podemos observar megacólon devido à retenção de fezes consistentes ou de fecaloma no reto e na região da cloaca. A diarreia e a disenteria em galinhas pode ter relação com a eliminação anormal de fezes oriundas do intestino (fezes entéricas) ou do ceco (fezes cecais), que apresentam consistência, cor e constituição alteradas. As fezes entéricas normais apresentam formato de minhoca, cor marrom ou acastanhada (mais amarelo ou verde -

acinzentado dependendo dos níveis de energia ou de proteína) e são cobertas por uma capa de material mucóide e branco (urato, que varia conforme os níveis de proteína). As fezes cecais são pastosas ou semilíquidas, de cor marrom e odor sui generis. As fezes entéricas são eliminadas com muita frequência, e num período de 24 horas podem perfazer um total de 12 a 16 defecações, enquanto as fezes cecais são eliminadas somente uma a duas vezes por dia, durante o dia, nunca à noite e no escuro.

## Diarréias de natureza metabólica

O aspecto das fezes pode estar modificado devido a inúmeros fatores e, quase sempre, quando incidentes em idade precoce ou quando persistentes, são causas de refugamento, desuniformidade, redução do ganho de peso e piora da conversão alimentar. As diarréias de natureza metabólica podem ser desencadeadas pelos seguintes fatores:

**Estresse calórico** - quando se submete as aves, principalmente os pintos, a dietas hiperenergéticas, temperaturas muito elevadas ou estresse por calor, podemos desencadear uma resposta de aumento da perda de fluidos via fezes, devido ao comprometimento do balanço hídrico desencadeado pela necessidade momentânea de perda de calor através do consumo da água e de resfriamento visceral. Nesta situação, observa-se diarréia aquosa ou secretória, que pode resultar no desequilíbrio do sistema integrativo de recuperação de água e de íons pelo ceco e na desidratação. Nas galinhas, o sistema integrativo de recuperação da água, que envolve a entrada da urina da cloaca para o reto e o ceco, e que resulta na reabsorção da água e dos eletrólitos perdidos na urina, retarda a morte por desidratação. A quebra deste sistema induz a eliminação de fezes menos consistentes, aumento das perdas de minerais na urina (K, Mg, P e S) e nas fezes (Cu, Mg). O estresse calórico induz a redução da secreção de enzimas, diminuição do fluxo sanguíneo no TGE e o aumento da motilidade intestinal, favorecendo a disabsorção de nutrientes.

**Dieta e fatores anti-nutricionais** - fatores que levam ao aumento do consumo de água, por exemplo, sal ou minerais em excesso, induzem o aumento do fluxo urinário ou a eliminação de fezes mais úmidas ou diarréia secretória. O consumo de proteína de baixa digestibilidade induz eliminação de fezes menos consistentes ou diarréia osmótica ou de fezes aquosas ou fluidas, devido ao aumento da excreção de ácido úrico ou aumento da fermentação cecal. Açúcares e gorduras não digestíveis ou não adequadamente digeridos também induzem modificação das fezes, respectivamente, por aumento da fermentação intestinal e pela eliminação de fezes esteatorréicas ou de diarréia osmótica.

**Água de má qualidade** - apesar de se considerar ideal que a água consumida pelas aves não contenha bactérias, contaminações de 100 UFC/mL de bactérias totais ou 50 UFC/mL de coliformes totais, ou mesmo a presença de *Pseudomonas* sp. e *Escherichia coli* não alteram significativamente a qualidade das fezes. No entanto, o consumo de água com alteração da qualidade físico-química pode induzir diarréia devido a expressão de efeitos laxativos ou passagem de nutrientes induzida pelo excesso de sólidos totais (>1500ppm), sulfatos (>500ppm) com efeito aditivo com cloretos (>500ppm) ou com o magnésio (>14ppm) e de cloreto de sódio (>3000ppm), que causa a diarréia secretória. A hipersecreção e a enterite mucóide e a hepatose ou hepatite tóxica ocorre quando da presença de sulfato de hidrogênio, de nitratos, de nitritos, de amônia e de fosfatos que são altamente tóxicos, devem estar ausentes e são indicativos de

contaminação bacteriana ou de ingestão de água putrefeita. Outros íons, como o manganês e o ferro e os sólidos totais favorecem a formação de encrustações nos encanamentos, bebedouros e caixas d'água, reduzem o fluxo de água nos bebedouros e propiciam a formação de biofilmes e o crescimento de bactérias patogênicas, enteroinvasivas e toxigênicas que podem causar a diarreia ou a disenteria ou a endotoxemia ou, até mesmo, septicemias.

## Diarréias causadas por distúrbios intestinais ou enteropatias

Os distúrbios intestinais podem ser causados por diferentes patógenos ([Tabela V](#)) e podem ser, primária e basicamente de quatro tipos, e secundariamente estarem sobrepostos devido ao desencadeamento de infecções oportunistas ou de desequilíbrio da flora bacteriana e podem finalizar com um aumento da mortalidade ou da condenação de fígados e carcaças no abatedouro. A diarreia pode ser:

**Do tipo secretória** - é desencadeada por aumento da permeabilidade dos enterócitos devido ao desequilíbrio entre a absorção de  $\text{Na}^+$  pelos enterócitos e secreção de cloretos nas criptas de Lieberkühn, resultando em acúmulo de água no lúmen do intestino. Quando o enterócito ou o vilão é injuriado por agentes enteropatogênicos, observa-se enterite secretória resultando em diarreia secretória, com eliminação de fezes volumosas com maior conteúdo de água e de eletrólitos, enquanto que, quando ocorre o consumo de excesso de sal ou de água ou de substâncias com efeito laxativo, não se observa inflamação. Em caso de persistência da diarreia secretória, ou quando se associa um distúrbio do refluxo cloaca reto-cecal, ou uma lesão no ceco ou no rim, pode ocorrer desidratação e/ou aumento de mortalidade por desequilíbrio ácido-básico e diurese.

**Do tipo osmótica** - quando solutos ou alimento não digerido ou fatores antinutricionais resistentes à digestão enzimática estão presentes no lúmen, cria-se um ambiente viscoso que atrai a água para diluir a indigesta e, como consequência, observa-se o aumento do bolo alimentar ou do quimo no lúmen intestinal e a eliminação de fezes pastosas e pegajosas, às vezes com maior conteúdo de água. Este tipo de diarreia pode ser desencadeado por distúrbios gastroduodenais, que induzem má digestão ou o trânsito rápido ou a passagem de ração, ou por processos que induzem a disabsorção ou a má absorção de nutrientes, por exemplo, devido à ausência ou redução de enterócitos absorptivos ou quando do consumo de substâncias não digestíveis.

Do tipo má absorção - é vista quando os enterócitos apresentam um defeito da absorção devido à perda da bordadura em escova ou quando há redução de enterócitos absorptivos, ou da secreção de enzimas digestórias, ou quando ocorre um comprometimento da peristalse ou das contrações rítmicas que promovem a digestão e a absorção à luz do intestino. Observa-se diarreia osmótica e secretória comprometendo o ganho de peso e o desenvolvimento corporal e a conversão alimentar, na enterite que causa a má absorção e, nesta condição observa-se redução da absorção de peptídios, de dissacarídios, de lipídeos, de gases e de fluidos e, como consequência, retenção de conteúdo intestinal de cor amarelo acastanhado, ou alaranjado ou esverdeado, com excesso de fluidos ou com gases e a eliminação de fezes volumosas, com aumento de osmolaridade (esteatorréica, biliosa ou espumosa).

**Disenterias ou enterite exsudativa** - quando ocorre a lise ou a degeneração dos enterócitos ou a necrose das vilosidades intestinais, e de acordo com a extensão da injúria, observa-se: aumento da secreção de muco e a retenção de células descamadas no lúmen associado intensa resposta

MALT, ou seja, enterite mucóide e enterite muco- catarral; necrose do epitélio e dos vilos e o acúmulo de leucócitos ou de eritrócitos no lúmen e a aderência de tecido necrótico, caracterizando uma enterite necrótica, hemorrágica ou diftérica; quando a necrose epitelial é profunda e esfoliativa e está presente na base dos vilos ou na cripta de Lieberkühn e na parede muscular do intestino o quadro é denominado de enterite ulcerativa; a enterite granulomatosa e a neoplásica são vistas em caso de colonização crônica por patógenos bacterianos e virais, enteropatogênicos e enteroinvasivos ou oncogênicos; a enterite sistêmica é relacionada com necrose epitelial secundária a vasculite.

A consequência da disenteria é a hipermotilidade intestinal, que resulta em aumento significativo da frequência das defecações, redução ou ausência do bolo alimentar no lúmen e nas fezes e eliminação de excreta líquido, sangüinolento, de odor fétido ou putrefeito, com excesso de gases e de coloração alaranjada ou rosada ou amarelada ou enegrecida, conforme a intensidade da injúria.

**Tabela V** - Fatores infecciosos e não infecciosos que causam enterites e diarreias.

<b>Tipo de enterite</b>	<b>Patógenos envolvidos</b>
Enterite secretória	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Vírus:</b> virotoxina do Rotavírus, Gumboro</li> <li>• <b>Enterotoxinas bacterianas:</b> exotoxinas do <i>Clostridium spp</i>, <i>E. coli</i>, <i>Campylobacter spp</i>, <i>Staphylococcus spp</i>.</li> <li>• Salmonela paratifóide, disbacteriose.</li> <li>• <b>Dieta:</b> ↑ NaCl</li> <li>• <b>Água:</b> sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), nitritos, nitratos, amônia e fosfatos.</li> </ul>
Enterite osmótica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Dieta:</b> ingredientes de baixa digestibilidade, antinutrientes não absorvidos, fibras.</li> <li>• <b>Água:</b> ↑ NaCl, ↑ Sólidos totais, ↑ Sulfatos, ↑ Cloretos, ↑ Magnésio e iões tóxicos.</li> <li>• <b>Bactérias:</b> disbacteriose, <i>Brachyspira spp</i>, <i>Salmonella spp</i>.</li> <li>• <b>Vermes:</b> <i>Ascaridia galli</i> e Cestodas.</li> </ul>
Enterite secretória e má absorção	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Citoadesinas (pili):</b> <i>E. coli</i>, <i>Campylobacter spp</i>, <i>Brachyspira spp</i>.</li> <li>• <b>Vírus enterotrópicos:</b> <i>Rotavírus</i> do Grupo A e B, <i>Astrovírus</i>, <i>Aviadenovírus</i>, <i>Reovírus</i>, <i>Torovírus</i>, <i>Calicivírus (Hepevírus – BLS)</i>, <i>Picornavírus patogênicos</i>, <i>Enterolikevírus (ELV)</i>, <i>Avulavírus</i></li> </ul>

	<p>(Newcastle) enterotrópicos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Deficiência nutricional:</b> ↓vitamina A, ↓ vitamina B1 ou tiamina, ↓selênio.</li> <li>• <b>Toxinas:</b> tricotecenes, fitotoxinas.</li> <li>• <b>Protozoário:</b> Coccidiose subclínica, <i>Cryptosporidium sp</i>, <i>Trichomonas sp</i>.</li> </ul>
Enterite – Má absorção trânsito de rápido – passagem de ração	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Vírus:</b> Aviadenovírus (hepatite, pancreatite, gastrite por corpúsculo de inclusão), vírus da proventriculite (REV?, VDG?, <i>Reovírus?</i>), Calicivírus (Hepevírus), Picornavírus da EA.</li> <li>• Micotoxina – tricotecenes.</li> <li>• Antinutrientes: gossipol, fedegoso, amônia quaternária, ↑ sulfato de cobre, ↑zinco, ↑arsênico, chumbo.</li> <li>• <b>Protozoários:</b> <i>Eimeria spp</i> patogênicos subclínicos.</li> </ul>
Enterite muco catarral	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Protozoário:</b> fase trofozoítica de <i>Eimeria spp</i> patogênicos, <i>E. mitis</i>, <i>E. hagani</i>, <i>E. praecox</i>, <i>E. mivat</i>.e <i>Cryptosporidium spp</i></li> <li>• <b>Verme:</b> <i>Capillaria sp</i>.</li> <li>• <b>Substância antinutritivas:</b> amins biogênicas, micotoxinas, fumonisina, peróxidos, etc.</li> </ul>
Enterite necrótica fibrino hemorrágica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Vírus:</b> em perus, Siadenovírus (Síndrome do fígado e baço marmóreo) e Coronavírus (Blue Comb Disease).</li> <li>• <b>Bactérias:</b> <i>Salmonella Pullorum</i>.</li> <li>• <b>Protozoário:</b> <i>E. tenella</i>, <i>E. brunetti</i>, <i>E. necatrix</i>, <i>E. maxima</i> clínica.</li> </ul>
Enterite Ulcerativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Clostridium colinum</i>, <i>Histomonas meleagridis</i>.</li> </ul>
Enterite Sistêmica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Vírus:</b> Vírus da Influenza Aviária, Vírus da doença de Newcastle.</li> <li>• <b>Bactérias:</b> Erisipela, <i>Mycobaterium avium</i>, <i>Pasteurella multocida</i>, <i>Salmonella Pullorum</i>, <i>S. Gallinarum</i>, <i>S. Enteritidis</i>.</li> </ul>
Enterite Necrótica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Bactérias:</b> <i>Clostridium perfringens</i>.</li> <li>• <b>Verme:</b> <i>Raillietina tetragona</i>.</li> </ul>

Granuloma Entérico	<i>E. coli, Salmonella Pullorum, Mycobacterium avium.</i>
Neoplasia	• Marek, Leucose linfóide.

Quaisquer que sejam os fatores que causem a degeneração dos enterócitos e a necrose da camada epitelial, estes contribuem com:

- Perda de proteção local favorecendo a entrada ou infecção por outros agentes.
- Perda de microvilosidades (bordadura em escova) reduzindo a secreção enzimática e a área de absorção.
- Segundo Hoerr (1998) a morte prematura de uma célula requer substituição por outra célula que se dividiu recentemente. Se uma célula completamente diferenciada e altamente especializada morrer, por exemplo, a célula principal do proventrículo ou um enterócito do ápice da vilosidade intestinal, a célula imatura que a substituir não apresenta a função específica da célula perdida. Quando as células da região da cripta de Lieberkühn são lesadas, fica comprometida a renovação ou a substituição da célula perdida no ápice da vilosidade, como consequência, poderá ocorrer encurtamento da vilosidade, ou seja, redução da área de absorção. Para que ocorra a renovação celular é importante dispor de nutrientes essenciais para sustentar a proliferação de novas células. Lembrar que drogas e aflatoxinas que bloqueiam a síntese de ácido nucléico comprometem a geração de novas células e que a deficiência de tiamina reduz a divisão celular.

## Mecanismo de indução das enteropatias e enterites por agentes infecciosos

### Bactérias

As bactérias adentram continuamente o trato gastroentérico porque as galinhas possuem o hábito de ciscar a cama e efetuam ingestão contínua de água ou de alimentos que contém um número quase infinito de diferentes espécies de bactérias. A maioria das bactérias que entram no trato gastrointestinal não são enteropatogênicas e são eliminadas nas fezes (10<sup>12</sup> micróbios/g de fezes) ou fazem parte da flora bacteriana normal, multiplicando-se na luz do intestino e estabelecendo uma colonização de mutualismo ou de cooperação com o hospedeiro, principalmente na porção distal do intestino delgado e no ceco. Somente um pequeno número de gêneros ou de espécies de bactérias agridem o TGE, especificamente o intestino delgado e o ceco e causam enterites exsudativas ou enteropatias devido a manifestação de habilidades próprias expressas durante sua multiplicação em um substrato ou no muco, sintetizando e liberando exotoxinas enterotoxigênicas ou citotóxicas ou expressando fatores de virulência que permitem a citoaderência ou a colonização intracelular ou burlar o sistema imune e causar septicemia. Bactérias patogênicas e muitas bactérias que não expressam fatores de enteropatogenicidade, quando se multiplicam de forma desordenada no lúmen intestinal (disbacteriose), podem ser capturadas pelas células fagocíticas linfoepiteliais ou pelas células absorptivas e, através dos vasos linfáticos e da microcirculação, chegar ao fígado, onde estimulam uma resposta do sistema fagocítico

mononuclear residente ou das células de Küpffer e causam hepatites ou a endotoxemia.

**Mecanismo de agressão das bactérias entero-patogênicas** - a *E. coli* intrainestinal citoadesiva, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium colinum* e a *Brachyspira* spp. possuem fatores de citoadesividade que permitem a sua aderência no enterócito e a destruição das microvilosidades. São consideradas bactérias enteroinvasivas algumas espécies de *Salmonella* sp, de *Brachyspira* sp, de *Pasteurella* sp e de alguns biotipos de *Campylobacter jejuni* e de *Clostridium colinum*, enquanto que o *Clostridium perfringens* e o *C. botulinum* são considerados primariamente enterotoxigênicos.

**Mecanismo de agressão da flora bacteriana** - a contaminação da casca do ovo fértil, a ingestão dos resíduos de eclosão no incubatório e de ração e água em idade precoce e o contato com o meio ambiente são fatores que favorecem a colonização do trato gastrintestinal (TGI) por um número incontável de bactérias de diferentes gêneros e espécies. Estima-se que o TGI das aves comerciais possa estar colonizado por pelo menos 40 espécies distintas de bactérias, representados por três ou mais biotipos diferentes que podem ser isolados em meio de cultivo. Por análise filogenética do gene 16S do RNA ribossômico, estima-se que existam 16 clones diferentes de bactérias, compreendendo 11 famílias e pelo menos 16 gêneros distintos de bactérias colonizando o TGI das aves (Lee *et al.*, 2002). De acordo com Barnes *et al.* (1972), a distribuição das bactérias nos diferentes segmentos do TGI e a sua concentração varia e aumenta com a idade, observando-se, no ceco, uma ampla diversidade e uma taxa mais elevada de colonização.

As bactérias que compõem a flora normal se distribuem e se multiplicam em diferentes partes do TGI, conforme o pH, disponibilidade de oxigênio ou de dióxido de carbono, nutrientes (aminoácidos, carboidratos, fibra, células descamadas) e substrato para aderência (muco) encontrado no lúmen e estabelecimento de interrelações de cooperação ou de competição entre os diferentes elementos que constituem a comunidade bacteriana. Com três dias de idade, um pinto não tratado ou alimentado com ração sem promotor de crescimento já apresenta o íleo colonizado por bactérias Gram positivas e negativas, anaeróbicas facultativas (*Lactobacillus* sp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp. e *Coli-aerógenos*) e anaeróbicas restritas como o *Clostridium* sp. A partir de sete dias de idade, as bactérias Gram negativas se tornam menos frequentes e há predomínio de bactérias anaeróbicas Gram positivas como *Actinobacteria* e *Bacteroides* (Lee *et al.*, 2002). Segundo Salanitro *et al.*, (1978), pintos com 14 dias de idade apresentam, no intestino delgado anterior, predomínio de anaeróbios facultativos (60 a 90%) e aproximadamente 9 a 39% de anaeróbios restritos, enquanto que no ceco predominam os anaeróbios restritos (0,7 a 1,6 x 10<sup>11</sup>UFC/g de conteúdo desidratado) sobre os anaeróbios facultativos (@10<sup>8</sup> UFC/g) (**Tabela VI**). A partir de duas semanas de idade, observa-se um aumento gradativo de bactérias Gram positivas, tais como *Lactobacillus* sp. (6 espécies  $\geq 10^4$  UFC/g no duodeno e 10<sup>8</sup> UFC/g no ceco) e *Clostridium* sp. (de 10<sup>2</sup> a 10<sup>4</sup> UFC/g no duodeno e 10<sup>7,9</sup> UFC/g no ceco), com isolamento ocasional e/ou variável de *C. perfringens* (welchii) (Barnes *et al.*, 1972).

**Tabela VI** - Distribuição de bactérias no intestino das aves.

Região do Intestino	Tipo de Bactérias			
	Anaeróbios facultativos		Anaeróbios restritos	
	Gram negativas	Gram positivas	Gram Negativas	Gram Positivas
	Duodeno/Jejuno	<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus faecalis</i> <i>Enterococcus sp</i> <i>Staphylococcus sp</i> <i>Lactobacillus sp</i>	<i>Gemmiger sp</i> <i>Fusobacterium sp</i>
Íleo terminal/Ceco	<i>E. coli</i> <i>Campylobacter sp</i> <i>Salmonella sp</i> <i>Achromobacter sp</i> <i>Alcaligenes sp</i>	<i>Streptococcus sp</i> <i>Enterococcus sp</i> <i>Staphylococcus sp</i> <i>Micrococcus sp</i> <i>Lactobacillus sp</i>	<i>Gemmiger sp</i> <i>Bacteroides sp</i> <i>Fusobacterium sp</i>	<i>Eubacterium sp</i> <i>Clostridium sp</i> <i>Bifidobacterium sp</i> <i>Propionibacterium sp</i> <i>Ruminococcus sp</i>

As bactérias que compõem a comunidade bacteriana, ao colonizar diferentes partes do intestino, estabelecem, entre si, uma relação de cooperação e de competição por nutrientes essenciais e de substrato para aderência no lúmen e na mucosa, que permite o estabelecimento do equilíbrio populacional. Acredita-se que o *Lactobacillus sp.*, que é a bactéria predominante por todo o intestino, secreta lactato, acetato, succinato e etanol, que servem de substrato para a proliferação de anaeróbios que sintetizam ácidos graxos voláteis (*Veillonella sp.*, *Bacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Bacteroides sp.*). A proliferação destas bactérias promove a diminuição da concentração de oxigênio na região proximal do intestino. A redução do oxigênio e do pH no lúmen, a presença de ácido láctico e de ácidos graxos voláteis e a aderência através das fimbrias na mucosa ou no muco limitam a multiplicação de bactérias enteropatogênicas microaerófilas como a *E. coli*, a *Salmonella sp.* e o *Campylobacter sp.* na região anterior do TGI.

A dinâmica de distribuição e equilíbrio da flora bacteriana no intestino permite o estabelecimento de efeito cooperativo ou de mutualismo com o hospedeiro, ou seja, onde a ave se beneficia (Lancini, 1994), porque as bactérias participam no metabolismo de carboidratos, proteínas, lipídeos e sais minerais; sintetizam vitaminas do complexo B, vitamina A, Vitamina C, vitamina K



e, ainda, ácido fólico e outros micronutrientes importantes; digerem a fibra e a celulose liberando ácidos graxos voláteis que podem suprir de 5 a 10% das necessidades energéticas; conferem resistência a infecções e o estabelecimento da exclusão competitiva com enterobactérias patogênicas.

Em frangos de corte, os efeitos maléficos da flora intestinal têm sido combatidos através do uso de aditivos alimentares ou de promotores de crescimento, uma vez que eles possuem efeitos negativos para o desempenho das aves porque induzem o aumento do turnover de enterócitos, competem por nutrientes essenciais como os aminoácidos e comprometem a digestão. A presença de bactérias nocivas pode induzir o aumento do trânsito intestinal e promover o afluxo de células mononucleares na parede intestinal, ou então, como no caso de *Streptococcus faecium*, decompor os ácidos biliares e, assim, prejudicar a digestão das gorduras. No entanto, a manipulação inadequada da flora bacteriana nociva por meio do uso de promotores de crescimento, de quimioterápicos e de antibióticos em doses preventivas ou profiláticas pode induzir um desequilíbrio da flora bacteriana e desencadear processos entéricos devido a emergência de interações indesejáveis com outros patógenos (Holmber *et al.*, 1984, 1986; Bailey, 1988), particularmente com *Salmonella* sp.

Existe um consenso de que os efeitos prejudiciais sobre a assimilação dos nutrientes estão associados com a microflora do englúvio (papo) e do intestino delgado, enquanto que os efeitos benéficos ocorrem no ceco e reto (Lancini, 1994). Muitos fatores podem modificar a flora bacteriana, por exemplo, no papo, onde temos uma baixa concentração de leveduras, o uso de glicose ou de cereais ricos em carboidratos pode favorecer a proliferação de *Candida* sp., enquanto o uso de farinha de carne e de ossos promove uma redução da população de *Lactobacillus* sp. e um aumento de *E. coli* e *Clostridium* sp. Verificou-se, por meio de ensaios *in vitro* (Rada *et al.*, 1991; Marounek, Rada, 1995), que a narasina, a lasalocida, a salinomicina e a maduramicina adicionadas ao meio de cultivo inibem o crescimento de *Lactobacillus* sp. Segundo Rada *et al.* (1991), além dos ionóforos, a tilosina, a virginiamicina, a penicilina, o nitrovin e a bacitracina de zinco também inibem o crescimento de *Lactobacillus* sp., enquanto canamicina, estreptomycin, olaquinox, avilamicina, avoparcina e aureomicina tem pouca ação sobre estas bactérias. Estes mesmos autores verificaram que a monensina, quando ministrada para pintos de dois, cinco e 10 dias de idade, reduz a concentração de *Lactobacillus* sp. no papo, aumenta o pH do digesta e proporciona aumento de *Enterococcus* sp. e de coliformes. *Lactobacillus* sp., *Enterococcus* sp. e coliformes (*E. coli*, *Citrobacter* sp.), respectivamente em concentração de 10<sup>9</sup> células/g e 10<sup>5</sup> células/g, parecem ter um papel importante na manutenção do pH ácido do papo. Um pH baixo de 4 a 6, favorece o crescimento de bactérias que produzem ácidos orgânicos que prejudicam a colonização da *Salmonella* sp. O perfeito equilíbrio da população de *E. coli* e de *Lactobacillus* sp., com predomínio de *E. coli*, pode suprimir a colonização de *Salmonella* *Thyphimurium* através de um mecanismo de exclusão competitiva, porém, o predomínio só de *Lactobacillus* sp. tem um papel parcial na exclusão das salmonelas (Baba *et al.*, 1991). O aumento da concentração de *Enterococcus faecium* reduz a contagem de *Clostridium* sp. que se adere no papo e no ceco (Kmet *et al.*, 1993). O *Clostridium perfringens* é uma bactéria que é encontrada normalmente no íleo e no ceco mas que, sob determinadas condições, pode induzir enterite necrótica. A inclusão de cevada na dieta aumenta a população de *Clostridium* sp. e causa uma redução de coliformes, *Lactobacillus* sp. e *Streptococcus* sp. no íleo. O *Clostridium perfringens* é sensível a avoparcina, avilamicina, salinomicina (Devriesi *et al.*, 1993) e narasina

e sua aderência e colonização no intestino pode ser aumentada quando ocorre uma infecção pela *E. tenella* (Baba *et al.*, 1992). A redução temporária de *E. coli* e de bactérias cecais pode ser induzida pela monensina e, em menor extensão, pela robenidina e a nicarbazina. Conclui-se, portanto, que quando manipulamos diferentes tipos de ingredientes ou de aditivos alimentares, fenômenos ainda pouco compreendidos podem estar ocorrendo com a flora bacteriana e, de forma inusitada, ocorrendo perda dos seus efeitos benéficos ou a exacerbação de seus efeitos nocivos.

A dinâmica e o equilíbrio da comunidade bacteriana varia conforme espécie e idade do animal e pode ser modificada por fatores endógenos específicos do hospedeiro e por fatores exógenos ao hospedeiro (dieta, ambiente) (Figura 5). Nas aves criadas intensivamente, sujeitas a más condições de higiene e de sanitização, a uma dieta marginal, a intoxicação e riscos para enfermidades (*Mycoplasma spp.*, Gumboro, coccidiose, micotoxicoses) e estresses decorrentes do confinamento, os efeitos nocivos da flora bacteriana podem estar ou serem exacerbados devido:

- A hiperproliferação bacteriana e competição por nutrientes essenciais para as aves, por exemplo, energia e proteína ou a alteração da dinâmica e distribuição dos seus componentes e favorecendo a expressão dos efeitos maléficos.
- A uma resposta MALT e inflamatória exacerbada, induzindo o espessamento da parede mucosa e a redução da absorção de nutrientes devido a inflamação local e retardo ou diminuição do crescimento ou do ganho de peso, devido à liberação de linfocinas.
- Ao aumento da liberação de metabólitos bacterianos ou de toxinas, amônia, aminas biogênicas, ureases e compostos aromáticos e fenólicos (p-cresol, indol e escatol) que desencadeiam a enterite secretória ou osmótica ou má absorção ou o trânsito rápido.
- Ao aumento do turnover das células epiteliais e da secreção de muco, que favorecem a enterite osmótica, enterite muco catarral e a hiperproliferação bacteriana ou a endotoxemia.
- Ao aumento da degradação de sais biliares comprometendo a emulsificação, a digestão e a absorção dos lipídeos favorecendo esteatorréia.
- Ao aumento da translocação de bactérias e de endotoxinas bacterianas para o fígado causando a hepatite aguda ou crônica ou granulomatosa.

É importante considerar que más condições de higiene, sanitização deficiente e o aumento de riscos para infecção vertical ou transcasca da progênie por bactérias patogênicas, como a *Salmonella* Enteritidis, *S. Thyphimurium*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens* e *Brachyspira sp.*, contribuem para o desequilíbrio da flora bacteriana e redução dos seus efeitos benéficos.

## Infecções virais

Vírus enterotrópicos causam enterite secretória e a redução da absorção de dissacarídeos quando replicam no intestino delgado médio e posterior (Rotavírus do Grupo D, ELV, Torovírus de perus) ou no ceco (Astrovírus). A enterite secretória com passagem de ração ocorre devido à presença de infecção no proventrículo ou no duodeno, no pâncreas e no fígado por Aviadenovírus, Rotavírus do Grupo A, *Reovírus*, Vírus da doença de Gumboro, vírus da doença de Marek, Picornavírus patogênicos da encefalomielite aviária, Calicivírus (Hepevírus – BLS) e, em perus, pelo Siadenovírus. De modo geral, as viroses intestinais se agravam porque elas ocorrem em associação com outros patógenos virais e bacterianos, ou porque alguns vírus (por exemplo, vírus

da doença de Gumboro, vírus da anemia infecciosa das galinhas, da doença de Newcastle, da Influenza aviária e da doença de Marek) comprometem o sistema MALT e GALT e, portanto, potencializam a enterovirose através da imunossupressão.

A maioria dos vírus enteropatogênicos são patógenos intracelulares que replicam nos enterócitos das vilosidades intestinais ou das criptas de Lieberkühn, mas alguns possuem efeito sistêmico, lesando os vasos sangüíneos (Siadenovírus em perus, vírus velogênico da doença de Newcastle e vírus patogênicos da influenza aviária) ou expressando efeitos linfocitolíticos nas placas de Peyer, nas tonsilas cecais e no divertículo de Meckel e outros tecidos linfóides primários e secundários (vírus da Marek, da Gumboro, da Newcastle, da leucose linfóide e da leucose mielóide).

## Protozoários

O *Cryptosporidium sp.* compromete a função dos enterócitos do íleo terminal e do ceco das aves pois estabelece colonização na superfície das células que revestem as microvilosidades intestinais, à semelhança das bactérias citoaderentes, e induz, inicialmente, enterite secretória, e após a descamação das células, enterite osmótica. O *Cryptosporidium sp.* também coloniza o epitélio da bolsa de Fabrícus e das tonsilas cecais e induz imunoestimulação e a atrofia dos folículos linfóides da bolsa de Fabrícus. Coccídias são protozoários intracelulares que, de acordo com a fase do ciclo do parasita e a localização das diferentes formas evolutivas (no enterócito ou na lâmina própria ou na muscular mucosa), causam enterites de diferentes tipos. A enterite secretória é vista na fase trofozoítica e evolui para enterite osmótica ou muco-catarral à medida que ocorre a descamação epitelial dos enterócitos parasitados por trofozoítos, esquizontes e gametócitos. Quando os esquizontes (*E. tenella*, *E. necatrix*, *E. brunetti*) colonizam a muscular mucosa, ou os gametócitos (*E. maxima*) se localizam na base do enterócito adjacente à lâmina própria, observa-se enterite necrótica fibrino hemorrágica (**Tabela VII**).

<b>Tabela VII</b> - Mecanismo de injúria da <i>Eimeria sp.</i> no intestino das galinhas.			
<b>Forma de injúria</b>	<b>Local</b>	<b>Agente</b>	<b>Lesão ou alteração principal</b>
Colonização epitelial	Duodeno	<i>E. acervulina</i>	Enterite catarral com intensa descamação epitelial e necrose focal transversa (em escada). Fezes pastosas, com odor adocicado e de cor cinza esbranquiçada.
Colonização epitelial profunda e na lâmina própria (gametócitos, oócitos e	Jejuno Íleo	<i>E. maxima</i>	Enterite catarral evoluindo para enterite necrótica e com ocorrência de hemorragia e de inflamação na lâmina própria. Fezes com tecido descamado de coloração rosada e/ou com sangue ou células descamadas.

esquizontes)			
Colonização epitelial (gametócitos e oócitos) e na lâmina própria e muscular mucosa (esquizontes)	Íleo	<i>E. necatrix</i>	Idem <i>E. maxima</i> , com eliminação de fezes fétidas com sangue digerido (cor preta) e lesão em "sal e pimenta" visto pela serosa na fase assexuada. Fase sexuada no ceco.
	Ceco	<i>E. tenella</i>	Tiflíte necrótica - hemorrágica com pontos brancos ou com conteúdo caseoso. Anemia quando da eliminação de fezes com sangue fresco que pode conter oocistos.
	Reto, íleo distal e ceco	<i>E. brunetti</i>	Enterite hemorrágica e diarreia profusa. Fezes com sangue e excessiva perda de fluídos causando desidratação e/ou anemia.
Colonização epitelial extracelular e intercitoplasmática	Ceco, tonsila cecal e bolsa de Fabrícus	<i>Cryptosporidium</i> sp.	Tiflíte hiperêmica, aumento da motilidade cecal causando perda de fluídos, comprometimento da reabsorção de água e de íons da urina e indução do

			esvaziamento cecal.
Colonização invasiva e secundária ao <i>Heterakis gallinarum</i> ou <i>H. isolonche</i> ou <i>Clostridium perfringens</i> ou <i>E. tenella</i>	Íleo Ceco reto	<i>Histomonas meleagridis</i>	Enterite ulcerativa e hepatite.
Colonização luminal	Ceco	<i>Trichomonas sp.</i>	Tiflite irritativa e fezes cecais enegrecidas.

## Fungos e leveduras

A colonização por fungos e leveduras ocorre mais em GALT, ou como infecção oportunista desencadeando um processo irritativo do tipo hemorrágico ou hiperêmico. A ocorrência de enterites, principalmente do tipo catarral, deve-se mais ao consumo de micotoxinas que induzem um processo irritativo toxigênico que resulta em aumento da motilidade intestinal e, em particular no caso da aflatoxina, causando uma diminuição da taxa de renovação celular e subsequente encurtamento da vilosidade ou perda da bordadura em escova.

## Verminoses

A fase larval dos nematodas ou vermes redondos, *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinarum*, e dos vermes chatos (*Raillietina sp* e outros) é invasiva e lesa a parede da mucosa, enquanto que os vermes adultos vistos no lúmen são enterotoxigênicos, competidores luminiais por nutrientes essenciais e, quando de uma infestação elevada, causam obstrução intestinal, alteração da motilidade intestinal e enterite catarral. A *Capillaria obsignata* causa enterite catarral ([Tabela VIII](#)).

**Tabela VIII** - Principais verminoses em galinhas criadas intensivamente ou em confinamento.

<b>Agente</b>	<b>Região colonizada</b>	<b>Efeitos</b>
<i>Ascaridia galli</i> = lombriga (espécie única)	Jejuno - íleo	Enterite catarral, hepatite granulomatosa e pneumonia verminótica (migração de larva) e obstrução intestinal.
<i>Capillaria</i> sp. (microscópico): quatro espécies (raro)	Íleo	Enterite catarral com intensa descamação epitelial e diarreia.
Vermes chatos ou Cestodas (tenias): sete espécies, sendo mais comum, <i>Raillietina</i> sp. e <i>Hymenolepis</i> sp.	Íleo	Enterite hiperêmica e redução da peristalse, fígado graxo (toxinas) Balonamento intestinal e/ou congestão.
<i>Heterakis gallinarum</i> é o mais comum ⊕ quatro espécies de Strongilídeos	Ceco	Tiflíte irritativa ou hiperêmica, ↑ diurese ou ↓ fezes e do conteúdo cecal. ↑ pré disposição para histomoníase.

## Sintomas e lesões

Os sintomas e as lesões variam de acordo com a localização dos patógenos no TGI, multiplicidade e seqüenciamento de infecções, patogenicidade e virulência do patógeno, intensidade da infecção e associação de fatores exógenos (dieta, instalações e manejo). Enterites bacterianas, virais e toxigênicas de campo são de difícil reprodução em condições experimentais. Qualquer infecção pode resultar em síndromes devido à somatória de eventos ou de infecções oportunistas ou concomitantes.

## Síndrome da má absorção (SMA) e Síndrome do nanismo - Refugamento (SNR)

É consenso, entre muitos pesquisadores, que a SMA ou a SNR é uma doença de etiologia multifatorial, na qual está reduzida a capacidade absorptiva do TGE, há comprometimento dos sistemas regulatórios da função gastrointestinal e redução do crescimento corporal e esquelético. Nesta síndrome, de acordo com a idade em que foi desencadeado o processo, nota-se uma diversidade de sinais e lesões, que podem ser iniciados ou exacerbados por erros de manejo, nutrição, higiene das instalações, qualidade de pinto, doenças de transmissão vertical (anemia das aves, salmoneloses, leucose linfóide), ingestão de substâncias antinutricionais, imunossupressão ou imunodeficiência neonatal.

A diferença básica entre a SMA e a SNR com outros processos reside no fato de que estas síndromes são caracterizadas pelo aparecimento de pintos refugos ao final da primeira semana, que apresentam órgãos hipotrofiados e intestino transparente ou de parede adelgada e com conteúdo liquêfeito ou, em alguns casos, gasoso. Este processo, do ponto de vista histológico, é relacionado com a perda da capacidade de alongamento na vilosidade intestinal ou na redução do processo de reposição e diferenciação de células epiteliais da região das criptas de Lieberkühn e ocorrência da fusão das vilosidades intestinais. Conforme a literatura, o processo de alongamento do intestino e das vilosidades intestinais é fisiologicamente acelerado nas duas primeiras semanas de idade. O intestino fica mais longo, cinco vezes mais que o resto do corpo na primeira semana de vida, e a suas vilosidades se alongam nas duas primeiras semanas de vida na ordem de duas vezes e a maturação funcional e estrutural não é atingida até 20 a 30 dias de idade (Bedford, 1996; Hoerr, 1996). Por esta razão, principalmente em frangos de corte, quando ocorre algum problema nas duas primeiras semanas de idade, jamais recuperamos o desempenho do lote num prazo curto de vida, tal como 42 dias. A perda da fase de diferenciação das células precursoras dos enterócitos maduros na primeira semana de vida significa que haverá um déficit na taxa de absorção e, como consequência, mesmo que as aves não tenham apresentado diarreia ou alimento não digerido nas fezes, poderá ocorrer refugagem, desuniformidade, palidez e problemas de empenamento e de desenvolvimento esquelético.

A proliferação das células imaturas pode ser modificada por inúmeras condições não infecciosas. Por exemplo, o tanino, que é encontrado em alguns cereais, como o sorgo e a canola e em grãos tóxicos como o fedegoço, pode causar o comprometimento do desenvolvimento intestinal. Ortiz *et al.*, (1994) verificaram que o tanino das sementes de *Vicia faba* causa, na mucosa do íleo, atrofia, encurtamento e distorção da arquitetura da vilosidade intestinal, além da degeneração hidrópica dos hepatócitos. Aditivos alimentares podem induzir modificações do comprimento e do peso intestinal, de forma variada, dependente de combinações e doses utilizadas. Bartov (1994) observou que a monensina aumenta o comprimento do intestino e reduz o seu peso específico, porém, quando associada com a virginiamicina ou com a avoparcina, dependendo do tempo de uso, nota-se redução do tamanho, do comprimento e do peso específico.

O encurtamento da vilosidade, associada à distensão luminal das criptas de Lieberkühn, tem sido considerado um dos parâmetros para o diagnóstico da SMA. A ocorrência deste tipo de alteração pode estar relacionada com deficiência de riboflavina, de tiamina, de niacina, de ácido pantotênico, de ácido fólico e de vitamina A. A falta de alguns nutrientes essenciais por mecanismo de competição (amprolium e coccídias que competem pela tiamina), de quelação ou adsorção (proteína bruta da soja e micotoxinas sequestram zinco, manganês e cobre) ou de destruição (nitrito destrói vitamina A), desencadeiam um processo de mau desenvolvimento do TGE devido a fatores não relacionados com a dieta.

Um quadro de SMA, no seu início, é caracterizado por um déficit na diferenciação e na proliferação de enterócitos e, na fase subsequente, quadros múltiplos de carência nutricional se instalam em outros órgãos ou tecidos (raquitismo, osteoporose, encefalomálacia, empenamento) e ocorrem infecções intercorrentes, virais, bacterianas e parasitárias. Existe muita polêmica em relação à etiologia da SMA, com uma tendência muito forte a se atribuir ao *Reovírus*, o principal papel. Na realidade, o *Reovírus*, o Adenovírus, o entero-like- particle (ELP), o Rotavírus, o *Parvovírus*, estão presentes tanto no tubo digestivo de aves com SMA como em aves saudáveis.

McFerran *et al.* (1984) demonstraram, através de estudos virológicos combinados (microscopia eletrônica e isolamento de vírus em diferentes sistemas de cultivo), que ELP, Adenovírus e *Reovírus* podem ser detectados no intestino de frangos de corte com SMA no período de um a seis dias de idade e que, de 13 a 20 dias de idade, são comuns as associações entre *Reovírus* e Rotavírus. Goodwin *et al.* (1993) também observaram, em aves com síndrome do refugamento/nanismo, várias combinações de infecções virais.

Com base no exposto, podemos supor que a SMA pode ser desencadeada por vários fatores ou processos que possam comprometer o alongamento da vilosidade intestinal devido à:

- Redução da divisão celular nas criptas de Lieberkühn devido a ação de micotoxinas, carência nutricional pré-natal e neonatal, drogas ou por competição de nutrientes essenciais.
- Destruição de células em divisão ou da base das vilosidades por agentes virais, tais como *Reovírus*, *Parvovírus*, *Herpesvírus*, bactérias e fungos.
- Desequilíbrio no turnover de células devido à excessiva destruição de células do ápice das vilosidades, por exemplo, Rotavírus, Coronavírus, Adenovírus, ELP, aminas biogênicas.
- Desequilíbrio da modulação endócrina, por exemplo, Arenavírus, Adenovírus, drogas, estresses.
- Perda das microvilosidades devido a infecção viral, a ação de agentes tóxicos e/ou associação com bactérias ou problemas com cama e disbacteriose.

Goodwin *et al.* (1993) recomendam que a utilização imprecisa do termo SMA ou SNR seja evitada porque, apesar de se observar vírus no intestino delgado de pintos com sinais e sintomas compatíveis com estas síndromes, pintos com enterite por bactérias ou por protozoários também podem ficar com nanismo e mal empenamento. Ainda, de acordo com nossa experiência, quadros de SNR ou SMA podem ser observados em pintos que recebem dietas marginais ou que apresentam problemas condrodistróficos ou osteodistróficos em idade prematura, ou que recebem excesso de medicamentos ou são expostos a imunização ativa intensiva, ou que são portadores de *Salmonella* sp., ou que são submetidos a estresses por calor e pelo frio.

## Diagnóstico

O diagnóstico deve ser baseado em um conjunto de procedimentos ou avaliações que incluam as seguintes averiguações:

**História clínica** – associada a observação criteriosa dos sinais e sintomas que podem estar causando redução do consumo ou antecedendo o baixo ganho de peso e o comprometimento da conversão alimentar. É importante levar em consideração as manifestações fisiopatológicas.

**Necropsia** - a monitoria da qualidade do sistema gastrointestinal através da necropsia é um procedimento importante, no entanto, alterações locais macroscópicas típicas não são vistas no fígado, no baço e nos tecidos linfóides quando a infecção é subclínica ou é causada por enteropatógenos não muito invasivos ou sistêmicos.

**Histopatologia** - o exame histopatológico dos diferentes segmentos do trato gastrointestinal e de outros órgãos comprometidos à distância é útil para estabelecer o tipo e a extensão da injúria e



diferenciar os prováveis fatores etiológicos envolvidos. Exames citológicos podem ser feitos, no entanto, são de aplicação limitada para averiguações de patógenos como trofozoítos e esquizontes de algumas espécies de *Eimeria* sp., como para diagnosticar endotoxemias e aumento da translocação de bactérias intestinais.

**Exames laboratoriais** - exames bacteriológicos, micológicos, toxicológicos, virológicos e parasitológicos são provas restritas a alguns patógenos, e nem sempre permitem conclusão diagnóstica quando efetuados isoladamente.

## Glossário

**Constipação** - refere-se à estase do bolo alimentar ou do digesta ou da indigesta no reto, reduzindo a frequência de defecações devido ao comprometimento do tônus dos esfínteres (palavra chave: sistema nervoso central e autônomo, estresses, miodistrofia) ou porque houve retenção de conteúdo retal dessecado (fecaloma) ou de conteúdo cecal desidratado (palavra chave: desidratação, falta de água, adipsia).

**Diarréia** - significa aumento da perda de digesta e de indigesta, de água e de íons nas fezes devido ao desequilíbrio funcional que resulta em resposta laxativa ou de expulsão, após diluição de fatores toxigênicos ou de efeito osmótico ou de indigesta, como forma de proteção inata da mucosa ou quando ocorre uma infecção assintomática ou subclínica por patógenos enteropatogênicos ou enterotoxigênicos.

**Diarréia secretória** - significa fezes com excesso de água e de íons como Cl, Na, Ca e Cu em caso de comprometimento do intestino delgado (palavra chave: enterite secretória), e de K, Na, Cl, H, NH<sub>3</sub>, etc quando do comprometimento do ceco (palavra chave: refluxo cloaca-reto-cecal, tífite, diurese), devido à ação de substâncias ou de microorganismos, com efeito citotônico ou hidrofóbico ou falta de células diferenciadas e especializadas (células da cripta de Lieberkühn e de células ricas em mitocôndrias no coprodeum e no ceco).

**Diarréia osmótica** - pode ser decorrente de modificação da peristalse induzida pela má digestão ou por uma má absorção de nutrientes, que cria uma diferença de osmolaridade que faz com que ocorra aumento de peristaltismo por corpo estranho e fluidificação do conteúdo luminal, para diluir e facilitar a expulsão e evitar a impactação e a fermentação do digesta. Sinonímia: trânsito rápido.

**Disenteria** - refere-se ao aumento da frequência da excreção fecal devido ao aumento da descamação do epitélio ou necrose tecidual resultando em eliminação de fezes com pouco digesta e tecido necrosado contendo hemácias e leucócitos e desencadeada por microorganismos ou substâncias enteroinvasivas ou citotóxicas.

**Enterite mucóide** - refere-se ao aumento da secreção de muco porque está ocorrendo irritação da mucosa pela ação de substâncias antinutritivas, por indigesta, por toxinas, por aminas biogênicas, por solutos e bactérias luminiais, por diminuição da peristalse e é estimulada uma resposta das células caliciformes como um mecanismo de defesa inato do TGE.

**Enterite catarral** - refere-se ao aumento da descamação das células epiteliais que revestem os

vilos intestinais e à eliminação de mucina e células degeneradas nas fezes e, quando intenso, induz aumento da secreção de muco e resultando em **enterite muco catarral**.

**Má absorção** - refere-se ao comprometimento da absorção porque o alimento não foi digerido, ou porque os enterócitos perderam a capacidade de absorver os nutrientes porque estão sendo lisados, ou estão em degeneração ou porque tiveram redução da sua competência devido à diminuição dos microvilos, ou apresentam retardo na formação de novo ou porque houve redução da área de absorção devido ao encurtamento dos vilos ou à regeneração comprometida dos enterócitos apicais ou ao exacerbamento da peristalse propulsiva.

**Má digestão** - pode ser decorrente de falhas na digestão mecânica, (palavra chave: gastrite e refluxo enterogástrico) resultando em passagem de ração ou de falha na digestão enzimática no intestino delgado (palavra chave: peristalse propulsiva e contrações rítmicas) resultando em esteatorréia e/ou excreção de dissacarídeos e dipeptídios ou de falha na digestão microbiana no ceco (*palavra chave*: tiflíte, ceco sem conteúdo).

**Passagem de ração** - é um termo popular que significa eliminação de elementos ou ingredientes sólidos da ração, por exemplo, soja, sorgo, milho, sementes de ervas daninhas, osso, etc, ou seja, alimento não digerido. Sinonímia: má digestão, diarréia osmótica, trânsito rápido.

## Conseqüências das gastroenteropatias e gastroenterites

O TGE pode ser considerado como a “fonte da vida”, que trabalha continuamente de forma concatenada, precisa e coordenada, gerenciando uma série de eventos sequenciados que resulta na produção do combustível que sustenta o corpo. Para a indústria avícola, o TGE ainda serve para transformar uma matéria prima bruta de baixo valor nutricional em alimentos ricos, que são a carne e o ovo. Para atender a toda esta demanda, o TGE, que é um sistema relativamente pequeno e que compreende aproximadamente 5 a 10% de todo o peso corporal, utiliza 30% de todo o oxigênio e proteína consumidos pelo organismo. Portanto, qualquer fator que injuria o TGE, perturba a sua integridade e, como consequência, a rentabilidade do produtor. A injúria no TGE pode resultar em inflamação, perda ou redução funcional das células absorptivas e das que protegem a parede mucosa e em encurtamento dos vilos ou das rugas intestinais. Devido à natureza dinâmica do TGE, sempre ocorre uma rápida cicatrização e reparação do tecido lesado, aumentando a demanda de nutrientes essenciais, mas frequentemente este processo resulta na substituição por células imaturas e pouco eficientes ou por tecido fibroso que não tem nenhuma função, exceto sustentação. Como consequência, ocorre redução da digestão e da absorção de nutrientes (conversão alimentar) que termina com o comprometimento do crescimento, do ganho de peso, bem como em dificuldade em manter o equilíbrio hidríco e eletrolítico causando a diarréia e a cama molhada ou influenciando o metabolismo dos mineralocorticóides. Portanto, como consequência do distúrbio funcional do TGE, observa-se:

**Diarréia** - cama molhada causando diferentes tipos de diarréia ou complicações secundárias, desidratação, emaciação, alcalose ou acidose metabólica, depressão, fraqueza ou sonolência finalizando em estado de coma, amontoamento, redução do apetite, recusa do alimento ou inapetência, modificação do comportamento e da vocalização, aumento da umidade na cama, com matéria seca abaixo de 50% (o ideal é de 75%), propiciando a fermentação bacteriana, aumento da proliferação de microorganismos, da esporulação de oocistos, da maturação e sobrevivência

das larvas de ecto e endoparasitas, e ainda, da umidade relativa interna e aumentando a temperatura da cama e dificultando a perda de calor corporal por condução.

**A diarreia, má absorção e cama molhada** - resultam em implicações indesejáveis, que podem ser agrupadas em quatro segmentos importantes da indústria avícola.

**1. Efeito comercial ou econômico:** redução do ganho de peso e do desempenho geral, desuniformidade, carne e vísceras de má qualidade, excesso de gordura, aumento de problemas respiratórios e de problemas de pernas, aumento da condenação de carcaças, de pés, aumento dos custos operacionais para manejo da cama, favorecimento do odor e proliferação de moscas e outros insetos aumentando os custos para o seu controle, aumento dos custos de tratamento.

**2. Desencadeamento de doenças:** aumento do risco para coccidiose, verminose e outros parasitas, aumento do desafio por bactérias e de riscos para a disbacteriose, aumenta a predisposição para aerossaculites, estresses por calor e sobrecarga da função pulmonar para perda de calor por evaporação, deformidades esqueléticas por exemplo, discondroplasia tibial, condrodistrofia, osteopenias e osteites, interferência com o metabolismo do sistema reprodutor, causando diminuição da produção de ovos e da eclosão ou interferindo com qualidade do ovo e da progênie, aumento da predisposição para uremia, acidose e alcalose metabólica devido à sobrecarga renal secundária às tiflites, que resultam em aumento da absorção dos derivados tóxicos do nitrogênio (NO<sub>3</sub>, uréia, amônia) ou no comprometimento da reabsorção de eletrólitos e de água excretados na urina, saúde pública, em função da remessa de aves sujas para o abatedouro, aumentando os riscos de contaminação com microorganismos de interesse para a saúde alimentar (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., coliformes fecais).

**3. Bem estar animal:** odor, moscas e insetos, pododermatite ou dificuldade de locomoção, escaras de decúbito no peito e na articulação tíbio-tarso-metatarso, tendinites, empenamento sujo, não há “banho” de cama, doenças secundárias.

**4. Futuro:** proteção ambiental e reciclagem de cama contaminada por patógenos, resíduos de terapêuticos ou de minerais.

## Controle e prevenção

O controle e a prevenção das gastroenterites e gastroenteropatias deve suceder um diagnóstico com máxima precisão e deve ser baseado na adoção de um conjunto de procedimentos, conforme etiopatogenia, fatores intercorrentes, epidemiologia e, sobretudo, que pode haver sobreposição ou desencadeamento em cascata de processos patológicos no TGE. Levando-se em consideração estes fatores, pode-se prescrever ou indicar:

- Promotores de crescimento e tratamentos preventivos ou metafiláticos quando é comprovada a presença de bactérias entero- invasivas ou enteropatogênicas ou enteroto- xigênicas. Antifúngicos ou antimicotoxinas podem ser utilizados como preventivos de suporte ou paliativos.
- Para alguns enteropatógenos é importante efetuar antibiograma ou pesquisar a existência de resistência intrínseca e extrínseca ou adquirida entre os microorganismos envolvidos.

- Para muitas situações é necessário efetuar a higiene, a desinfecção e a adoção de medidas rigorosas de biossegurança.
- A imunidade adquirida por exposição natural, subclínica ou controlada (clostrídios - promotores, coccídeos - ionóforos) ou através de imunização ativa, pode ser útil para prevenção de algumas viroses entero- sistêmicas (Newcastle, Gumboro) e até mesmo das coccidioses.
- Dar atenção à qualidade da cama, efetuando controle de qualidade, fermentação quando de sua reutilização e evitando cama empastada ou úmida ou em fermentação durante à sua utilização.
- Efetuar controle de insetos, principalmente de besouros e de moscas.
- Controlar fatores imunossupressores porque o TGE é provido de um sistema imune próprio e muito eficiente tanto quanto muito requisitado.
- Prevenir estresse por calor, evitando e controlando umidade relativa, evitando aumento ou diminuição extremos da temperatura ambiente e mantendo sempre ventilação mínima e ambiente que confira sensação térmica na zona de conforto, porque o TGE possui taxa metabólica elevada e, por isto, precisa dissipar a energia gerada metabolicamente.
- Efetuar o controle de matérias primas e dos silos e não utilizar ingredientes ou produtos finais degradados ou de má qualidade.
- Adequar os níveis dos nutrientes essenciais e a formulação conforme idade, linhagem ou fase de desenvolvimento, condições climáticas, taxas de desafios, efeitos competitivos de nutrientes.
- Não efetuar uso abusivo de antimicrobianos e levar em consideração efeitos colaterais e sinérgicos ou antagônicos.

## Bibliografia

Abe T, Nakamura K, Tojo T, Yuasa N. Gizzard erosion in broiler chicks by Group I Avian Adenovirus. **Avian Diseases** 2001; 45:234-239.

Adelmoyero AA, Hamilton PB. Mouth lesions in broiler chickens caused by scirpenol mycotoxins. **Poultry Science** 1991; 70:2082-2089.

Al Afaleq A, Jones RC. A comparison of single and repeated oral infection of chicks with two avian Reovirus. **Research in Veterinary Science** 1994; 57(1):96-99.

Anderson DB. **Intestinal microbes: when does normality change into a health and performance insult?** In: The Elanco Global Enteritis Symposium; 2002 jul. 9-11; Cambridge, UK. p.3-17.

Arp LH, Robinson IM, Jensen AE. Pathology of liver granulomas in turkeys. **Veterinary Pathology** 1983; 20:80-89.

Baba E, Nagaishi S, Fukata T, Arakawa A. The role of intestinal microflora on the prevention of *Salmonella* colonization in gnotobiotic chickens. **Poultry Science** 1991; 70(90):1002-1007.

Baba E, Wakeshima H, Fukui K, Fukata T, Arakawa A. Adhesion of bacteria to the cecal mucosa surface of conventional and germ - free chickens infected with *Eimeria tenella*. **American Journal**

**of Veterinary Research** 1992; 53(2):194-197.

Bacha WJ Jr, Wood LM. Color atlas of veterinary histology. Philadelphia: Lea & Febiger; 1990.

Bailey JS, Blankenship LC, Stern NJ, Cox NA, McHan F. Effect of Anticoccidial and Antimicrobial feed Additives on prevention of *Salmonella* colonization of chicks treated with Anaerobic cultures of chicken feces. **Avian Diseases** 1988; 32:324-329.

Bailey JS, Cox NA, Berrang ME. Hatchery – acquired *Salmonellae* in broiler chicks. **Poultry Science** 1994; 73:1153-1157.

Bailey JS. Integrated colonization Control of *Salmonella* in Poultry. **Poultry Science** 1988; 67:928-932.

Bailey SJ. Factors affecting microbial competitive exclusion in poultry. **Food Technology** 1987; 41(7):88-72.

Bakker NPM. Biogenic amine threat in high protein feed. **Feed Mix** 1994; 2(1):7-11.

Barbato GF. Genetic control of food intake in chickens. **Journal of Nutrition** 1994; 124(supl 8):1341-1348.

Barnes EM, Mead G, Barnun DA. The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. **British Poultry Science** 1972; 13:311-326.

Barnes EM. The avian intestinal flora with particular reference to the possible ecological significance of the cecal anaerobic bacteria. **The American Journal of Clinical Nutrition** 1972; 25:1475-1479.

Barrow PA, Lovell MA. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella* enteritidis phage type 4. **Avian Pathology** 1991; 20:335-348.

Barrow PA, Smith HW, Tucker JF. The effect of feeding diets containing avoparcin on the excretion of *Salmonella* by chickens experimentally infected with natural sources of *Salmonella* organisms. **Journal of Hygiene** 1989; 93:439-444.

Barrow PA. Experimental infection of chickens with *Salmonella* enteritidis. **Avian Pathology** 1991; 20:145-153.

Barrow PA. Further observations on the effect of feeding diets containing avoparcin on the excretion of *Salmonella* by experimentally infected chickens. **Epidemiology Infectiology** 1989; 102:239-252.

Bartov I. Effect of growth promoters on monensin toxicity in broiler chicks. **British Poultry Science** 1994; 35(1):123- 133.

Bedford MR. Interaction between ingested feed and the digestive system in poultry. **Journal**

**Applied Research** 1996; 5:86-95.

Befus AD, Johnston N, Lelies GA, Bienenstock J. Gut-Associated Lymphoid Tissue in the chickens In: Morphology, ontogeny, and some functional characteristics of Peyer's patches. **The Journal of Immunology** 1980; 125(6):2626-2632.

Borrel J. **Micosis y micotoxicosis en avicultura**. Venezuela: Pub. Ciento Laborat. Reveex; 1989.

Butaye P, Devriese LA, Haesebrouk F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram positive bacteria. **Clinical Microbiology Reviews** 2003; 16:175-188.

Butcher GD, Nilipour AH, Miles RD. **Feed passage in broilers: a Complex problem**. Gainesville: University of Florida; 2002. Available from: <http://edis.ifas.ufl.edu>.

Calnek EW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. **Diseases of poultry**. 9th ed. London: Wolfe Publishing; 1991.

Carlson HC. Defense mechanisms of the avian gastrointestinal Tract. **Poultry Science** 1982; 61:1268-1272.

Choudhury YS, Das MR. Studies on growth rate and pathological changes in chickens infected with *Heterakis gallinarum*. **Journal of Veterinary Parasitology** 1993; 7(2):81-85.

Cogburn LA, Burnside J, Scanes CG. **Physiology of Growth and Development**. In: Whittow GC editor. *Sturkie's avian physiology*. 5th ed. New York: Academic Press; 2000. p.635-656.

Colin GS. The physiology of growth hormone and other growth factors in poultry. **CRC Critical Reviews in Poultry Biology** 1987; 1:51-103.

Cotran RS, Kumar V, Robbin SL. **Robbin's pathologic basis of disease**. 4th ed. London: WB Saunders Company; 1989.

Davelaar FG, Smit HF, Hovind-Hougen K, Dwars RM, Van-Der-Valk PC. Infectious typhlitis in chickens caused by spirochetes. **Avian Pathology** 1986; 15:247-258.

Davis JF, Castro AE, De La Torre JC, Barnes HJ, Doman JT, Metz M, Lu H, Yuen S, Dunn DA, Teng MN. Experimental reproduction of severe hypoglycemia and spiking mortality syndrome using field - derived and embryo - passaged preparations. **Avian Diseases** 1996; 40(1):158-172.

Davis JF, Goodwin MA, Player EC, Fuchs D, Castro DE, Doman JJ. Arenavirus - like particles associated with hypoglycemia and enteritis in broiler chickens. **Veterinary Record** 1993; 133(19):484.

Davis JF, Castro AE, De La Torre JC, Scanes CG, Radecki SV, Vasillatos-Younken R, Doman JT, Teng M. Hypoglycemia, enteritis and spiking mortality in Georgia broiler chickens: experimental reproduction in broiler breeder chicks. **Avian Diseases** 1995; 39(1):162-174.

Denbow MD. Appetite and its control. **Poultry Science Review** 1993/1994; 5:209-229.

Denbow MD. Peripheral regulation of food intake in poultry. **Journal of Nutrition** 1994; 124(supl.8):1349-1354.

Devriese LA, Daube G, Hommez J, Haesebrouck F. *In vitro* susceptibility of *Clostridium perfringens* isolated from farm animals to growth - enhancing antibiotics. **Journal of Applied Bacteriology** 1993; 75(1):55-57.

Diaz GJ, Sugahara AM. Individual and combined affects of aflatoxin and gizzerosine in broiler chickens. **British Poultry Science** 1995; 36:729-736.

Dibner JJ, Kitchell ML, Atwell CA, Ivey FJ. The effect of dietary ingredients and age on the microscopic structure of the gastrintestinal tract in poultry. **Journal Applied Poultry Research** 1996; 5:70-77.

Dibner JJ, Richards JD. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science** 2005; 84:634-643.

Dorner JW, Cole RJ, Lomax LG, Gosser HS, Diewer UL. Cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* and its effects in broiler chickens. **Applied Environmental Microbiology** 1983; 46:698-703.

Dowling L. Ionophore toxicity in chickens: a review of pathology and diagnosis. **Avian Pathology** 1992; 21:355-368.

Drastini Y, McKenna PK, Kibenge FS, Lopez A. Chymotrypsin and trypsin sensitivities of avian reoviruses. **Canadian Journal of Veterinary Research** 1994; 58(1):75-78.

Dwars RM, Davelaar FG, Smit HF. Influence of infection with avian intestinal spirochaetes on the faeces of laying hens. **Avian Pathology** 1992; 21:513-515.

Dwars RM, Smit HF, Davelaar FG, Van Veer W. Incidence of spirochaetal infections in cases of intestinal disorders in chickens. **Avian Pathology** 1989; 18:591-595.

Dwars RM, Smit HF, Davelaar FG. Observations on avian spirochaetosis. **Veterinary Quarterly** 1990; 12:51-52.

Fargeland JA, Arp LH. Structure and development of bronchus associated lymphoid tissue in conventionally reared broilers. **Avian Diseases** 1993; 37(1):10-18.

Fatih MY, Ogbogu VC, Njoku CO, Saror DJ. Study on the pathogenicity of experimental *Ascaridia galli* infection in broiler chickens. **Bulletin of Animal Health and Production in Africa** 1992; 40(1):19-24.

Ferket PR. **Nutritional effects of enteric disorders**. In: Enteric Disease Control Symposium Program, 39th Annual Meeting Lowsville; 1996 jul. 21; Lousville, KY, USA. p.17-21.

Frazier JA, Farmer H, Martland MF. A togavirus - like agent in the pancreatic duct of chickens with infectious stunting syndrome. **Veterinary Record** 1986; 119:209-210.

Fussel LW. **Management and prevention of Enteric Diseases of chickens**. In: Enteric Disease Control Symposium, 39 Annual Meeting of the American Association of Avian Pathologists; 1996; Lowsville; 1996 jul. 21; Lousville, KY, USA. p.39-41.

George BA, Quarles CL, Fagerberg DJ. Viginiamycin effects on controlling Necrotic Enteritis Infection in chickens. **Poultry Science** 1982; 62:447-450.

Glick B. Immunophysiology. In: Whittow GC. Sturkie's Avian physiology. 5th ed. New York: Academic Press; 2000. p.657-667.

Goodwin MA, Brown J. Effect of *Cryptosporidium sp* infection of the bursa of Fabricius, intestinal tract and respiratory system of chickens in Georgia, 1974-1988. **Avian Diseases** 1990; 34:701-703.

Goodwin MA, Davis JF, McNulty MS, Brown J, Player EC. Enteritis (so - called runting stunting syndrome) in Georgia broiler chicks. **Avian Diseases** 1993; 37(2): 451-458.

Goodwin MA, Davis JF, Player EC. *Reovirus* - associated enteritis in Georgia broiler chicks. **Avian Diseases** 1993; 37(1):229-233.

Goodwin MA, Hill DL, Dekich MA, Putnan MR. Multisystemic adenovirus infection in broiler chicks with hypoglycemia and spiking mortality. **Avian Diseases** 1993; 37(2):625-627.

Goodwin MA, Player EC, Magee DL. Intralesional herpesvirus, reovirus - like particle and bacteria in a flock of broiler chicks with spiking mortality diarrhea and enterotyphlitis. **Avian Diseases** 1995; 39(1):175-178.

Goodwin MA. Esophageal and proventricular cryptosporidiosis in a chicken. **Avian Diseases** 1995; 39(3):643-645.

Goodwin MA. Gastrintestinal disease diagnosis in broiler. **Poultry Digest** 1994; p.8-17.

Gorham SL, Kadavil K, Lambert H, Vaughan E, Pert B, Abel J. Persistence of *Salmonella* enteritidis in young chickens. **Avian Pathology** 1991; 20(3):433-437.

Gorham SL, Kadavil K, Vauchan E, Lambert, Abel J, Pert B. Gross and microscopic lesions in young chickens experimentally infected with *Salmonella* enteritidis. **Avian Diseases** 1994; 38(4):816-821.

Griffiths IB, Hunt BW, Lister AS, Lamont MH. Retarted growth rate and delayed onset of egg production associated with spirochaetae infection in pulletts. **Veterinary Record** 1987; 121:35-37.

Guarda F, Mandelli G. **Trattato di anatomia patologica veterinaria**. Torino: Unione Tipografico Editrice; 1989.



Guy JS, Levy MG, Ley DH, Barnes HJ, Gerig TM. Interaction of *Reovirus* and *Cryptosporidium baileyi* in experimentally infected chickens. **Avian Diseases** 1998; 32:381-390.

Guyton AC, Hall JE. **Tratado de fisiologia médica**. 10th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

Gyles CL, Prescott JF, Songer JG, Thoen O. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2004.

Hafner S, Harmon BG, Thayer SG, Hall SM. Splenic granulomas in broiler chickens produced experimentally by inoculation with *Eubacterium tortuosum*. **Avian Diseases** 1994; 38:605-609.

Haghighi HM, Gong J, Gyles CL, Hayes MA, Zhou H, Sanei B, Chambers JR, Sharif S. Probiotics stimulate production of natural antibodies in chickens. **Clinical and Vaccine Immunology** 2006; 13:975-980.

Hill JE, Kelley LC, Langheirinch KA. Visceral granulomas in chickens infected with a filamentous bacteria. **Avian Diseases** 1992; 36:172-176.

Hill KJ, Strachan PJ. **Recent advances in digestive physiology of the fowl**. In: Peaker M. Avian physiology. New York: Academic Meeting Press; 1971.

Hill KL. **The Structure of the alimentary tract**. In: Bill DJ, Freeman BM. Physiology and biochemistry of the domestic fowl. London: Academic Press; 1971. v.1, p.1-22.

Hoerr FJ, Carlton WW, Yagon B, Joffe AZ. Mycotoxicosis caused by a single dose of T-2 toxin or diacetoxyscirpenol in broiler chickens. **Veterinary Pathology** 1981; 18:652-664.

Hoerr FJ. Pathogenesis of enteric diseases. Athens: **Poultry Informed Professional** 2006; 90:1-6.

Hoerr FJ. Pathophysiology of noninfectious enteric disease. In: Enteric Disease Control Symposium Program, 39th Annual Meeting Louisville 1996 jul. 21; Louisville, KY, USA. p.31-36.

Holmberg T, Wierup M, Engström B. The effect of feeding diets containing avoparcin and monensin on the occurrence of *Salmonella* in caecum and liver in experimentally infected chickens. **Poultry Science** 1984; 63:1144-1148.

Homer BL, Butche GD. Histomoniasis in Leghorn pullets on a Florida farm. **Avian Diseases** 1991; 35(3):621-624.

Hudson DA, Levin RJ, Smyth DH. **Absorption from the alimentary tract**. In: by Bell DJ, Freeman BM. Physiology and biochemistry of the domestic fowl. London: Academic Press; 1971. v.1, p.52-71.

Huff GR, Zheng Q, Newberry LA, Huff WE, Balog JM, Rath NC, Kim KS, Martin EM, Skeeles JK. Viral and bacterial agents associated with experimental transmission of infectious proventriculitis of broiler chickens. **Avian Diseases** 2001; 45(4):827-843.

Iqbal A, Decuypere E, El Azim AABD, Kuhn ER. Pre and post hatch high temperature exposure affects the thyroid hormones and corticosterone response to acute heat stress in growing chicken (*Gallus domesticus*). **Journal of Thermal Biology** 1990; 15(2):149-153.

Ito NMK, Prestes AA, Niciporciukas MC. **Implicações dos *Reovírus* na síndrome da má absorção**. In: Seminário dos Produtores de Pinto; 1986; Campinas: APINCO; 1986. p.73-80.

Ito NMK, Miyaji CI, Lima EA, Okabayashi S, Claire RA, Graça EO. Entero-hepatic pathobiology: histopathology and semi-quantitative bacteriology of the duodenum. **Brazilian Journal of Poultry Science** 2004c, 6(1):31-40.

Ito NMK, Miyaji CI, Lima EA, Okabayashi S. **Bactérias: patobiologia do parasitismo bacteriano. Ecologia bacteriana e a relação hospedeiro parasita** [monografia]. São Paulo: Elanco Saúde Animal; 2004b. pp 1-158.

Ito NMK, Miyaji CI, Lima EA, Okabayashi S. **Clipping de patologia aviária: micotoxicoses em aves**. São Paulo: Laboratório Pfizer; 1996.

Ito NMK, Miyaji CI, Lima EA, Okabayashi S. **Qualidade e manejo da cama: implicações com a saúde aviária e humana e com o meio ambiente** [monografia]. São Paulo: Elanco Cobam; 2004e. p.1-56.

Ito NMK, Miyaji CI, Lima EA, Okabayashi S. **Saúde gastrintestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrintestinais**. In: Mendes AA, Nääs IA, Macari M. Produção de frangos de corte. Campinas: Facta; 2004a. p.205- 260.

Ito NMK, Miyaji CI, Lima EA, Okabayashi S. Verão 2004: fisiopatologia da termorregulação aplicada à produção e ocorrência de distúrbios respiratórios e gastroentéricos em frangos de corte. São Paulo: Elanco Monteban; 2004d.

Ito NMK, Miyaji CI, Okabayashi S. **O sistema imune nas aves domésticas: imunobiologia, imunofisiologia e imunopatologia** [monografia]. São Paulo: Elanco Cobam; 2006. p.1-112.

Ito NMK. **Síndrome da má absorção: novos conceitos**. In: II Seminário dos Produtores de Pinto; 1984; Campinas: APINCO; 1984. p.35-38.

Janeway CH, Travers P, Walport M, Shlomcheck M. **Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed Editora; 2002.

Johnson RW. Inhibition of Growth pro-inflammatory cytokines: an integrated view. **Journal Animal Science** 1997; 75:1244-1255.

Jones RC, El Houadfi M, Cook JKA, Ambali A. An enterotropic avian infectious bronchitis virus. In: McFerran JB, McNulty MS, editors. **Acute virus infection of poultry**; 1985. p.161-164.

Jordan FTW, Pattison M. **Poultry diseases**. 4th ed. London: WB. Saunders Company; 1996.

Junqueira LC, Carneiro J. **Histologia básica**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1971.

- Kaldhusdal M, Hofshagen M. Barley inclusion and avoparcin supplementation in broiler diets. 2. Clinical, pathological and bacteriological findings in a mild form of necrotic enteritis. **Poultry Science** 1992; 71:1145-1153.
- Kaldhusdal M, Lovland A. *Clostridium perfringens* necrotizing enteritis of the fowl: a light microscopic, immuno-histochemical and ultrastructural study of spontaneous diseases. **Avian Pathology** 1995; 24(3):421-433.
- Karpinska E, Blaszczyk B, Kosowska G, Degórski A, Binek M, Borzemska WB. Growth of the intestinal anaerobes in the newly hatched chicks according to the feeding and providing with normal gut flora. **Bulletin Veterinary Institute Pulawy** 2001; 45:105-109.
- Keirs R, Bennett L. **Broiler performance loss associated with biogenic amines**. Proceedings of Maryland Nutrition Conference; 1993; College Park, MD: University of Maryland; 1993. p.31-34.
- Kelley KW, Kent S, Dantzer R. **Why sick animals don't grow: an immunological explanation**. In: Hollis GR, editor. Growth of the pig. Wallingford: CAB Internacional; 1993. p.119-132.
- Kichou F, Saghir F, El-Hamidi M. Natural *Cryptosporidium sp* infection in broiler chickens in Morocco. **Avian Pathology** 1996; 25(1):103-111.
- King AS. **Sistema linfático das aves**. In: Getty R. Anatomia dos animais domésticos. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Interamericana; 1981. v.2; p.1881-1889.
- Kmet V, Stachhova M, Nemcová R. The interaction of intestinal microflora with avian enteric pathogens. **Acta Veterinaria Brno** 1993; 62:587-589.
- Krinke AL, Jamroz D. Effect of feed antibiotic avoparcin on organ morphology in broiler chickens. **Poultry Science** 1996; 75(6):705-710.
- Kuenzel WJ. **The Autonomic nervous system of avian species**. In: Whittow GC. Sturkie's avian physiology. 5th ed. London: Academic Press; 2000. p.101-122.
- Lan PTN, Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y. Pylogenetic Analysis of cecal Microbiota in chicken by the use of 16S DNA clone libraries. **Microbiology Immunology** 2002; 46(6):371-382.
- Lancini JB. **Fatores exógenos na função gastrintestinal: aditivos**. In: FACTA. Fisiologia da digestão e absorção das aves. Campinas: APINCO; 1994. p.99-126.
- Langheirinch KA, Schwab B. Isolation of bacteria and histomorphology of turkey liver granulomas. **Avian Diseases** 1972; 16:806-816.
- Lax AJ, Barrow PA, Jones PW, Wallis TS. Current perspectives in Salmonellosis: review. **British Veterinary Journal** 1995; 151:351-377.
- Ledoux DR. Fumonisin toxicity in broiler chicks. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**

1992; 4:330-333.

Lee MD, Lu J, Idris U, Barman B, Hofacre C, Maurer JS. **Microbial dynamics of the broilers intestinal tract**. In: The Elanco Global Enteritis Symposium, Cambridge, UK; 2002. p.A1-A14.

Lencer WJ. Microbial invasion across the intestinal epithelial barrier: commentary. **Pediatric Research** 2001; 49:4-5.

Lens SD, Hoerr FJ, Ellis AC, Toivio-Kinnucan MA, Yu M. Gastrointestinal pathogenicity of adenoviruses and reoviruses isolated from broiler chickens in Alabama. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation** 1998; 10:145-151.

Lester SA. *Salmonella enteritidis* in broiler and broiler breeders. **Veterinary Record** 1998; 123:350.

Levy MG, Ley DH, Barnes HJ, Gerig TM, Corbett WT. Experimental cryptosporidiosis and infectious bursal disease virus infection of specific- pathogen - free chickens. **Avian Diseases** 1998; 32:803-811.

Lichtman SN, Sartor RB, Keku JB, Schwab JH. Hepatic inflammation in rats with experimental small intestine bacterial overgrowth. **Gastroenterology** 1990; 98:414-423.

Lillehoj HS. **Role of gut associated lymphoid tissues in local immunity to enteric pathogens chickens**. In: Enteric Disease Control Symposium Program, 39th Annual Meeting Louisville; 1996 jul. 21; Louisville, KY, USA. p.22-27.

Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA, Hoerr FJ, Ernest JA. Experimental Cryptosporidium infections in chickens: oocyst structure and tissue specificity. **American Journal of Veterinary Research** 1986; 47:876-879.

Lovland A, Kaldhusdal M. Liver lesions seen at slaughter as the indicator of necrotic enteritis in broiler flocks. **FEMs Immunology and Medical Microbiology** 2001; 98:345-351.

Maiorka A, Boleti IC, Macari M. **Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal**. In: Macari M, Furlan RL, Gonzales E, editores. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP; 2002. p.113-123.

Marounek M, Rada V. Susceptibility of poultry Lactobacilli to ionophore antibiotics. **Journal of Veterinary Medicine Series B** 1995; 42(4):193-196.

Masumura T, Sugahara M, Noguchi T, Mori K, Naito H. The effect of gizzerozine, a recently discovered compound in overheated fish meal, on the gastric acid secretion in chicken. **Poultry Science** 1985; 64:356-361.

May JD, Lott BD. Effects of light and temperature on anticipatory feeding by broiler. **Poultry Science** 1994; 73 (9):1398-1403.

McFerran JB, Connor TJ, McNulty MS, McCracken RM. **Infectious runting**. Proceeding of the

33rd Western Poultry Disease Conference, Davis, CA, EUA; 1984. p.27-29.

McFerran JB, McNulty MS. **Acute virus infections of poultry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers; 1986.

McKenzie ME, Colnago GL, Lee SR, Long PL. Gut stasis in chickens infected with *Eimeria*. **Poultry Science** 1987; 66:264-269.

McLeland JA. **Color atlas of avian anatomy**. London: Wolfe Publishing; 1990.

McNulty MS, Curran WL, Todd D, McFerran JB. Detection of viruses in avian feces by direct electron microscopy. **Avian Pathology** 1979; 8:239-247.

Moon H. Pathophysiology of enteric infections. In: Enteric Disease Control Symposium Program, 39th Annual Meeting Louisville; 1996 Jul. 21; Louisville, KY, USA. p.28-30.

Moore WEC, Gross WB. Liver granulomas of turkeys - causative agents and mechanisms of infection. **Avian Diseases** 1968; 12:417-422.

Morgan-Jones SC. The occurrence of *Salmonellae* during a rearing of broiler bird. **British Poultry Science** 1980; 21:463-470.

Morishita TY, Lam KM, McCapes RH. Isolation of two filamentous bacteria associated with enteritis in turkey poults. **Poultry Science** 1992; 71:203-207.

Mutalib AA, Riddell C. Cecal and hepatic granulomas of unknown etiology in chickens. **Avian Diseases** 1982; 26:732-740.

Nicoletti C. Unsolved mysteries of intestinal M cells. **Gut** 2000; 47:735-739.

Nolan JP. Intestinal endotoxins as mediators of hepatic injury - an idea whose time has come again. **Hepatology** 1989; 10(5):887-891.

Norton RA, Bayyari GR, Skeeles JK, Huff WE, Beasley N. A survey of two commercial turkey farms experiencing high levels of liver foci. **Avian Diseases** 1994; 38:887-894.

Norton RA, Hoerr FJ, Clark FD, Ricke SC. Ascarid-associated hepatic foci in turkeys. **Avian Diseases** 1999; 43:29-38.

Norton RA, Ricke SC, Beasley JN, Skeeles JK, Clark FD. A survey of sixty turkey flocks exhibiting hepatic foci taken at time of processing. **Avian Diseases** 1996; 40:466-472.

Okazaki T, Noguchi T, Igarashi K, Sakagami Y, Seto H, Mori K, Naito H, Masumura T, Sugahara H. Gizzerosine, a new toxic substance in fish meal causes severe gizzard erosion in chicks. **Agricultural and Biological Chemistry** 1983; 47:2949-2952.

Ortiz LT, Alzueta C, Trevino J, Castano M. Effects of faba bean tannins on the growth and histological structure of the intestinal tract and liver of chicks and rats. **British Poultry Science**

1994; 35(5):743-754.

Panneman H, van der Stroom-Kruyswijk JH. Concept: microbial community profiling and characterization (MCPC): a comparison with other methods for the diagnosis of bacterial overgrowth in the duodenum of broiler chickens. The Elanco Global Enteritis Symposium, Cambridge, UK; 2002. p.E1-E7.

Perelman B, Mints S, Zjut M, Kuttin E, Machny S. An unusual *Clostridium colinum* infection in broiler chickens. **Avian Pathology** 1991; 20(3):475-480.

Phillips I, Casewell M, Cox T, Groot BD, Friis C, Jones R, Nightingale C, Preston R, Waddell J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobials Chemotherapy* 2004; 53:28-52.

Poole DR. **Biogenic amines: an update**. Proceeding of 43rd Western Poultry Disease Conference; 1994; Sacramento. p.40-42.

Porter RJ Jr. Bacterial enteritis of poultry. **Poultry Science** 1998; 77:1159-1165.

Rada V, Janesova J, Marounek M, Vorisek K. Susceptibility of chicken intestinal Lactobacilli to antimicrobial compounds. **Acta Veterinaria Brno** 1991; 60(4):339-345.

Rada V, Marounek M. Effect of monensin on the crop microflora of broiler chicken. **Annales de Zootechnie** 1996; 45(3):283-288.

Randall CJ, Reece RL. **Color atlas of avian histopathology**. London: Mosby-Wolfe; 1996.

Randall CJ, Stevens H, Walsby JB, Ashton WLG. Liver pathology in broiler carcasses. **Veterinary Record** 1983; 112:159.

Riddel C, Gajadhar A. Cecal and hepatic granulomas in chickens associated with *Heterakis gallinarum* infection. **Avian Diseases** 1988; 32:836-838.

Riddel C. **Avian histopathology**. Lawrence Allen: American Association of Avian Pathologists; 1987. Roit I, Brostoff J, Male D. **Immunology**. London: Gower Medical Publishing; 1983.

Rudas P, Salyi G, Szabo J. Decreased thyroxine, triiodothyronine, and 5'-deiodination levels in malabsorption syndrome (Runting or Stunting Syndrome) in artificially inoculated broiler. **Avian Diseases** 1986; 30(2):293-297.

Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadley AM, McDougald LR, Swayne DE. **Diseases of poultry**. 11th ed. Iowa: State Press; 2003.

Salanitro JP, Blake IG, Muirhead PA, Maglio M, Goodman JR. Bacteria isolated from the duodenum, ileum, and cecum of young chicks. **Applied and Environmental Microbiology** 1978; 35:782-790.

Shanawany MM. Body Weight in relation to the development of the gastrointestinal tract in broiler.

**Archiv für Geflügelkunde** 1994; 58(2):66-68.

Shapiro JL, Julian RJ, Hampson RJ, Trenton RG, Yo IH. An unusual necrotizing cholangiohepatitis in broiler chickens. **Canadian Veterinary Journal** 1988; 29(8): 636-639.

Shirai J, Obata H, Nakamura K, Furuta K, Hirara H, Kawamura H. Experimental infection in specific-pathogen - free chicks with avian reovirus and avian nephritis virus isolated from broiler chicks showing runting syndrome. **Avian Diseases** 1990; 34(2):295-303.

Stephens CP, Hampson DJ. Prevalence and disease association of intestinal spirochaetes in chickens in eastern Australia. **Avian Pathology** 1999; 28:447-454.

Sugahara M. Black vomit gizzard erosion and gizzerosine. **World's Poultry Science Journal** 1995; 51(3):293-306.

Supartika IKE, van der Stroom-Kruyswijk JH, Toussaint MJM, Gruys E. Necrotizing granulomatous hepatitis in slaughtered broilers. **Avian Diseases** 2007; 51:632-638.

Swayne DE, Bermudez AJ, Sagartz JE, Eaton KA, Monfort JD, Stautonburg JN, Hayes JR. Association of cecal spirochaetes with past vents and dirty eggshells in layers. **Avian Diseases** 1992; 36:776-781.

Tanimura N, Nakamura K, Imai K, Maeda M, Gobo T, Nitta S, Ishihara, Amano H. Necrotizing pancreatitis and gizzard erosion associated with adenovirus infection in chickens. **Avian Diseases** 1993; 37(2):606-611.

Trampel DW, Jensen NS, Hoffman LJ. Cecal spirochetosis in commercial laying hens. **Avian Diseases** 1994; 38(4):895-898.

Tucker JF, Harry EG, Harry EG, Laursen - Jones AP. The role of histamine and fish meal in the incidence of gizzard erosion and proventricular abnormalities in the fowl. **British Poultry Science** 1975; 16:69-78.

Turnbull PCB, Richmond JE. A model of *Salmonella* Enteritidis: The behaviour of *Salmonella* Enteritidis in chick intestine studied by light and electron microscopy. **British Journal of Experimental Pathology** 1978; 59:64-75.

Uni Z, Noy Y, Sklan D. Post hatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy and light strains of chicks. **Poultry Science** 1995; 74(10):1622-1229.

Vinardelli MP. Age influences on aminoacid intestinal transport. **Comparative Biochemistry and Physiology** 1992; 103(1):169-171.

Water Analysis Interpretation. Alberta, CA: Agriculture Food and Rural Development [home page]; 1993. Wet litter syndrome has no nutritional cause. **World Poultry Misset** 1993; 19(1/2):38-39.

Wheather PR, Burkitt HG, Daniels VG. **Histologia funcional: texto e atlas**. Rio de Janeiro:

Guanabara Kogan; 1982. Whittow GC. Sturkie's avian physiology. 5th ed. New York: Academic Press; 2000.

Yamauchi K, Isshiki Y. Ultrastructural alterations of the duodenal epithelial cells in broiler chicks fed high protein-low energy or low protein-high energy diets. **Animal Science and Technology** 1994; 65(4):313-319.

Zubair AK, Leeson S. Effect of early feed restriction and realimentation on heat production and changes in sizes of digestive organs of male broilers. **Poultry Science** 1994; 73(4):529-538.



**Fisiopatologia do sistema nervoso e dos  
órgãos dos sentidos em aves domésticas**

<b>Introdução</b>	<b>267</b>
<b>Dados importantes durante a avaliação <i>ante-mortem</i> do lote</b>	<b>267</b>
<i>Aspectos gerais</i>	267
<i>Aspectos específicos</i>	268
<b>Dados importantes na avaliação individual dos animais</b>	<b>268</b>
<b>Modo de andar e ficar em pé</b>	<b>268</b>
<b>Avaliação dos olhos</b>	<b>268</b>
<b>Avaliação do nariz e boca</b>	<b>269</b>
<b>Avaliação dos ouvidos</b>	<b>269</b>
<i>Avaliação post-mortem das aves</i>	269
<i>Nariz e seios infraorbitários</i>	269
<i>Cavidade oral</i>	270
<i>Nervos</i>	270
<i>Cérebro</i>	270
<i>Ouvido</i>	271
<b>Lesões do sistema nervoso</b>	<b>271</b>
<i>Lesões degenerativas do sistema nervoso</i>	271
<i>Lesões inflamatórias do sistema nervoso</i>	271
<i>Neoplasias</i>	274
<b>Bibliografia</b>	<b>277</b>

# Capítulo 3.5 - Fisiopatologia do sistema nervoso e dos órgãos dos sentidos em aves domésticas

**Maria Beatriz Cardoso de Oliveira**

## Introdução

O diagnóstico de enfermidades nas aves, assim como em outros animais de produção, está baseado em uma anamnese apropriada do lote, em um exame clínico e em uma avaliação completa *post-mortem* de algumas aves pertencentes ao lote com problema. Na maioria dos casos de alterações do sistema nervoso, a realização de exames laboratoriais é uma excelente ajuda para o diagnóstico final. Em alguns casos de intoxicação, o quadro somente será solucionado por meio da reprodução dos sintomas em animais saudáveis através do fornecimento dos produtos sob suspeita (fármacos, alimentos, entre outros), pois muitas vezes não há o desenvolvimento de lesões e o único sintoma que se observa é o quadro nervoso. Nestes casos, quase sempre o diagnóstico final não é fechado, já que raramente existe uma contra prova do produto que causou a intoxicação.

O capítulo sobre patologias do sistema nervoso e dos órgãos dos sentidos será exposto de uma maneira bastante prática ao veterinário de campo. Indicando primeiro os dados de anamnese e exame clínico do animal vivo, como proceder à necrópsia e às avaliações mais importantes, para finalmente descrever as lesões específicas por grupo, que estarão resumidas em tabelas no final desse capítulo.

No caso de patologias do sistema nervoso, a observação do comportamento dos animais é de fundamental importância para o correto diagnóstico da causa da alteração. Podemos encontrar um número significativo de aves afetadas, indicando um problema geral, quer infeccioso, de manejo ou nutricional. Pode-se encontrar apenas um pequeno número de animais afetados, indicando problemas individuais que não afetam a performance do lote como um todo.

## Dados importantes durante a avaliação ante-mortem do lote

Durante a inspeção visual dos animais, da granja ou do lote problema, é necessário ter em mente que no caso de alterações do sistema nervoso e dos órgãos dos sentidos, a observação cuidadosa é importante para a obtenção de informações relativas ao comportamento geral e específico das aves, como é descrito a seguir.

### Aspectos gerais

Consumo de alimento e água, história do lote atual e anteriores, idade, linha genética e procedência, história dos reprodutores.

### Aspectos específicos

**Atividade das aves** - postura, movimentos, dificuldade em ficar em pé ou caminhar, letargia, depressão, hiperatividade sem ou com estímulo.

**Coordenação motora** - manqueiras, paralisia, tremores, descoordenação.

**Nariz e boca** - dificuldade para respirar, tosse, alergia, presença de secreção no nariz, abertura frênquente do bico sem razão aparente, movimento lateral do bico, úlceras e lesões aparentes.

**Olhos e pálpebras** - conjuntivite, inflamação das comissuras das pálpebras, ressecamento da mucosa ocular, presença de pústulas, cataratas lenticulares e outras lesões aparentes.

**Ouvidos** - presença de secreção de diferentes características no canal auditivo.

## Dados importantes na avaliação individual dos animais

Na avaliação individual dos animais selecionados para a necropsia, é necessário realizar uma análise e observação pormenorizada do animal. No caso do sistema nervoso e órgãos dos sentidos, deve-se ter cuidado especial nos seguintes aspectos.

### Modo de andar e ficar em pé

Se as aves são levadas para a necropsia em outro local (laboratório), devem ser transportadas vivas e em boas condições até sua avaliação. Deve-se ter especial atenção sobre maneira de caminhar, como se levanta (ou não), sua postura e atitude mental, verificando se a ave está deprimida, alerta, hiperativa, se responde ou não a estímulos externos e como é esta resposta.

É necessário determinar se a ave exibe alguma desordem na locomoção e se isso se deve a um problema de patas (tendões, articulações, músculo ou ossos) ou paralisia (sistema nervoso ou locomotor). Sendo necessário checar os reflexos, pode-se tomar as aves pelas asas, que devem imediatamente reagir contraindo ambas as patas e dedos. Outro reflexo que pode ser avaliado é tomar a ave pelas asas e mover rapidamente o corpo no ar com uma flexão para cima da mão. Uma ave normal reage rapidamente estirando as patas para cima. Aves normais também tendem a manter a cabeça erguida, buscando o equilíbrio.

A resposta anormal de ambos os reflexos pode ser observada em certas enfermidades, como na intoxicação por Ionóforos, ruptura do tendão do gastrocnêmio e a forma nervosa da doença de Marek.

### Avaliação dos olhos

Os olhos estão protegidos pelas pálpebras superior e inferior e pela membrana nictitante. Quando as pálpebras estão abertas, as bordas formam um círculo ao redor da íris e a esclerótica fica descoberta ou não visível em sua totalidade. As pálpebras somente estão fechadas quando a ave dorme ou quando existe alguma enfermidade. A membrana nictitante pisca 30 vezes por

minuto.

A inflamação das comissuras das pálpebras ocorre em pintos com infecção por *Aspergillus* e, em perus, pode ser resultado de infecção por erisipela. As lesões de bouba nas pálpebras são causadas pelo vírus e podem resultar em fechamento parcial ou total dos olhos. Galinhas adultas de postura alojadas em gaiolas podem apresentar diversos tipos de lesão nas comissuras das pálpebras por ações mecânicas.

A conjuntivite normalmente acontece como um primeiro sintoma de infecção respiratória viral, por infecções como doença de Newcastle, laringotraqueíte infecciosa, bronquite infecciosa e rinotraqueíte infecciosa. Muitas vezes, depois de uma vacinação, esse será o único sinal da reação pós-vacinal contra esses vírus.

Conjuntivite severa pode estar associada a uma lesão inicial de bouba diftérica (ou bouba úmida). Outras causas de conjuntivite incluem: enfermidades bacterianas como coriza ou ORT, fatores ambientais como umidade relativa do ar muito alta ou muito baixa, excesso de pó, excesso de vento (velocidade alta do ar) ou altos níveis de amoníaco no galpão. O excesso de amoníaco por um período longo de tempo pode produzir querato conjuntivite.

A deficiência de vitamina A pode conduzir a um ressecamento das membranas mucosas oculares. O vírus da doença de Marek em frangos pode afetar o nervo ótico causando uma catarata lenticular que faz parte do quadro da neurolinfomatose. A pupila se reduz com forma irregular enquanto a íris aumenta e se cobre de manchas cinzentas.

Nos olhos também se pode observar opacidade e cataratas. A opacidade pode ser resultado de infecções por encefalomielite aviária, doença de Marek ou presença de algum parasita como *Oxispura mansoni*.

A inflamação, juntamente com presença de exudado ou lesões caseosas ao redor dos olhos, pode estar associada à coriza, pasteurella, ORT ou mycoplasmoses e outras associações bacterianas secundárias e doenças virais (Newcastle, Bronquite, Laringotraqueíte e Pneumovírus), que também causam tumefação dos seios infra-orbitários de diferentes intensidades.

## **Avaliação do nariz e boca**

O bico é um derivado dérmico de queratina. Os orifícios nasais estão localizados na parte final superior do bico e são a entrada da cavidade nasal, sendo cobertos por um opérculo. Os movimentos laterais da parte alta do bico são muito restritos.

Quando existe raquitismo ou osteoporose é possível movimentar o bico lateralmente, parecendo borracha.

Algumas lesões do bico podem ser congênitas, como bicos tortos. Já outras lesões como úlceras e erosões se devem a diversas causas.

Algumas úlceras podem estar acompanhadas de lesões em outras partes, podendo se relacionar mais facilmente a uma causa provável. Por exemplo, úlceras no bico e nas patas conjuntamente

podem estar relacionadas a deficiência de biotina ou a efeitos de micotoxinas, provocando lesões compatíveis com dermatite nutricional.

Aves jovens que são alimentadas de maneira permanente com alimento com alto teor de umidade ou com partículas muito pequenas podem contrair a enfermidade da mandíbula, que é uma necrose da mandíbula inferior. Isso ocorre porque as partículas de alimento se aderem no interior das paredes do bico e da boca, provocando lesões severas nos tecidos quando o alimento se descompõe. É possível encontrar lesões no bico devido a ferimentos mecânicos, como os causados por comedouros com corrente, em mau estado de conservação.

Quando existe presença de fluidos ou exudados na cavidade nasal, os opérculos devem ser pressionados para melhor observação do conteúdo dessa descarga, que pode estar associada a um imenso número de fatores, desde infecções virais, bacterianas, ambiente, manejo e alimento.

## Avaliação dos ouvidos

O órgão externo da audição é composto por um duto relativamente pequeno. Sua cavidade se localiza dorsalmente aos lóbulos auriculares, os quais são cobertos por pequenas penas onduladas. O canal auditivo externo em aves adultas tem um diâmetro aproximado de 0,5cm e em condições normais não apresenta nenhuma secreção interna.

Esse canal deve ser particularmente inspecionado em aves com síndrome de cabeça inchada e naquelas que apresentem pescoço torcido. Deve-se verificar se há presença de um exudado purulento como resultado de uma otite média. A otite média pode ocorrer sozinha ou como complicação associada à pneumovírus, cólera e outros agentes que causem a síndrome de cabeça inchada. Na maioria dos casos, são isolados *E. coli* e *Staphylococcus aureus*. Ocasionalmente, isola-se *Pasteurella multocida*.

## Avaliação post-mortem das aves

São detalhadas a seguir algumas informações importantes que se deve considerar durante a necrópsia dos animais.

### Nariz e seios infraorbitários

Um septo nasal divide a cavidade em metades esquerda e direita, com exceção de uma parte mais ventral das coanas onde elas se comunicam. Cada cavidade acomoda três conchas nasais. O seio infraorbitário é uma cavidade triangular na parede lateral da cavidade nasal, localizado no alto do bico e dorso – ventralmente ao olho. A cavidade nasal comunica a boca e a faringe com as coanas. O seio também é conectado diretamente à cavidade nasal. As paredes do nariz e seios são feitas em sua totalidade de tecido mole.

Para se fazer uma boa observação é necessária a remoção da parte mais baixa do bico cortando as comissuras laterais do mesmo e a pele que se encontra atrás. Depois, deve-se cortar a ponta do bico para observar a cavidade nasal e cortar as laterais para expor os seios infra-orbitários. Observar então o tipo e a quantidade de exudado e como se encontra a mucosa. A mucosa normal é rosada e brilhante. O exudado normal é líquido e transparente. Conforme se observa irritação

da membrana, que pode ser desde algumas petéquias até uma congestão generalizada, o muco tende a estar presente em maior quantidade e mais viscoso, podendo apresentar-se opaco, ou mesmo caseoso. Deve-se então tratar de ligar essas lesões com as observadas durante a avaliação do animal vivo.

## Cavidade oral

Como as aves não têm palato mole, a boca e a garganta são comumente chamadas de orofaringe. A cavidade das coanas está localizada na linha média do palato duro e representa a abertura da cavidade oral dentro da cavidade nasal. A cavidade infundibular está localizada perto, caudal à coana e representa a abertura dos canais de Eustáquio, que terminam nesta cavidade infundibular.

Observe as lesões da língua, algumas devidas aos cuidados de limpeza próprios das aves.

É importante verificar se há presença ou ausência de alimento no bico e na cavidade oral, já que isso pode ser indicativo de alguns problemas como o botulismo.

A cavidade oral inclui a área abaixo da língua, que deve ser inspecionada para lesões como bouba, inflamações por T2, fusarium ou micose oral, essa última normalmente relacionada a infecções por *Candida albicans*. As lesões diftéricas são manchas branco-amareladas que são dificilmente retiradas do epitélio. Durante estágios crônicos, as lesões podem tornar-se mais amareladas e mostrarem membranas aderidas, bem como coágulos que podem chegar até a traquéia.

Continuando na cavidade oral, deve-se avaliar a possível paralisia do papo, causada pela forma nervosa da doença de Marek.

## Nervos

Um exame detalhado dos nervos é importante. Para isso, examina-se o plexo braquial, o nervo ciático e o plexo sacro, retirando-se cuidadosamente os rins.

Quando existe neurolinfomatose, muitos nervos perdem seu brilho e apresentam estriações transversais. É necessário avaliar a possibilidade do engrossamento dos nervos por edema, como é possível encontrar em alguns casos de doença de Marek.

Em frangos de duas a seis semanas de idade, um engrossamento dos nervos maiores com uma descoloração amarelada se apresenta na deficiência de riboflavina, uma condição conhecida como paralisia dos dedos torcidos.

## Cérebro

O cérebro dos frangos é relativamente grande e os hemisférios cerebrais, o cerebelo e o lóbulo óptico são bem desenvolvidos. O cérebro tem uma aparência lustrosa e úmida, com cor creme, contendo pequenos vasos sanguíneos.

É necessária uma avaliação cuidadosa, pois as lesões observadas podem ser consequência de diferentes enfermidades. Um método inadequado de sacrifício ou a autólise farão do exame cerebral

um processo inútil.

Se na anamnese um motivo para realizar exames histopatológicos é encontrado, deve-se buscar aves que apresentem sintomas da doença.

Alguns exemplos de lesões macroscópicas são: o edema das meninges que pode ser causado por diferentes bactérias, desde diferentes espécies de *Salmonella*, *E.coli*, *Streptococci* e *Staphylococci*. Em alguns casos, a inflamação é observada principalmente no lóbulo ótico e pode ser causada por septicemia de *Salmonella enteritidis* ou *typhimurium*.

Podemos encontrar alterações de cor nos casos de presença de fungos, como *Aspergillus spp.* e *Dactylaria gallopava*.

O inchaço do cerebelo com perda dos sulcos e circunvalações cerebrais em combinação com pequenos pontos hemorrágicos é típico de deficiência de vitamina E.

Alguns *Streptococci* do grupo D (*Enterococcus hirae*, *faecalis* e *durans*) têm sido isolados de frangos que mostram torcicolo nas primeiras semanas. As lesões cerebrais causadas por esses agentes diferem das lesões por deficiência de vitamina E, pois são observadas em áreas ventrais do cérebro e em outras áreas junto ao cerebelo.

A encefalomielite aviária que causa tremor epiléptico não apresenta nenhuma lesão macroscópica característica no cérebro.

## Ouvido

Suspeitando-se de infecções no ouvido médio, é necessário realizar um corte transversal no crânio e cérebro no nível do meato auditivo externo. Os ossos no ouvido médio são esponjosos nas aves saudáveis.

## Lesões do sistema nervoso

### Lesões degenerativas do sistema nervoso

#### Deficiências nutricionais

**Deficiência de vitamina A** - sintomatologia nervosa frequentemente está associada à deficiência de vitamina A em frango. A única lesão observada é uma hérnia dos seios venosos na porção ventro dorsal dos hemisférios cerebrais.

**Deficiência de vitamina E** - a deficiência da vitamina E tem como resultado a encefalomalácia. A lesão típica é o emaciamento e hemorragia do cerebelo. Muitas áreas no cerebelo podem estar necróticas, associadas a trombos vasculares, picnose nuclear e perda na arquitetura do tecido. A encefalomalácia pode ser confundida com infecções leves por qualquer agente ou por alterações *post-mortem*, porém no primeiro caso, nota-se muitas vezes vacuolização da substância branca no cerebelo. Infelizmente, é muito difícil a diferenciação de alterações *post-mortem*.



Quando existem lesões crônicas, o tecido necrótico pode ser substituído por proliferação de células da glia, capilares e tecido fibroso. Quando essa lesão é focal, pode significar que a mesma não foi originada por deficiência de vitamina E.

**Deficiência de tiamina** - os frangos apresentam opistótono, porém sem lesões microscópicas do sistema nervoso.

**Deficiência de ácido pantotênico** – encontra-se, na microscopia ótica, uma degeneração axonal e de mielina na medula espinhal dos frangos.

**Deficiência de riboflavina** - o nervo ciático se engrossa e perde a cor. Nas fibras nervosas, a degeneração é representada por fragmentação, formação de glóbulos de gordura e proliferação de células de Schwann.

## Intoxicações

**I. Intoxicação por alguns produtos farmacêuticos** como dimetridazole, zoaleno (dinitolmida) e nitromida que produzem sintomas nervosos em frangos sem lesões microscópicas no sistema nervoso.

**II. Intoxicação por arsenicais orgânicos:** o uso em excesso pode causar neuropatia com fragmentação dos axions e desmielinização.

**III. Intoxicação por mercuriais:** causam neuropatia periférica e encefalopatia em aves. Experimentalmente, em patos se observa cromatólise, neurofagia e liose na raiz dorsal dos gânglios e cérebro. Uma degeneração fibrinóide pode estar disseminada nos vasos e no sistema nervoso.

**IV. Intoxicação por sais:** causam sintomatologia nervosa sem lesões macroscópica ou microscópica considerável. O diagnóstico normalmente é feito por reprodução do quadro clínico.

**V. Intoxicação por inseticidas:** organoclorados podem causar desde uma excitação até convulsão, não produz lesões específicas. Os organofosforados causam vários níveis de sintomatologia nervosa. As aves são mais sensíveis que os mamíferos. Pintinhos em contato com organofosforados podem apresentar excitação, dispnéia, paralisia, lacrimejamento, etc.

**VI. Intoxicação por desinfetantes:** amônio quaternário (detergentes catiônicos) principalmente usado em excesso na água de bebida pode causar lesões nos olhos, nariz e boca. Aves mais jovens podem ter uma mortalidade aumentada. O formol pode causar fotofobia, necrose dos olhos e boca.

**VII. Neurotoxemia tardia:** acontece após vários dias da exposição a diversos compostos químicos, como organofosforados, lubrificantes, produtos para tratamento de madeira, couro, entre outros. Normalmente a sintomatologia nervosa é ampla e podemos encontrar ataxia, paralisia, dificuldade para levantar, falta de reflexo, incoordenação entre outras. As lesões microscópicas estão associadas à degeneração dos nervos periféricos e espinha dorsal (desmielinização).

## Lesões inflamatórias do sistema nervoso

## Enfermidades Virais

**Encefalomielite aviária** - esse picornavírus afeta primariamente frangos, mas afeta também outras aves galináceas. A infecção é freqüentemente subclínica e está localizada no trato digestivo, porém frangos menores que seis semanas podem desenvolver severas lesões do sistema nervoso central. As lesões observadas são as seguintes: cromatólise neuronal central, satelitose neuronal, gliose difusa e nodular e engrossamento vascular. As mudanças neuronais são comumente encontradas na base do cérebro. A gliose é proeminente nos núcleos rotundus e ovoidalis e forma estruturas semelhantes a chamuscas, observadas desde a capa de células de Purkinje projetando-se para a capa molecular do cerebelo. O engrossamento perivascular e a gliose podem encontrar-se na medula espinhal e a degeneração neuronal e acumulação linfocítica ocorrem na raiz dorsal dos gânglios.

Em estágios iniciais da enfermidade, somente podem observar-se agregados linfóides no pâncreas, na túnica muscular do proventrículo e algumas lesões na medula espinhal, não se encontrando lesões no cérebro.

**Doença de Newcastle** - uma das formas dessa enfermidade é conhecida como pneumoencefalite, referindo-se à combinação de lesões e dano aos sistemas nervoso e respiratório, causados por algumas cepas desse vírus. Não necessariamente se encontram lesões ou sintomas respiratórios, em alguns casos as aves apresentam somente a sintomatologia nervosa.

As lesões em frangos consistem em cromatólise neuronal periférica, satelitose, gliose, endoteliose e infiltração perivascular. Raras vezes são encontrados focos de necrose ou de meningite. A endoteliose se refere à hiperplasia do endotélio em pequenos vasos e capilares.

**Influenza aviária** - produz meningoencefalite em frangos e patos. O engrossamento perivascular, gliose, necrose focal e infiltração do endotélio vascular ocorrem somente com alguma infiltração de células mononucleares nas meninges, degeneração neuronal e neuronofagia.

**Doença de Marek** - as lesões no sistema nervoso periférico e central causadas por essa infecção são associadas à neoplasia. Existe um engrossamento dos nervos periféricos, no entanto, em casos agudos, somente lesões microscópicas podem ser observadas. As lesões podem estar no cérebro, nos nervos periféricos, nos olhos ou em todos ao mesmo tempo.

A lesão no cérebro é a infiltração perivascular mononuclear, particularmente na base do cérebro e na substância branca do cerebelo. Pode ser observada uma meningite linfocítica, porém a gliose e a degeneração neuronal não são comuns. Uma infiltração perivascular similar pode ser encontrada na medula espinhal com infiltração linfocítica da raiz dorsal dos gânglios.

As lesões dos nervos periféricos são variáveis. Em alguns casos (tipo A), a infiltração é massiva por linfoblastos observando-se desmielinização, proliferação de células de Schwann e aparição disseminada de células de Marek. Em outros casos (tipo B), a infiltração disseminada é de linfócito e células plasmáticas associados com edema e alguma desmielinização. O último tipo (tipo C) consiste em pequenos focos de células plasmáticas e linfócitos e é provavelmente uma forma leve do tipo B.

A semelhança de algumas lesões da doença de Marek com a encefalomielite alérgica experimental e neurite em frangos sugere que algumas lesões são resultado de um mecanismo auto-imune.

**Bouba aviária** – ocorre nos casos de reação vacinal em aves com menos de duas semanas de idade, quando vacinadas por via parenteral ou in- ovo. Algumas cepas vacinais mais virulentas ou vacinas com títulos muito altos. As aves apresentam ataxia, depressão, opistótono e asas caídas.

**Reticuloendoteliase e enfermidades linfoproliferativas** - essas enfermidades não produzem, em quase a totalidade dos casos, sintomas nervosos e as lesões são mais leves que na doença de Marek. Em patos e perus, as lesões dos nervos periféricos incluem infiltração focal dos nervos periféricos com células linfóides. Em patos também é possível observar gliose focal e infiltração perivascular. Em frangos infectados experimentalmente as lesões não puderam ser diferenciadas das produzidas por Marek. Em perus com doenças linfoproliferativas, a infiltração focal dos nervos periféricos é de linfócitos e células plasmáticas.

**Polineurite idiopática** - nessa condição foi descrito engrossamento dos nervos, os quais se encontram edematosos e com infiltrado linfóide, e de outras células mononucleares, parecidas com as lesões do tipo B da doença de Marek. Os infiltrados são focais ou difusos e estão associados à desmielinização.

## **Enfermidades bacterianas**

**Salmonelose** - pode existir encefalite bacteriana secundária a infecções do saco vitelínico em pintinhos. Áreas focais do cérebro estão frequentemente necróticas e contêm aglomerados de bactérias e heterófilos degenerados com alguma gliose ao redor e infiltração perivascular. A lesão mais clássica é a meningite, com heterófilos e grande quantidade de focos necróticos. Lesões semelhantes podem ser observadas nos plexos coróides e sistema ventricular.

**Pasteurella multocida** - na forma crônica da cólera aviária, geralmente pode observar-se meningite supurativa no cerebelo e base do cérebro. Presume-se que a infecção entra pelo ouvido médio. Alguns êmbolos podem ser liberados em animais que sofrem endocardite. Nesses casos, a bactéria quase sempre é visível no centro do vaso e está rodeada de células inflamatórias. Essas células são heterófilos e macrófagos. Algumas lesões antigas podem conter células gigantes e alguma gliose ao redor. Algumas lesões podem recordar um granuloma localizado.

**Riemerella anapastifer** - causa poliserosite em patinhos em crescimento. As meninges e os plexos coróides estão severamente afetados. O exudado contém neutrófilos disseminados e bactérias nas meninges e ventrículos. Posteriormente, o número de neutrófilos aumenta e, em lesões crônicas, os mononucleares aparecem. O infiltrado dos vasos por heterófilos e mononucleares é comum nas meninges e a infiltração por heterófilos e células gliais pode ser de leve a moderada, abaixo das meninges.

**Mycoplasma gallisepticum** - foi demonstrada uma encefalite experimental em perus. Reporta-se uma vasculite como lesão indicativa nesses casos. Entretanto, essa lesão não é comum em frangos ou perus naturalmente infectados.



Otite media	++	++	C	-	++/D	+	-	-	++	-	-
Deficiência de Vit. E	+	++	++/D	-	-	-	-	-	++/D	+	-
Deficiência de Vit. B2	+	++	++/D	-	-	-	-	-	++/D	+	-
Intoxicação D.O.T.	++/D	+	++	-	-	-	-	-	++/D	C	+
Intoxicação Monensina/											
Tiamulina	++/D	+	++	-	-	-	-	-	++/D	C	+
Outras intoxicações	Em muitos casos por exclusão, depende do tipo de toxina, a anamnese é importante										
Paralisia transitória	++/D	++	-	-	+	+	-	-	++/D	+	-
<p>Anam: Anamnese. Clinic: Exame clínico, Post mortem: Necrópsia, avaliação post mortem. Parasit: Parasitologia. Bacter: Bacteriologia. Virol: Virologia. Serol: Sorologia. IFT: Imunofluorescência. Histol: Histopatologia. Alim: Análise química do alimento. Manejo: Falhas no manejo. -: Não relevante ou não disponível. +: Relevante. ++: Importante para o diagnóstico presuntivo. C: Confirma definitivamente o diagnóstico. ++/D: Praticamente suficiente para o diagnóstico definitivo (o isolamento do agente etiológico/condição não é possível ou necessário).</p>											

## Neoplasias

### Astrocitoma

É uma neoplasia que clinicamente se apresenta como um torcicolo transitório, retropulsão e incoordenação. Frequentemente, os tumores são múltiplos e localizados na base do cerebelo ou no cérebro no terceiro ventrículo. O tumor está composto de células poligonais com citoplasma fibrilar predominantemente eosinofílico.

## Schwannoma

É um tumor de células de Schwann ou células perineurais dos nervos periféricos. Sua aparência macroscópica é nodular ou fusiforme, histopatologicamente recorda um padrão de linhas com células concêntricas.

## Neuroma

É um engrossamento nodular devido à proliferação de um pacote nervoso dentro de uma matriz densa de colágeno. Em pintos se detecta esse tipo de tumor depois da debicagem.

**Tabela 2** - Alterações na produção e qualidade dos ovos em algumas enfermidades infecciosas ou não infecciosas com presença de sintomatologia nervosa.

Causa	Redução esperada de produção	Qualidade externa afetada	Qualidade interna afetada	Fertilidade e incubabilidade
Encefalomielite aviária	10 – 60%	Não	Não	Redução da incubabilidade entre 5 a 30%
Doença de Newcastle	4 – 100%	Casca rugosa e descolorida Diminuição de peso	Ambas reduzidas	Albúmen aquoso, perda da câmara de ar
Influenza Aviária	10 – 70%	-	-	?
Tiamulina-Monensina	40%	?	?	Incubabilidade
				diminuída
Intoxicação por sal	?	?	?	?

**Tabela 3** - Lesões post mortem (macroscópicas) mais comuns dos órgãos dos sentidos e sistema nervoso central e nervos periféricos em aves jovens e em crescimento.

<b>Lugar</b>	<b>Lesão</b>	<b>Enfermidades ou condição para diagnóstico diferencial</b>
Orifícios nasais / Seios infraorbitários	Secreção nasal ou exudado de diferente aparência	Cólera aviária Mycoplasmosis Coriza infecciosa Doença de Newcastle Bronquite infecciosa Laringotraqueite infecciosa aviária Doença respiratória crônica
Olhos	Inflamação da conjuntiva (conjuntivite)  Queratoconjuntivite  Crostras nas pálpebras  Pálpebras torcidas ou rasgadas	Septicemia por E. coli Cólera aviária Doença de Newcastle Síndrome de Cabeça Inchada Laringotraqueite infecciosa Bronquite infecciosa Excesso de amoníaco no galpão Má ventilação Mal manejo Bouba aviária Dermatite de origem nutricional Blefarite traumática
Bico	Crostras nas comissuras Necrose do bico inferior	Dermatite de origem nutricional Enfermidade da mandíbula Micotoxinas (Toxina T2)
Boca	Áreas de necrose	Deficiência de Vitamina A Bouba aviária Estomatite necrótica Toxinas
Nervos	Tumefação dos nervos, descoloração amarelada Inflamação desuniforme, infiltração e perda de estrias	Deficiência de Riboflavina  Doença de Marek

**Tabela 4** - Lesões post mortem (macroscópicas) mais comuns dos órgãos dos sentidos e sistema nervoso central e nervos periféricos em aves adultas.

<b>Lugar</b>	<b>Lesão</b>	<b>Enfermidades ou condição para diagnóstico diferencial</b>
Orifícios nasais / Seios infraorbitários	Secreção nasal ou exudado de diferente aparência	Influenza aviária Mycoplasmosis Coriza Infecciosa Doença de Newcastle Síndrome de Cabeça Inchada Rinotraqueite Infecciosa aviária Bronquite Infecciosa Laringotraqueite infecciosa aviária Enfermidade respiratória crônica
Olhos	Inflamação da conjuntiva (conjuntivite/ queratoconjuntivite)  Crostras nas pálpebras  Opacidade do cristalino	Septicemia por E. coli Cólera aviária Síndrome de Cabeça Inchada Laringotraqueite infecciosa Enfermidade de Newcastle Deficiência de Vitamina A Excesso de amoníaco no galpão Excesso de pó no galpão Nematóides (Oxyspirura mansoni) Bouba aviária Blefarite traumática Cataratas Enfermidade de Marek
Bico	Iris pálida, pupilas desiguais  Crostras nas comissuras Necrose do bico inferior	Encefalomielite infecciosa aviária Linfomatose ocular Dermatite de origem nutricional Enfermidade da mandíbula Micotoxinas (Toxina T2)



Boca	Áreas de necrose	Deficiência de Vitamina A Bouba aviária Estomatite necrótica Toxinas
Nervos	Inflamação com infiltração linfóide e perda de estrias	Enfermidade de Marek

**Tabela 5** - Lesões cerebrais (microscópicas) mais comuns do sistema nervoso central e nervos periféricos.

Lugar	Lesão	Enfermidades ou condição para diagnóstico diferencial
Cérebro	<p>Infiltração perivascular mononuclear</p> <p>Degeneração Neuronal/Neuronofagia</p> <p>Infiltração do Endotélio Vascular</p> <p>Gliose com infiltração vascular</p> <p>Encefalomielite não purulenta</p> <p>Hérnia dos seios venosos (porção antero dorsal)</p> <p>Infiltrado heterófilo com células gigantes</p>	<p>Enfermidade de Marek</p> <p>Toxoplasma</p> <p>Influenza Aviária</p> <p>Influenza aviária</p> <p>Encefalomielite aviária</p> <p>Pneumoencefalite aviária</p> <p>Enfermidade de Marek</p> <p>Enfermidade de Marek</p> <p>Encefalomielite aviária</p> <p>Deficiência de Vitamina A</p> <p>Aspergilosis</p>
Cerebelo	<p>Hemorragias</p> <p>Edema perineural das células de Purkinje</p> <p>Infiltração perivascular mononuclear</p> <p>Gliose na área molecular como agregados nodulares</p> <p>Infiltração heterofílica com focos necróticos</p> <p>Presença de células gigantes</p>	<p>Aspergilose (presença de hifas)</p> <p>Encefalomalacea</p> <p>Encefalomalacea</p> <p>Enfermidade de Marek</p> <p>Encefalomielite aviária</p> <p>Salmonelose</p> <p>Cólera aviária</p>
		Micoplasmose

		Ornitose Riemerella anapestifer
Meninges	Infiltração mononuclear	Cólera aviária Influenza Aviária
Médula espinhal	Degeneração de mielina Gliose Infiltração perivascular	Enfermidade de Marek Deficiência de Vitamina E Encefalomielite aviária Enfermidade de Marek
Nervos	Proliferação de células de Schwann  Desmielinização  Infiltração de Linfoblastos Infiltração de Linfócitos e células plasmáticas Infiltração perivascular  Gliose focal	Deficiência de Riboflavina Enfermidade de Marek Intoxicação por arsenicais Enfermidade de Marek Polineurite idiopática Enfermidade de Marek (tipo A) Enfermidade de Marek (tipoB) Reticuloendoteliase Enfermidades Linfoproliferativas Reticuloendoteliase Enfermidades Linfoproliferativas

## Bibliografia

Acland HM, Silverman Bachin LA, Eckroade RJ. Lesions in broiler and layer chickens in a outbreak of highly pathogenic avian influenza virus infection. **Veterinary Pathology** 1984; 21:564-569.

Biggs PM, Shilleto RFW, Lawn AM, Cooper DM. Idiopathic polyneuritis in SPF chickens. **Avian Pathology** 1982; 11:163-178.

Calnek BW, Barnes JH, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. **Diseases of poultry**. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997.

Charlton BR. **Avian Diseases manual**. Athens: American Association of Avian Pathologists; 2006.

Erichsen S, Harboe A. Toxoplasmosis in chickens. I. An epidemic outbreak of toxoplasmosis in a chicken flock in south-eastern Norway. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica** 1953; 33:56-71.

Erichsen S, Harboe A. Toxoplasmosis in chickens. II. So-called gliomas observed in chickens infected with toxoplasms. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica** 1953; 33:381-386.

Fabri HF, Chamanza R. **A guide to postmortem diagnosis of poultry diseases (with emphasis on chickens and turkeys)**. The Netherlands: Animal Health Services

- Hemboldt CF. Histopathologic differentiation of diseases of the nervous system on domestic fowl (*Gallus gallus*). **Avian Diseases** 1972; 16:229-240.
- Howell J, Thompson NJ. Lesions associated with the development of ataxia in vitamin A deficient chicks. **British Journal Nutrition** 1967; 21:741-750.
- Jackson C. Studies in comparative neuropathology. I. Gliomas of domestic fowl: their pathology with special reference to histogenesis and pathogenesis and their relationship to other diseases. **Journal Veterinary Research** 1954; 26: 501-592.
- Jordan FTW, Pattison M. **Poultry diseases**. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1966.
- Jungherr EL, Minard EL. The pathology of experimental avian penumoencephalitis. **American Journal Veterinary Research** 1944; 5:125-134.
- Jungherr EL, Singesen EP, Matterson LD. Nutritional encephalomalacia in chickens. **Effect of treatment on the pathology. Laboratory Investigation** 1956; 5:120-131.
- Kazacos KR, Wirtz WL. Experimental cerebrospinal nematodiasis due to *Baylisascaris procyonis* in chickens. **Avian Diseases** 1983; 27:55-65.
- Kornegay JN, Gorgakz EJ, Parker MA, Duncan RJ, Schierman LW. Marek's disease virus induced transient paralysis: a comparison of lesions in susceptible and resistant lines of chickens. **Acta Neuropathology** 1983; 61:263:269.
- Mohanty GC, West JL. Avian encephalomyelitis: pathogenesis and histologic features of dorsal root ganglia lesions in chicks. **Avian Diseases** 1973; 17:31-42.
- Oliver J, Lorenz M. **Handbook of veterinary neurology**. 2nd ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 1993.
- Pattison M. Histopathology of some viral infections of the central nervous system of the domestic fowl. **Veterinary Bulletin** 1973; 43:305-310.
- Paul PS, Werdin RE, Pomeroy BS. Spontaneously occurring lympho proliferative disease in ducks. **Avian Diseases** 1978; 22:191-195.
- Ridell C. Avian histopathology. Kennett Square: American Association of **Avian Pathology**; 1987.
- Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne PE. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003.
- West JL, Mohanty GC. Arizona hinshawii infection in turkey poults: pathologic changes. **Avian Diseases** 1973, 17:314-324.
- Wise DR, Hartley WJ, Fowler NG. The pathology of 3-nitro-4-hydroxyphenylarsonic acid toxicity in turkeys. **Research Veterinary Science** 1974; 16:336-340.

## Fisiopatologia do sistema respiratório

<b>Introdução</b>	<b>281</b>
<b>Anatomia e fisiologia do sistema respiratório</b>	<b>281</b>
<b>Mecanismos de defesa naturais</b>	<b>283</b>
<i>Filtração do ar inspirado</i>	283
<i>Epitélio mucociliar de traquéia e brônquios</i>	283
<i>Fagocitose</i>	283
<b>Enfermidades respiratórias importantes</b>	<b>284</b>
<i>Bronquite infecciosa das aves</i>	284
<i>Micoplasmoses</i>	284
<i>Metapneumoviroses</i>	284
<i>Laringotraqueíte</i>	285
<i>Coriza infecciosa</i>	285
<i>Colibacilose</i>	285
<i>Cólera aviária (Pasteurelose)</i>	285
<i>Doença de Newcastle e Influenza aviária</i>	286

<b>Reações respiratórias pós-vacinais</b>	<b>286</b>
<i>Reações de rolagem ou reciclagem</i>	286
<i>Reações pós-vacinais exacerbadas ou complicadas</i>	286
<b>Fatores ambientais</b>	<b>288</b>
<b>Infecções mistas</b>	<b>289</b>
<b>A evolução dos quadros respiratórios</b>	<b>289</b>
<b>O controle das enfermidades respiratórias</b>	<b>290</b>
<i>Biosseguridade</i>	290
<i>Manejo</i>	290
<i>Vacinação</i>	291
<i>Tratamento</i>	292
<b>Monitorias sorológicas</b>	<b>292</b>
<i>Frangos de corte</i>	292
<i>Postura comercial</i>	293
<b>Diagnóstico</b>	<b>293</b>
<b>Enfermidades emergentes</b>	<b>293</b>
<i>Bordetella avium</i>	294
<i>Ornithobacterium rhinotracheale</i>	294
<i>Cryptosporidium sp.</i>	294
<b>Considerações finais</b>	<b>295</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>299</b>

## Fisiopatologia do sistema respiratório

Alberto Yocytaca Inoue; Antonio Guilherme Machado de Castro

### Introdução

As enfermidades que acometem o sistema respiratório são os distúrbios mais frequentemente observados na avicultura. O sistema de criação moderno, baseado em alta densidade, contribui para a deteriorização da qualidade do ar, aumentando os riscos da ocorrência deste tipo de enfermidade e tornando seu controle um dos maiores desafios na atualidade.

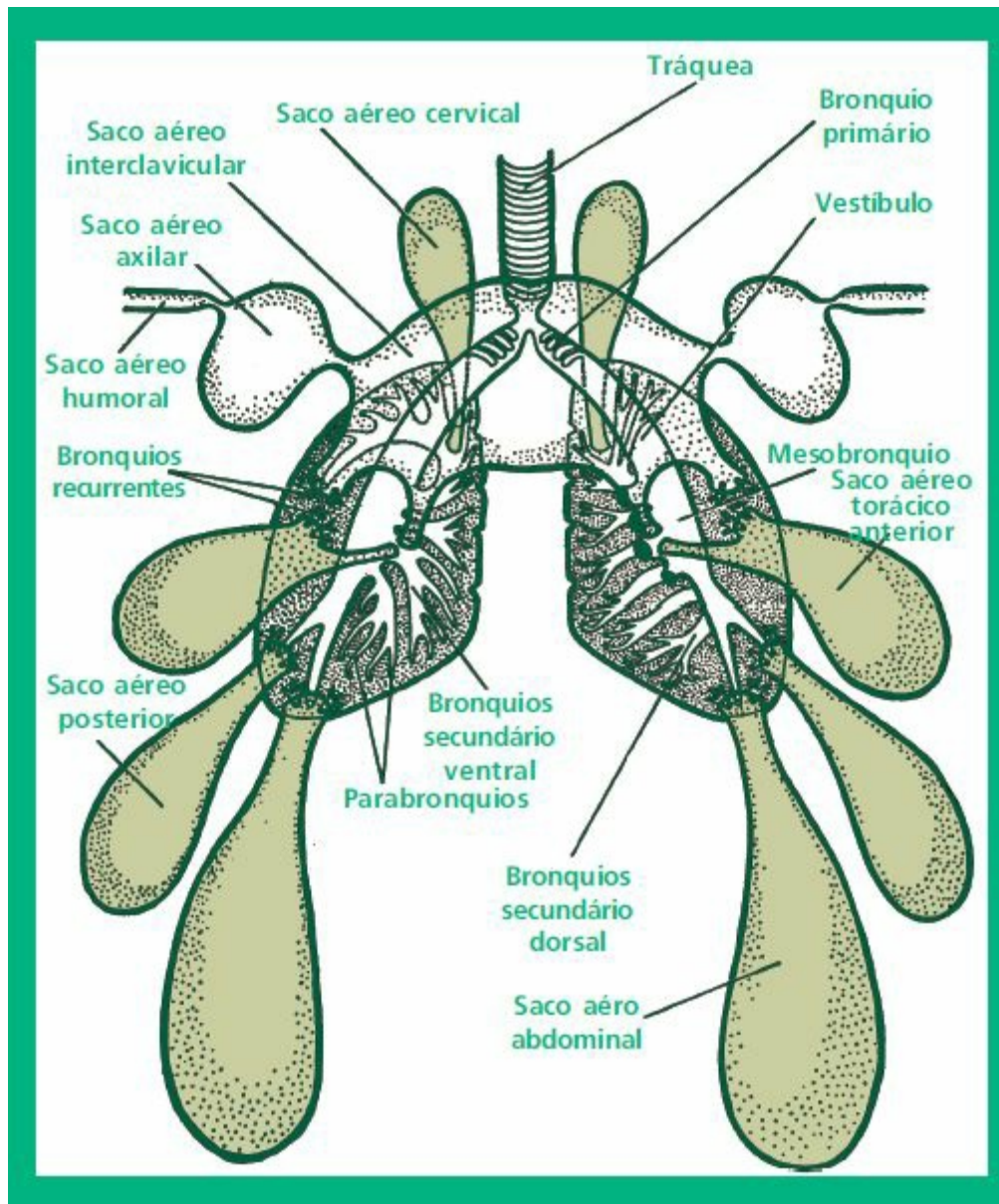
A adaptação evolutiva das aves para atividades como o vôo, fez com que elas apresentassem alta eficiência respiratória pela habilidade em captar ar com baixa oxigenação. Comparativamente, o trato respiratório de uma ave possui um fluxo de ar até três vezes maior que o dos mamíferos (Fedde, 1998; Bernardino, 1999). Devido o sistema respiratório das aves apresentar características peculiares na sua estrutura, como amplos sacos aéreos preenchendo todos os espaços vazios das cavidades torácicas e abdominais (Macari & Givisiez, 2002), elas são tão sensíveis a injúrias nesse complexo.

Nos últimos anos, inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas com intuito de se conhecer melhor as enfermidades respiratórias. Entretanto, apesar da evolução no estudo dos agentes etiológicos isoladamente, os desafios respiratórios mais presentes no campo estão relacionados a causas multifatoriais, em que dois ou mais elementos estão presentes. Quadros clínicos respiratórios podem envolver vírus, bactérias, agentes imunossupressores, condições ambientais desfavoráveis e, até mesmo, vírus vacinais em reações de reciclagem decorrentes de manejo ineficiente (Kleven, 2003).

### Anatomia e fisiologia do sistema respiratório

O sistema respiratório das aves tem como principal função a troca gasosa de oxigênio e gás carbônico entre a atmosfera e o sangue (Fedde, 1998). Relacionam-se ainda a este sistema, a regulação térmica e a fonação. A narina é a porta de entrada do trato respiratório, seguindo pela laringe e traquéia. A traquéia se ramifica em dois brônquios primários extrapulmonares, que se ligam aos pulmões. Nas aves, os pulmões são relativamente rígidos e não realizam os movimentos de contração e retração durante a respiração. A função dos pulmões é de permitir a troca gasosa com o sangue em toda sua extensão superficial, que é proporcionalmente pequena em relação aos mamíferos. Os pulmões são ligados a estruturas peculiares às aves, denominadas de sacos aéreos. Adicionando-se o volume de ar dos sacos aéreos aos dos pulmões e do espaço aéreo do esqueleto, um frango de 2,9kg teria um volume respiratório total de 298mL (Macari & Givisiez, 2002). As aves possuem um total de nove sacos aéreos sendo dois cervicais, um clavicular, dois craniorádicos, dois caudotorádicos e dois abdominais, dentre os quais, os três primeiros são chamados de craniais e os últimos de caudais ([Figura 1](#)). A concentração de oxigênio é maior e o

de dióxido de carbono é menor nos sacos aéreos caudais. Já os sacos aéreos craniais, são importantes sítios de resfriamento evaporativo, auxiliando a eliminação de calor pela ave sem comprometimento do equilíbrio ácido básico.



**Figura 1** - Estrutura de sacos aéreos e pulmões de aves.

Os pulmões dos frangos de corte podem ser divididos em duas partes: o paleopulmo, um conjunto de 300 a 500 parabronquios paralelos que unem os brônquios mediodorsais e medioventrais e o neopulmo, formado por brônquios laterodorsais e outros parabronquios (Macari & Givisiez, 2002).

Os músculos inspiratórios e expiratórios, ativos durante o ciclo respiratório, originam as forças que movem os gases através dos pulmões. A contração dos músculos inspiratórios provoca um aumento no volume corporal e, conseqüentemente, no volume dos sacos aéreos. A pressão nos sacos aéreos se torna menor do que a pressão atmosférica, permitindo a entrada do ar. Para superar a resistência dos componentes tubulares do sistema respiratório, que aumenta quando há maior fluxo de ar, é necessário um esforço físico extra pelos músculos respiratórios, o que justifica a respiração mais profunda e lenta das aves.

O movimento dos gases nos pulmões das aves é unidirecional, do brônquio primário

intrapulmonar para os brônquios secundários mediodorsais e depois para os brônquios secundários medioventrais, passando pelos parabônquios do paleopulmo. Não existem válvulas que determinam a direção do fluxo no paleopulmo, logo esta parece estar relacionada às condições aerodinâmicas dentro dos pulmões do frango de corte. Durante a inspiração, a válvula aerodinâmica depende da velocidade e da densidade do gás, sendo mais efetiva com maior velocidade do gás. Há uma região de constricção do brônquio primário intrapulmonar, denominada *segmentum accelerans*, que acelera o gás durante a inspiração, impedindo-o de entrar nos brônquios secundários medioventrais. Na expiração, a compressão do brônquio primário intrapulmonar aumenta a resistência do fluxo, limitando a quantidade de gás que passaria diretamente dos sacos aéreos caudais para a traquéia e obrigando a passagem pela área de troca gasosa. Na respiração normal, a eficiência do mecanismo expiratório da válvula aerodinâmica é de aproximadamente 95%, logo apenas 5% do ar passa direto pela traquéia e não sofre troca gasosa (Fedde, 1998).

A conformação anatômica dos capilares aéreos e capilares sangüíneos, nas aves permite a passagem do ar em ângulo reto através dos parabônquios com o fluxo sanguíneo venoso, estabelecendo-se um sistema de troca gasosa em contra-corrente. A troca gasosa é realizada com maior eficiência quando o gás entra no parabônquio, devido à maior diferença de pressão parcial dos gases, com relação ao sangue na porção inicial do parabônquio. Além disso, a ausência de alvéolos possibilita uma circulação contínua do ar através dos capilares aéreos anastomosados. Logo, a eficácia do sistema de troca gasosa das aves é muito maior que a dos mamíferos.

A capacidade de difusão dos gases entre os capilares aéreos e sangüíneos é influenciada pela afinidade da hemoglobina pelo oxigênio que, segundo estudos, é a mesma daquela verificada em mamíferos, no entanto, a difusão é 3 a 4 vezes maior nas aves devido às características da barreira ar-sangue.

## Mecanismos de defesa naturais

O sistema respiratório das aves possui alguns mecanismos de defesa contra partículas inaladas que devem ser preservados para o melhor combate as enfermidades desses órgãos (Fedde, 1998; Macari, 2002).

### Filtração do ar inspirado

O sistema respiratório superior impede a entrada de partículas grandes, maiores que 4mm, para o organismo da ave (Hayter, Besch, 1974). Por meio do batimento dos cílios das superfícies mucosas na cavidade nasal, as partículas juntamente com o muco são levadas à faringe, onde podem ser engolidas e eliminadas com as fezes. Além da filtração, o trato respiratório superior é responsável por aquecer e umidificar o ar inspirado.

### Epitélio mucociliar de traquéia e brônquios

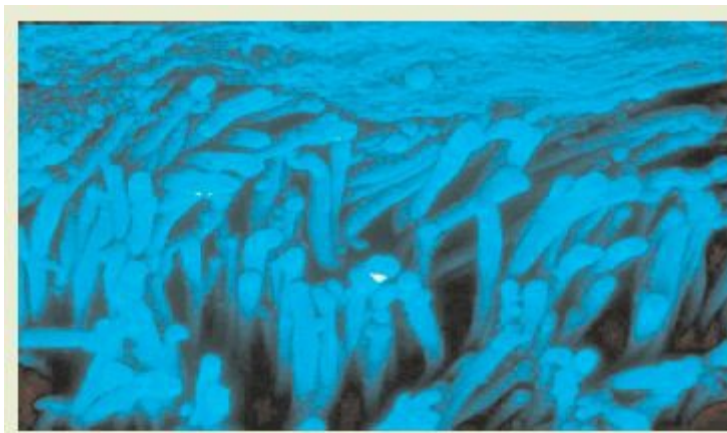
As vias respiratórias superiores são revestidas por epitélio produtor de muco, onde partículas estranhas se aderem e são removidas pelos batimentos dos cílios traqueais em direção à cavidade oral (**Figura 2**). O direcionamento do muco é importante para a proteção das aves contra agentes



patogênicos transmitidos via aérea (Doretto *et al.*, 1999). Nos brônquios secundários, a maior parte do revestimento epitelial é cuboidal e escamoso. Nos parabrônquios não há cílios, não tendo a capacidade de remoção de partículas inaladas como nas vias superiores. Nesses órgãos, a eliminação das partículas é realizada possivelmente por fagocitose (Mensah & Brain, 1982). Qualquer agente que reduza a motilidade ciliar ou prejudique o epitélio ciliar poderá afetar adversamente a resistência das aves aos microrganismos que penetram pela via respiratória (**Figura 3**).



**Figura 2** - Fotografia de microscopia eletrônica do epitélio mucociliar.



**Figura 3** - Fotografia de microscopia eletrônica de partículas infectantes com acúmulo de muco sobre o epitélio mucociliar.

## Fagocitose

Considerando o carpete mucoso como a primeira linha de defesa para remoção de partículas estranhas, tem-se então, o sistema macrofágico como segunda linha de defesa. A presença de macrófagos no sistema respiratório das aves (Klika *et al.*, 1996) pode ser induzida por substâncias estranhas, patógenos e esporos. Os macrófagos atraídos por quimiotaxia têm capacidade fagocitária muito grande. O ar que entra nos sacos aéreos craniais passa pelos parabrônquios pleopulmonares e sofre remoção de partículas estranhas pequenas, nos sacos aéreos caudais o ar passa diretamente sem ser filtrado. Por essa razão, os sacos aéreos caudais são mais propensos a infecções. Após a fagocitose pelos macrófagos, as partículas são removidas pelos pulmões (Fedde, 1998).

Quando os mecanismos de defesa naturais são vencidos, os animais tornam-se mais susceptíveis a

enfermidades. Uma série de fatores pode lesar o sistema respiratório das aves e o conhecimento dos mesmos é fundamental para um controle efetivo.

## Enfermidades respiratórias importantes

### Bronquite infecciosa das aves

É uma doença viral aguda causada por um *Coronavirus sp.* e acomete os trato: respiratório e genito-urinário de galinhas e frangos de corte.

Os sinais clínicos e lesões variam de acordo com as condições ambientais e o patotipo envolvido. Geralmente, estão relacionados com quadros respiratórios caracterizados por estertores traqueais, tosse e espirro. Já no trato reprodutivo, observa-se com frequência, uma queda na produção com perda de qualidade de casca (Cavanagh, Naqi, 2003).

O diagnóstico prévio é baseado no histórico do lote, nos sinais clínicos e nas lesões. A sorologia é um bom método de diagnóstico e deve ser feito de maneira pareada com intervalo de duas a três semanas, onde a primeira coleta é realizada no momento da manifestação clínica.

A confirmação se faz por meio do envio de amostras de órgãos congelados como a traquéia, pulmões, rins e tonsilas cecais, que serão utilizados para exames laboratoriais como isolamento viral e reação de cadeia da polimerase (PCR).

Devido à tendência de alterar suas características antigênicas, a bronquite infecciosa é frequentemente a doença viral mais presente na maioria das áreas de produção de aves no mundo (Villegas, 1998).

### Micoplasmoses

São os menores procariontes (bactérias) conhecidos, assemelhando-se aos grandes vírus e desprovidos de parede celular, o que os torna naturalmente resistentes a alguns antibióticos (Nascimento, 2000).

Os principais quadros causados são a doença crônica respiratória (DCR) e aerossaculite por *Mycoplasma gallisepticum* (MG) e sinovite infecciosa causada por *Mycoplasma synoviae* (MS). Entre as diferentes espécies de micoplasma, o MG é o responsável por maiores perdas na avicultura nacional.

As aves acometidas por MG apresentam estertores respiratórios (ronqueira), descarga nasal, tosse e queda na produção de ovos. As lesões macroscópicas incluem exsudato catarral no trato respiratório superior, traquéia, brônquios e sacos aéreos. Em casos mais severos, encontram-se sacos aéreos com material caseoso, pneumonia, salpingite (Domermuth *et al.*, 1967) ceratoconjuntivite, perihepatite e pericardite fibrinopurulenta devido a complicações secundárias.

A transmissão pode ocorrer por meio do contato direto entre aves, materiais contaminados e poeira. A outra forma de contágio é a transmissão vertical, onde o agente é transmitido através dos ovos. A aquisição de aves negativas é fundamental para o controle da enfermidade.

A sorologia rápida tem sido o exame mais utilizado para monitoria de lotes. Diante de um resultado suspeito, a confirmação deve ser feita por teste de Inibição da hemaglutinação (HI) ou ELISA

## Pneumovirose

A pneumovirose aviária (PVA) também conhecida como rinotraqueíte dos perus (TRT) ou síndrome da cabeça inchada (SHS), é uma enfermidade causada por um agente do gênero pneumovirus pertencente à família Paramyxoviridae.

O PVA é um vírus que acomete o trato respiratório, portanto, sua principal forma de contágio é através de aerossóis no contato com aves infectadas. Muco e secreções nasais parecem ser os principais meios de transmissão. Não existe evidência de transmissão vertical (Gough, 2003).

Os sinais clínicos observados são os espirros, tosse, estertores, lacrimejamento, descargas nasais, conjuntivite, inchaço do sinus infraorbital, edema de submandíbula, sonolência e depressão. Também é observada a presença de muco na traquéia.

Na síndrome da cabeça inchada, sintomas nervosos como torcicolo, opistótono e desorientação cerebral estão associados à doença e podem ser observados dentro de 24 horas.

Anormalidades reprodutivas como peritonite, regressão de ovário e prolapso de oviduto também são observadas nos casos de pneumovirose. Em aves de postura, a produção pode ter quedas acima de 20%, com aumento de peritonite e perda na qualidade de casca. Em reprodutoras, a eclodibilidade e a mortalidade de embriões podem ser afetadas.

O diagnóstico definitivo da PVA faz-se por meio do isolamento viral ou PCR em amostras de traquéia ou cornetos nasais, preferencialmente coletados nos primeiros quatro dias da infecção.

A sorologia é um importante auxiliar no diagnóstico do PVA. Cinco a sete dias após a infecção de campo, a imunidade humoral pode ser detectada por testes de Elisa, Soroneutralização e imunofluorescência indireta. Em aves vacinadas, os anticorpos são observados normalmente 21 dias após a vacinação.

## Laringotraqueíte

A Laringotraqueíte Infecciosa (LTI) é uma doença infecciosa de galinhas causada por um herpesvirus.

Dentre os sinais clínicos da LTI estão a tosse, a conjuntivite, a depressão e a dificuldade respiratória, normalmente acompanhada da expectoração de exsudato sanguinolento. Em aves de vida longa, as perdas estão relacionadas com a mortalidade e queda na produção de ovos. Em casos mais graves, a mortalidade pode ultrapassar 50% (Hanson, Bargust, 2003).

Apesar da doença afetar aves de todas as idades, a maioria dos sinais clínicos é observada em aves adultas. A porta de entrada natural da doença é o trato respiratório superior e a via ocular e a transmissão ocorre pelo contato direto entre aves ou indiretamente por equipamentos e cama contaminados.

O diagnóstico pode ser realizado por isolamento de órgãos, PCR, histopatologia de traquéia, anticorpos fluorescentes e teste de ELISA.

## Coriza infecciosa

É uma doença do trato respiratório superior causado pelo *Avibacterium paragallinarum* (HPG).

A doença é caracterizada pelo inchaço nos sinus infraorbitais, descarga nasal e depressão. A enfermidade acomete mais comumente aves adultas e pode causar perdas significativas na produção (Glisson, 1998).

O HPG não sobrevive bem fora da ave e sua disseminação ocorre por fômites ou transito de pessoas contaminadas. Sua excreção pode ocorrer durante toda a vida da ave, razão pelo qual o problema pode persistir, sobretudo em granjas de múltiplas idades.

O diagnóstico é realizado por exame clínico e lesões. Posteriormente, a confirmação se faz por isolamento, a partir de suabes nasais no início da infecção.

## Colibacilose

Colibacilose é o termo utilizado para infecções localizadas ou sistêmicas causadas por *Escherichia coli* (*E. coli*).

A *E. coli* freqüentemente infecta o trato respiratório de aves em combinação com diversos agentes como aqueles que causam bronquite infecciosa, doença de Newcastle e micoplasmoses.

A configuração anatômica do trato respiratório favorece a penetração e a disseminação da *E. coli* no interior da ave, principalmente quando as vias aéreas superiores têm algum tipo de comprometimento. A manifestação é identificada pela presença de aerossaculite, pneumonia, pleuropneumonia, pericardite e perihepatite. Menos freqüentemente verifica-se salpingites e infecções locomotoras como conseqüência das colibaciloses.

Embora não haja maneiras de se evitar a presença da *E. coli* no trato gastrintestinal da ave (Barnes, Gross, 1997), a adoção de medidas como a vacinação, controle da qualidade do ar, higiene e desinfecção ajudam a reduzir a presença desta bactéria, minimizando sua ação oportunista nos processos patológicos respiratórios.

Infecções por *E. coli* vêm aumentando em granjas avícolas, indicando uma evolução na importância deste patógeno na indústria (Vandemaele *et al.*, 2002).

## Cólera aviária (Pasteurelose)

É uma doença que afeta muitas espécies de aves e é causada pela *Pasteurella multocida* (PM).

A PM é capaz de se multiplicar na corrente sanguínea das aves e como resultado da bacteremia pode colonizar rapidamente muitos órgãos causando lesões purulentas típicas nas articulações, barbelas, ovários, cérebro, fígado, baço e pulmões (Rimler, Glisson, 1997). A manifestação respiratória é a mais típica e a ave pode rapidamente sucumbir à doença, sendo muito importante à

remoção imediata das aves mortas, que são fonte de infecção quando as demais ingerem sua carcaça (canibalismo).

Drogas como a tetraciclina, sulfonamidas, penicilinas e fluorquinolonas são efetivas no tratamento da cólera aviária. A prevenção pode ser feita por vacinas inativadas e vivas, porém, no Brasil é pouco utilizada atualmente.

## Doença de Newcastle e Influenza aviária

São as duas únicas enfermidades aviárias, de notificação obrigatória, pertencentes à Lista A da OIE (Escritório Internacional de Epizootias) pela alta patogenicidade e rápida difusão, com sérias conseqüências sócio-econômicas.

O agente da doença de Newcastle pertence à família Paramyxoviridae. Para fins didáticos, os sinais clínicos da enfermidade variam de acordo com o patotipo envolvido: velogênico viscerotrópico, velogênico neurotrópico, mesogênico, lentogênico (ou vacinal) e enterica assintomática (Paulillo, 2000). Atualmente, a patogenicidade é avaliada pelo IPIC (índice de patogenicidade intracerebral), no qual as amostras com índice superior a 0,7 são considerados patogênicos e com valores inferior são classificados como vacinais ou não patogênicos.

Já a influenza aviária (IA) ganhou muita importância devido aos recentes episódios na Ásia, Europa e América do Norte. A IA é uma doença infecto-contagiosa causada pelo vírus da influenza do tipo A, pertencente à família Orthomyxoviridae. Dentre os inúmeros subtipos, aqueles que incluem as hema-glutininas H5eH7 são potencialmente os mais destrutivos.

Ambas doenças em suas formas mais patogênicas são responsáveis por quadros de alta mortalidade, distúrbios respiratórios, digestivos e nervosos, chegando a provocar 100% de mortalidade em curto espaço de tempo (Martins, 2004).

O diagnóstico prévio é baseado nos sinais clínicos e lesões. A confirmação deve ser feita por isolamento, identificação e tipificação do agente. Provas de identificação direta do agente como imunofluorescência, imunohistoquímica, ELISA de captura e PCR podem ser utilizadas.

## Reações respiratórias pós-vacinais

Incluem-se neste capítulo as reações respiratórias pós-vacinais, pois estas apresentam sinais clínicos semelhantes aos encontrados em enfermidades respiratórias e em alguns casos complicados, podem evoluir para tal.

Embora sejam necessárias para induzir a produção da resposta imune, as vacinas contendo vírus vivos que se replicam no trato respiratório das aves, causam danos leves às células epiteliais da traquéia.

As reações pós-vacinais para vacinas contra a bronquite infecciosa e doença de Newcastle tornam-se aparentes em torno de quatro dias após a vacinação e persiste por cerca de três a cinco dias. Ruídos respiratórios leves, olhos umedecidos, agitação na cabeça, procura pela fonte de calor e diminuição da atividade são alguns dos sinais clínicos apresentados durante as reações

(Manfredini *et al.*, 1991).

As reações respiratórias podem se tornar um problema dentro de uma granja quando mal manejadas ou quando são decorrência de falhas no processo de vacinação.

### Reações de rolagem ou reciclagem

Em algumas vacinas vivas como aquelas contra a doença de Newcastle, bronquite infecciosa e laringotraqueite infecciosa, pode ocorrer a reativação da virulência da cepa vacinal através da passagem em aves (Eidson, 1977; Guy, 1991; Hopkins, 1984). Normalmente, esse tipo de reação ocorre quando há falha no processo de vacinação e parte das aves não são imunizadas. Como consequência é uma reação respiratória com maior intensidade e duração mais prolongada, podendo levar a uma mortalidade acima da média e favorecendo o aparecimento de infecções secundárias por *E. coli*.

Em um estudo com aves experimentalmente desafiadas por *Mycoplasma synoviae*, a incidência de aerossaculite aumentou de 10% em lotes expostos a vacina de bronquite infecciosa sem passagem em aves para 53-55% para aquelas que receberam vacina de bronquite infecciosa com seis passagens em aves (Hopkins, 1984).

### Reações pós-vacinais exacerbadas ou complicadas

- **Aves positivas para *Mycoplasma gallisepticum***

A vacinação de bronquite infecciosa e doença de Newcastle em aves contaminadas com outros patógenos como *M. gallisepticum* e *M. synoviae* pode levar a uma reação vacinal severa (Bradbury, 1984). Da mesma maneira, a vacinação em pintos de um dia em ambientes muito contaminados por *E. coli*, pode levar a reações severas após a vacinação com Newcastle e bronquite infecciosa.

**Tabela 1** - Incidência e severidade de aerossaculite em frangos após exposição a *Mycoplasma synoviae* e vacinação contra bronquite infecciosa, cepa Massachusetts antes e depois de passagens em aves (adaptado de Hopkins & Yoder, 1984).

	<u>Aerossaculite</u>		
	MS	% incidência	Score
CPV-0	+	10	0,5
CPV-0	-	0	0
CPV-6	-	0	0
CPV-6	+	55,3	1,3
CPV-6	+	55,3	1,3

CPV-0 = chicken-virus passage – vacina de bronquite infecciosa sem passagem em aves. CPV-6 = chicken- virus passage – vacina de bronquite infecciosa com 6 passagens em aves por via intratraqueal.

- **Agentes imunossupressores**

Os eventos mais importantes no crescimento das aves para um bom desenvolvimento imune começam no embrião e continuam até a primeira semana de idade (Gobel, 1996). A primeira semana de vida é um período de rápida expansão da população de leucócitos, semeadura de órgãos linfóides e eventos que produzem clones únicos de linfócitos que irão mediar a imunidade mais tarde.

Desafios precoces pela doença de Gumboro afetam a resposta imune humoral e a resistência contra doença de Newcastle (Farranger *et al.*, 1974, Giambrone *et al.*, 1977), bronquite infecciosa (Peighambari *et al.*, 2000; Winterfield *et al.*, 1978), *M. synoviae* (Giambrone *et al.*, 1977) e *Aspergillus flavus* (Okoye *et al.*, 1991). Infecções pela doença de Gumboro no 21º dia de vida em frangos de corte causaram redução de células plasmáticas na glândula de Harder (Dohms *et al.*, 1988), depressão no título de anticorpos na resposta imune local e sistêmica (Dohmas, Jaeger, 1988). Uma redução na capacidade de opsonização dos anticorpos pode exacerbar os sinais clínicos da bronquite infecciosa em co-infecções com a doença de Gumboro.

Desafios pelo vírus da doença de Marek e pelo vírus da anemia infecciosa também causam imunossupressão prejudicando a resposta imune contra agentes respiratórios. (Kleven *et al.*, 1972;

Hagood *et al.*, 2000). Ragland *et al.* (1998) associou desafios pela anemia infecciosa com a redução nos títulos vacinas para a doença de Newcastle.

A composição da dieta pode modular a susceptibilidade das aves a infecções e sutis alterações na formulação dos ingredientes podem exercer importância crítica na resistência a enfermidades. Klasing (1998) descreveu a relação entre o estado nutricional e a resposta imune das aves.

- **Qualidade dos pintos de um dia**

Pintos de qualidade inferior (Dufour-Zavala, 1999), desidratados ou afetados por agentes bacterianos e fúngicos também são fortes candidatos a reações exacerbadas devido a maior debilidade de seu sistema imune. A imunossupressão pode ter origem viral, nutricional (micotoxinas, deficiências vitamínicas, etc) e ambiental por estresse devido a um manejo precário (Manfredini *et al.*, 1991).

A fumigação em pintos no incubatório pode causar danos ao epitélio traqueal possibilitando a ocorrência de doenças respiratórias precoces (Di Matteo *et al.*, 2000). Cinco dias após a exposição, os pintos apresentam muco na traquéia em quantidades excessivas (Sander *et al.*, 1995).

Pintos com baixos níveis de anticorpos maternos para bronquite infecciosa são mais sujeitos a reações severas após a vacinação no primeiro dia de idade (Manfredini *et al.*, 1991).

- **Aplicação incorreta de vacinas por aspersão**

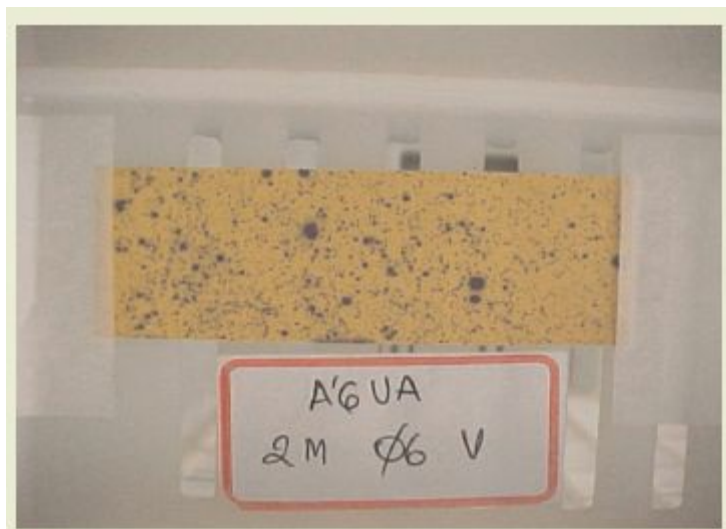
A vacinação por aspersão é muito difundida para administração de vírus com tropismo respiratório devido à praticidade e bom estímulo da imunidade local. Em contrapartida, falhas no processo de aplicação podem levar a quadros respiratórios indesejáveis (Bermudez, Stewart-Brown, 2003).

Gotas muito finas da solução contendo vírus vacinais da bronquite infecciosa podem permitir o acesso do vírus vacinal a tecidos respiratórios profundos, resultando em replicação viral excessiva nos pulmões e sacos aéreos, levando a uma resposta imune exacerbada (Villegas *et al.*, 1976). Por outro lado, gotas muito grossas ou desuniformes podem levar a uma subdosagem devido à exposição insuficiente à vacina (Bernardino, 2004). Nas [Figuras 4 e 5](#), observam-se as diferenças em uniformidade de gotas vacinais com o uso ou não de diluente específico para vacinação spray em papel hidrossensível. A vacina viva de MG é uma exceção, pois se recomenda o uso de gotas finas para a vacinação.





**Figura 4** - Imagem de gota em soluções contendo 100% de diluente específico em pulverizador costal.



**Figura 5** - Imagem de gota utilizando somente água em pulverizador costal.

A manutenção e limpeza adequada dos equipamentos pulverizadores, o controle da pressão utilizada, o veículo utilizado na diluição, as condições ambientais e a aplicação correta são fundamentais para se evitar esse tipo de situação.

- **Reação potencializada de vacinas com tropismo respiratório**

Em geral, recomenda-se que as vacinas vivas respiratórias sejam administradas com um intervalo mínimo de 10 a 14 dias entre aplicações. Devido ao fato da maioria destes vírus possuírem mesmo sítio de replicação, a aplicação de doses em datas muito próximas pode levar a uma reação pós-vacinal exacerbada.

Vacinas vivas contra laringotraqueite infecciosa, *Mycoplasma gallisepticum*, bronquite infecciosa, entre outras, figuram entre as quais recomenda-se manter um intervalo entre aplicações.

O uso de vacinas com cepas enterotrópicas de Newcastle tem sido uma alternativa de redução das reações pós-vacinais respiratórias devido ao seu tropismo pelo trato intestinal. Esse tipo de vacina é recomendada para aves com idade superior a 14 dias, pois o vírus vacinal pode sofrer a

ação dos anticorpos maternos em aves mais jovens.

Um outro aspecto da associação de vacinas vivas com tropismo respiratório é a interferência na resposta imune de uma ou de ambas. Winterfield (1984) sugere a utilização de vacinas com títulos de 2 a 3log maiores para o vírus de Newcastle quando associados à vacina de bronquite infecciosa. Atualmente, existem no mercado vacinas combinadas de doença Newcastle e bronquite infecciosa que são formuladas dentro destas especificações.

## Fatores ambientais

A incidência de doenças respiratórias é afetada significativamente por fatores ambientais e a severidade dessas enfermidades é exacerbada nos meses de inverno. Frangos de corte desafiados por *M. synoviae* e bronquite infecciosa tiveram lesões mais severas de aerossaculite quando alojadas em temperaturas de 7 a 10°C que em 24 a 29°C ou 31 a 32°C (Yoder *et al.*, 1977).

A temperatura, ventilação, umidade, amônia e a poeira fazem interações importantes com agentes infecciosos produzindo quadros clínicos respiratórios ([Figura 6](#)).



**Figura 6** - Incidência de sol no interior das instalações diretamente sobre as aves.

A amônia é um dos principais fatores que podem desencadear ou agravar um quadro respiratório em aves, quando em níveis entre 25 e 50ppm, tem-se como resultado uma redução no ganho de peso, aumento no tamanho dos pulmões e aumento na aerossaculite em aves desafiadas por bronquite infecciosa (Kling *et al.*, 1974). Concentrações, de 75 a 100ppm, têm reduzido em 15% tanto a produtividade de frangos de corte como a produção de ovos (Macari, Furlan, 2002).

Em galpões de frango de corte, as maiores perdas por colisepticemias geralmente ocorrem uma semana após o número de coliformes em amostras de poeira atingirem o pico (Carlson, Whenhan, 1968).

## Infecções mistas

São um grande desafio e podem ocorrer em consequência da interação da ação de vários dos agentes citados anteriormente. As infecções mistas são complicadas, a medida que se torna difícil a identificação do agente primário que desencadeou o quadro clínico ([Figura 7](#)).



**Figura 7** - Ave acometida por infecção mista de Pneumovírus, *Mycoplasma gallisepticum* e *E. coli*.

A interação de vírus vacinais como da bronquite infecciosa ou da doença de Newcastle, em conjunto com micoplasmoses e *Escherichia coli* resultaram em doença respiratória mais severa que a presença de apenas dois deles (Nakamura *et al.*, 1994; Springer *et al.*, 1974). Aves expostas à bronquite infecciosa e MG se tornavam susceptíveis a *E. coli* somente oito dias após o desafio (Gross, 1990).

Em um estudo comparando o número de isolamentos de *E. coli* no trato respiratório superior após o desafio experimental no primeiro dia por *E. coli* ou pneumovírus mais *E. coli*, Abdul-Radman *et al.* (2001) verificaram 56%-67% de isolamentos positivos no desafio somente por *E. coli*, enquanto obteve 81%-100% nas infecções mistas.

A resposta sorológica para *Mycoplasma synoviae* foi afetada por aves infectadas pelo vírus da Marek (Kleven *et al.*, 1972) e pelo vírus da doença de gumboro (Giambrone *et al.*, 1977).

## A evolução dos quadros respiratórios

De uma maneira geral, apesar das particularidades de cada enfermidade, a manifestação clínica respiratória segue um curso semelhante (Bernardino, 1999). Tal seqüência de eventos é mais evidente em frangos de corte quando comparados a poedeiras comerciais devido a características da conformação física e tipo de instalação envolvida. Quando se classificam as fases, obtém-se:

### Fase 1

Sinais clínicos inespecíficos incluindo apatia e redução de ruídos no interior dos galpões.

### Fase 2

Nesta fase, identificam-se ruídos moderados, tosse e espirros discretos.

Verificam-se alterações na aparência externa das aves como edemas de pálpebras e sinais de irritação ocular.

### Fase 3

Os sinais clínicos respiratórios tornam-se mais evidentes e com maior frequência de observação.

Em associação a esses sinais clínicos verifica-se a presença de secreções nasais e traqueais. Tais secreções evoluem de serosa a mucosa, de acordo, com a fase de evolução do quadro clínico.

Dentre as evidências da enfermidade sistêmica, observa-se elevação de temperatura corporal, eriçamento de penas e prostração.

Descrevem-se ainda uma maior ocorrência de aves com edema periorbital e lacrimejamento.

### Fase 4

O processo atinge sua fase final, onde as aves evoluem para a recuperação ou seguem para o agravamento e morte.

No quadro complicado, as aves apresentam depressão crônica, dificuldade respiratória e inapetência. A morte relaciona-se com a septicemia decorrente de infecções secundárias ou em enfermidades como a laringotraqueite, devido à obstrução das vias respiratórias culminando em asfixia.

## O controle das enfermidades respiratórias

Muitos fatores estão envolvidos no controle das enfermidades respiratórias, entre os quais três pilares são fundamentais: a biosseguridade, o manejo adequado das aves e a boa vacinação.

### Biosseguridade

Diante de um número cada vez maior de enfermidades potencialmente patogênicas, a biosseguridade se tornou fator fundamental na indústria avícola mundial. Em seu sentido geral, ela significa o estabelecimento de um nível de segurança de seres vivos por intermédio da diminuição do risco de ocorrência de enfermidades agudas ou crônicas em uma determinada população.

Em produção de aves, um programa de biosseguridade significa o desenvolvimento e implementação de um conjunto de políticas e normas operacionais rígidas que terão a função de proteger os rebanhos contra a introdução de qualquer tipo de agentes infecciosos, sejam eles vírus, bactérias, fungos ou parasitas (Sesti, 2004).

Várias medidas estão envolvidas nesse tema, entre elas, o controle de trânsito, o manejo de dejetos, controle de pragas, intervalo entre lotes, controle de matéria prima, água e pintos, entre outras.

De maneira geral, as medidas a serem adotadas teoricamente não são difíceis. Por outro lado, a prática exige muita disciplina e treinamento de todos os funcionários. Um bom exemplo foi o estudo desenvolvido por Ruano *et al.* (2001), demonstrando a importância da limpeza prévia das

instalações antes da desinfecção propriamente dita. Além da retirada da matéria orgânica, o tempo de contato do desinfetante com o agente, foi muito importante para sucesso no processo de preparação dos galpões.

O intervalo entre lotes alojados também é essencial para a inativação ambiental de alguns patógenos. O período de vazio deve ser superior a 15 dias.

## Manejo

A necessidade de um bom manejo relaciona-se ao conceito de que aves com bom estado sanitário são mais resistentes a enfermidades e atingem mais facilmente os índices zootécnicos esperados de cada linhagem. O bom manejo abrange vários aspectos como a temperatura ideal, ventilação adequada, água de boa qualidade, ausência de estresse, entre outros aspectos. É importante lembrar, que condições de estresse podem levar as aves, a manifestar algumas doenças em estado latente ou subclínico. Atualmente, com a grande evolução na genética e na nutrição das aves, o manejo adequado tem sido o diferencial entre as empresas com resultados bons e ruins.

Um exemplo de evolução no manejo foi à mudança dos sistemas de água abertos (calha) para fechados como o nipple que reduziu significativamente a umidade do esterco e a passagem de doenças entre aves (Dekichi, 1998).

O controle da temperatura ambiente também é de extrema importância, pois exerce grande influência sobre o sistema respiratório das aves. Em temperaturas elevadas, um dos principais mecanismos para perda de calor é o resfriamento evaporativo por aumento da frequência respiratória. As aves têm a capacidade de aumentar até 10 vezes sua frequência respiratória. Por outro lado, essa alternativa traz efeitos indesejáveis como a alcalose respiratória, que afeta a concentração de cálcio no sangue e pode resultar em ovos pequenos e com a casca fina (Macari, Furlan, 2002).

Nãas (1997) relatou que na maioria das regiões produtoras do Brasil, somente a ventilação natural não é suficiente para manter a termoneutralidade, necessitando de ventilação forçada. O sistema de ventilação deve ser projetado, mantido e utilizado de maneira a evitar que as aves fiquem expostas a elevados teores de gases, como amoníaco, sulfureto de hidrogênio e monóxido de carbono. Os teores elevados destes gases podem causar desconforto e são nocivos para a saúde das aves.

O aumento na velocidade do ar em um aviário, via ventilação forçada, tem sido utilizado como um meio para reduzir o estresse calórico das aves, em condições de altas temperaturas associadas a alta umidade relativa, pois melhora a habilidade das aves em dissipar calor por convecção.

Já a nebulização é um sistema usado em regiões extremamente quentes, pois a ventilação natural ou artificial torna-se insuficiente para produzir o arrefecimento da temperatura do ar. Esse sistema forma gotículas que asseguram uma evaporação muito rápida, com conseqüente retirada de calor do ambiente. Ao passar do estado líquido para o gasoso, a água retira do ambiente cerca de 584kcal para cada

1kg de água evaporada, dependendo da temperatura do ambiente (Lee, Sears, 1992). Na prática,

detectou-se uma redução média de até 6°C com 5 minutos de uso de nebulizadores e ventiladores. Entretanto, quando implantado este sistema de nebulização, é importante observar a umidade relativa do ar, quando estiverem em torno de 60 a 70%, a nebulização deve ser encerrada, mantendo ligado apenas os ventiladores, para remover o excesso de umidade e não comprometer a troca de calor por evaporação.

## Vacinação

Os princípios da vacinação efetiva não são diferentes daqueles empregados por Louis Pasteur em 1880, onde um vírus atenuado (vivo modificado) ou um isolado de campo suave é utilizado para induzir uma infecção subclínica ou a doença na forma suave. Como consequência, o vírus vacinal pode se disseminar entre aves e estimular a produção de anticorpos protetores como imunoglobulina G (IgG) na corrente sanguínea e imunoglobulina A (IgA) nas membranas mucosas. A reinfecção de aves por doses subsequentes induz a memória imunológica permitindo uma resposta imune mais rápida diante uma nova invasão. Os programas de vacinação são determinados de acordo com o clima, disposição das granjas, manejo e desafios locais (Dekich, 1998).

A técnica de vacinação e o manejo das vacinas utilizadas exercem papel fundamental para o sucesso no combate das enfermidades, uma vez que uma série de variáveis estão envolvidas neste processo.

### Escolha das vacinas

A elaboração do programa de vacinação é extremamente importante para o controle das enfermidades respiratórias. Várias opções estão disponíveis, porém, devem ser indicadas de acordo com a realidade de cada propriedade.

Em geral, pintos recebem vacinas mais atenuadas que as aves mais velhas que já foram imunizadas previamente (Kleven, 2003). Vacinas mais agressivas ou programas com menores intervalos entre doses são indicados para regiões onde existe a presença de desafio, por outro lado, estas estarão sujeitas a maiores reações pós-vacinais.

As vacinas na avicultura industrial são usadas para prevenir ou reduzir problemas que podem ocorrer devido a uma infecção de um agente presente no campo (Bermudez, Stewart-Brown, 2003). O programa de vacinação é um esquema variável de acordo com o desafio de cada região. Além do desafio, quando se estabelece um programa de vacinação devemos considerar a mão de obra disponível, o tipo de instalação e as outras práticas de manejo realizadas. O ideal seria avaliar o desafio por meio de levantamentos sorológicos, confirmados com outros exames específicos e utilizá-los como base para a implantação do programa de vacinação.

### Técnica de vacinação apropriada

A técnica de vacinação significa o manejo da vacinação propriamente dito. Por se tratar de um item operacional, o treinamento de equipes é fundamental para o sucesso destas práticas. Problemas comuns nas técnicas de vacinação incluem:

- Falhas no processo de vacinação, isto é, a vacina está sendo administrada de maneira errônea e as aves podem ser prejudicadas por receberem a vacinação em doses insuficientes ou por vias inadequadas.
- Problemas na qualidade do veículo utilizado na solução vacinal. Incluem-se nesse item problemas relacionados à qualidade de água ou do diluente utilizado. A interferência se dá por fatores físicos e químicos que podem inativar o vírus vacinal ou fatores microbiológicos que podem comprometer o estado sanitário do lote.
- Problemas no armazenamento das vacinas: a manutenção da viabilidade do vírus vacinal nas vacinas vivas, bem como, a qualidade da emulsão de vacinas inativadas depende de um armazenamento em temperatura adequada. Para a maioria das vacinas, a temperatura ideal situa-se entre 2°C e 8°C.



**Figura 8** - Vacinação ocular.

### **Exposição precoce ao agente infeccioso**

- Devido à capacidade dos patógenos respiratórios serem carreados pelo ar, esses agentes podem ser levados de um galpão a outro facilitando a disseminação entre lotes de aves. Uma consequência indesejada nestes casos é a exposição precoce de lotes jovens a desafios para os quais ainda não foram imunizados.
- Atualmente, em algumas regiões do país, o uso de vacinas como bronquite infecciosa e mais recentemente de pneumovírus aviário no primeiro dia de idade têm tido resultados bastante satisfatórios na prevenção de ambas enfermidades em áreas endêmicas onde o desafio é precoce. O uso de ambas (BI e PVA), mesmo associadas, protegeu as aves dos sinais clínicos frente ao desafio experimental, contudo, as vacinas utilizadas separadamente tiveram melhores títulos sorológicos (Cook *et al.*, 2001).

### **Tratamento**

Para maioria das enfermidades respiratórias, a necessidade do tratamento ocorre quando a perda econômica já foi estabelecida. Em infecções virais, a doença seguirá seu curso de evolução e o tratamento será um suporte para o controle de infecções secundárias. Nos quadros envolvendo agentes bacterianos, o tratamento será eficaz, se for utilizada a droga que seja efetiva para aquela amostra presente. A opção da droga a ser eleita pode ser feita através do antibiograma, desde que

a amostra a ser analisada seja colhida no início da sintomatologia.

## Monitorias sorológicas

O monitoramento sorológico de lotes dentro de uma empresa visa buscar informações sobre prevalência de uma enfermidade no lote, assim como para avaliar a resposta imunológica das vacinas utilizadas (Bermudez, Stewart-Brown, 2003).

A adoção de um programa de monitoria sorológica é válida quando são colhidas amostras em número adequado e a análise é realizada durante um período de tempo. Desta maneira, pode-se estabelecer uma linha de base, identificando-se problemas relacionados a lotes específicos ou relacionados à granja como um todo. Herdt *et al.* (2001) relacionaram títulos sorológicos elevados para Bronquite Infecciosa com redução na produção de ovos em poedeiras comerciais e redução no ganho de peso em frangos de corte.

Diante de situações de desafio, a detecção de anticorpos no soro torna-se possível entre uma a três semanas após a exposição ao agente infeccioso. Portanto, a coleta pareada onde amostras são colhidas na fase aguda e na fase de convalescência, são essenciais para o diagnóstico de uma enfermidade. Um conceito bastante importante é que resultados de uma única coleta de soros apenas indicam que o lote foi exposto ao agente infeccioso em algum momento de sua vida.

Diante de um número elevado de enfermidades e um custo considerável para os exames laboratoriais, normalmente, a monitoria sorológica não é uma prática usual em granjas de postura comercial. Uma alternativa empregada em algumas empresas é a formação de um banco de soros em que as amostras sorológicas são colhidas, identificadas e congeladas. As amostras ficam armazenadas durante a vida produtiva da ave e pode ser examinada para uma suspeita específica, seja relacionada a desafios por enfermidade ou resposta vacinal.

A seguir, um programa básico sugerido para monitoramento sorológico dentro de uma granja de frangos de corte e postura comercial:

### Frangos de corte

**Coleta 1** (um a três dias de vida). A primeira sorologia visa avaliar o nível de imunidade materna, bem como identificar a presença de enfermidades de transmissão vertical. O conhecimento dessas informações pode permitir que se estabeleça ou se ajuste o programa de vacinação. Atualmente, os exames mais empregados nesta idade são para a doença de Gumboro e *Mycoplasma gallisepticum*.

**Coleta 2** (acima de 40 dias de vida). Recomenda-se a coleta de amostras de soros no final da vida produtiva ou abate dos frangos de corte, pois devido ao curto ciclo de vida, geralmente, a resposta imunológica somente será identificada nesse período.

**Coleta pareada** – essa prática também é realizada no intuito de se obter uma ferramenta auxiliar no diagnóstico. Coletam-se as amostras de soros no momento dos sinais clínicos e repete-se cerca de 21 dias após.



## Postura comercial

**Coleta 1** (um a três dias de idade). A primeira sorologia visa avaliar o nível de imunidade materna, bem como identificar a presença de enfermidades de transmissão vertical. O conhecimento dessas informações pode permitir que se estabeleça ou se ajuste o programa de vacinação. Atualmente, os exames mais empregados nesta idade são para a doença de Gumboro e *Mycoplasma gallisepticum*.

**Coleta 2** (três a cinco semanas de idade). Nesta coleta espera-se um nível muito baixo de anticorpos. Um aumento significativo nos títulos de anticorpos sugere exposição precoce a um agente infeccioso.

**Coleta 3** (12 a 14 semanas de idade). A coleta nesta fase indica a resposta da ave às vacinas vivas e a presença de desafios de campo. Desafios precoces podem prejudicar a resposta da vacina inativada. Esta coleta também servirá para como parâmetro para avaliação comparativa da resposta a vacina inativada, pois indica a situação imune antes da vacinação.

**Coleta 4** (20 a 25 semanas de idade). Esta coleta indicará a presença de desafios de campo restritos à área de produção de ovos, bem como a resposta à vacina inativada. Em algumas situações, o patógeno se encontra disseminado no setor da produção de ovos e as aves mais jovens livres durante o período de recria, se contaminam após a transferência.

**Coleta 5** (40 semanas de idade). Por se tratar de um período intermediário no ciclo de produção de ovos, a avaliação nesta fase indicará a manutenção da resposta imune através dos títulos sorológicos referentes à vacina inativada. Durante o período de maior produção, as aves sofrem grande desgaste fisiológico tornando-se mais sensíveis a infecções de campo, que poderão ser detectadas por esta coleta.

**Coleta 6** (60 semanas de idade). Esta última amostra permitirá avaliar o nível de proteção humoral que as aves terão ao final do ciclo de produção, bem como a presença de desafio de campo.

## Diagnóstico

A importância do diagnóstico diferencial situa-se no fato das enfermidades respiratórias apresentarem manifestações clínicas semelhantes. O momento da coleta torna-se importante, pois as chances de sucesso no isolamento do agente infeccioso são maiores no início da infecção.

Quadros clínicos avançados normalmente estão complicados por infecções secundárias, que podem induzir o equívoco no diagnóstico. Apresentam-se na [Tabela 2](#), características importantes para a identificação e diagnóstico das principais enfermidades respiratórias da avicultura.

**Tabela 2** – Principais características auxiliares no diagnóstico diferencial de enfermidades respiratórias

Diagnóstico	Doença de Newcastle	Bronquite infecciosa	Laringotraqueíte infecciosa	Micoplasmose aviária	Pneumovirose	Influenza Aviária
Velocidade de transmissão no lote	Rápida	Rápida	Lenta a Moderada	Lenta	Rápida	Rápida
Duração dos sintomas	2 semanas	2 semanas	10 dias a 4 semanas	Semanas a meses	Dias a semanas	Dias a semanas
Queda de produção	Alta	Variável	Variável	Média	Baixa	Variável
Mortalidade	Mortalidade variável de acordo com a cepa viral	Mortalidade baixa	Rara em aves jovens e moderada em jovens	Moderada em aves adultas e baixa em adultas	Mortalidade variável	Variável conforme virulência da amostra
Transmissão	Horizontal	Horizontal	Horizontal	Horizontal e Vertical	Horizontal	Horizontal
Exames laboratoriais	Isolamento viral, H.I., Vírus neutralização, RT-PCR	Isolamento viral, RT-PCR, Vírus neutralização, ELISA	Isolamento viral, ELISA, Imunodifusão em ágar gel, Vírus neutralização, Imunofluorescência indireta e PCR	Isolamento viral, RT-PCR, H.I., ELISA, Soroaglutinação rápida em placa	Isolamento viral, RT-PCR, ELISA, Vírus neutralização, Imunofluorescência indireta	HI, RT-PCR, Isolamento Viral, ELISA

### Enfermidades emergentes

Levantamentos epidemiológicos têm demonstrado a presença de agentes infecciosos envolvidos em quadros clínicos respiratórios e relativamente pouco investigados em exames de rotina. Segue-se uma descrição sumarizada de algumas destes agentes infecciosos:

#### *Bordetella avium*

*Bordetella avium* é um bacilo Gram-negativo responsável por uma infecção altamente contagiosa

do sistema respiratório superior de aves domésticas. Em perus jovens, a doença caracteriza-se pela ocorrência de coriza, respiração ofegante, descarga nasal e ocular, edema submandibular e colapso de traquéia. Em galinhas, a doença é similar, mas o agente aparenta agir de forma oportunista.

As lesões causadas pelo agente são restritas ao sistema respiratório superior e variam de acordo com a duração da doença. Observa-se a presença de exsudato nasal e traqueal, redução do lúmen traqueal e posterior óbito por sufocamento. Hiperemia da mucosa nasal e traqueal e edema de cabeça e pescoço são aparentes durante as duas primeiras semanas de infecção.

O diagnóstico é baseado nos sinais clínicos e lesões, no isolamento do agente e em um teste sorológico positivo. *Bordetella avium* deve ser diferenciada das outras causas primárias e secundárias da rinotraqueíte. O controle da doença envolve medidas de biossegurança e vacinação.

### *Ornithobacterium rhinotracheale*

*Ornithobacterium rhinotracheale* é uma bactéria pleomórfica, Gram-negativa, imóvel, geralmente associada à enfermidades respiratórias em perus e galináceos. A infecção resulta em redução da produção de ovos, redução da taxa de crescimento e óbito em casos severos.

A bactéria foi reportada inicialmente em 1994 e desde então tem sido diagnosticada em diversos países, como Estados Unidos, Espanha, Canadá, França, Reino Unido, Alemanha, Bélgica, Itália, Holanda e Israel.

Observa-se um quadro respiratório severo quando há associação do *Ornithobacterium rhinotracheale* com outros agentes, como *Escherichia coli*, *Bordetella avium*, adenovírus grupo I, vírus da doença de Newcastle e vírus da bronquite infecciosa. O período de incubação é de 48 a 72 horas. Os principais sinais clínicos da doença incluem rinite mucosa, inflamação de sinos infraorbitários, conjuntivite, apatia, penas eriçadas, diminuição do consumo de água e alimentos e claudicação quando há acometimento de articulações. Macroscopicamente, observa-se acometimento de sinos infraorbitários, traquéia, sacos aéreos, pulmões e articulações.

O diagnóstico é realizado por meio do histórico de doença respiratória, com o isolamento da bactéria Gram-negativa, realização de testes bioquímicos e provas sorológicas. Estudos indicam que a imunização de reprodutoras com vacina inativada e da progênie com vacina viva, com três semanas de idade, parece ser a melhor forma de proteção de frangos contra a infecção.

Estudos de caracterização de isolados de *Ornithobacterium rhinotracheale* do Brasil, realizados por Macagnan (2006), mostram que o sorotipo predominante em criações comerciais é o sorotipo A. Os isolados brasileiros foram sensíveis aos antimicrobianos testados, com exceção de sulfametoxazol e trimetoprima.

### *Cryptosporidium sp.*

O *Cryptosporidium sp.* é um parasita coccídeo encontrado na região das microvilosidades do trato respiratório dos vertebrados. A taxonomia desse protozoário em relação à infecção das aves ainda

é controversa, havendo definição de duas espécies, *C. meleagridis* (Slavin, 1955) e *C. baileyi* (Current *et al.*, 1986). Também foi descrita recentemente a espécie *C. galli* parasitando aves exóticas e selvagens (Ryan *et al.*, 2003).

A criptosporidiose é uma importante enfermidade imunossupressora nas aves por determinar destruição do epitélio bursal, perda de microambiente e atrofia da bursa de Fabricius. Na maioria dos casos de infecções naturais em frangos, o parasita foi encontrado principalmente na traquéia, bursa de Fabricius, cloaca, em menor grau no ceco e reto, e raramente no intestino. Em pintos, perus e codornas, este parasita é primariamente patogênico, produzindo problemas respiratórios e intestinais.

Após sua primeira descrição em aves por Tyzzer (1929), até recentemente, a criptosporidiose foi considerada rara e oportunista. Entretanto, a partir da década de 70, o *Cryptosporidium sp.* tem apresentado destaque crescente como agente etiológico de infecções envolvendo principalmente os tratos digestivo e respiratório de várias espécies. Infecções por *C. baileyi* estão relacionados ao incremento na sensibilidade a Bronquite Infecciosa (Rhee *et al.*, 1998).

Uma alternativa para o controle dessa doença, com a finalidade de diminuir a presença dos oocistos, é a utilização de desinfetantes comerciais, como amônia, durante pelo menos 30 minutos.

## Considerações finais

Os avanços tecnológicos na avicultura tornaram as aves comerciais extremamente produtivas e a maximização desses resultados são decorrentes de evoluções nas áreas de genética, nutrição e sanidade. As instalações avícolas também apresentaram grande modernização, contudo, questões relacionadas a ambiência e qualidade do ar tem sido determinantes para a intensidade das manifestações clínicas das enfermidades respiratórias.

Outro ponto a ser considerado no controle das doenças respiratórias são as manifestações atípicas dos agentes patogênicos. Atualmente, o isolamento de novas variantes de bronquite infecciosa (Zanella *et al.*, 2003) e infecções mistas envolvendo diferentes tipos de um mesmo agente (Cápua *et al.*, 1999; Cavanagh *et al.*, 1999) dificultam ainda mais o controle de manifestações clínicas respiratórias, pois freqüentemente as vacinas comerciais disponíveis não fornecem uma proteção adequada contra esses novos isolados de campos (Villegas, 1998).

Como fator agravante, a pressão dos consumidores por alimentos livres de resíduos de drogas terapêuticas aliada ao aumento da resistência às drogas disponíveis têm restringido as alternativas por parte dos técnicos envolvidos na sanidade avícola.

**Tabela 3** – Quadro com as principais características das enfermidades respiratórias mais comumente observadas na avicultura.

Doença	Etiologia	Sinais clínicos	Lesões	Profilaxia

Bronquite infecciosa	Coronavírus	Os primeiros sintomas reconhecidos são os respiratórios. Entretanto, a patogenicidade do vírus para o oviduto em galinhas também é importante, principalmente em aves jovens. Os rins também podem ser afetados.	Alterações patológicas variáveis, como edema e exsudato catarral ou mucoso na traquéia e brônquios, congestão pulmonar, inflamação catarral ou fibrinosa nos sacos aéreos, pericardite e pleurite.	Biosseguridade e vacinação
Metapneumovírus Aviário	Pneumovirus Família: Paramixoviridae	Sinais clínicos respiratórios como tosse, espirro, estertores e dificuldade respiratória. Queda na produção com variável alteração na qualidade dos ovos. Otite e Opistotono. Prostração e mortalidade variável.	Edema periorbital (cabeça inchada), traqueíte e presença de exsudato catarral ou mucoso na traquéia.	Biosseguridade e vacinação
Micoplasmose Aviária	<i>Mycoplasma gallisepticum e M. sinoviae</i>	A forma mais comum é a respiratória, onde as aves acometidas podem apresentar espirro, corrimento nasal e ocular, conjuntivite, sinusite, edema facial, estertor traqueal, resultando em aerossaculite, pericardite,	Traquéia hiperêmica e com grande presença de muco. Espessamento e turvação de sacos aéreos. Salpingite.	Tratamento com quimioterápicos em frangos de corte e Vacinação em poedeiras comerciais. Reprodutoras sujeitas ao Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA).

		perihepatite e pneumonia. São mais comuns as manifestações crônicas e assintomáticas, responsáveis por queda da produtividade.		
Doença de Newcastle	Paramyxovirus	A doença pode cursar sem sinais clínicos nas infecções por cepas altamente virulentas, conduzindo a uma alta mortalidade. Pode-se observar edema ocular e de cabeça, diarreia esverdeada, tremores musculares, torcicolo, paralisia das pernas e asas e opistótomo. Há uma queda acentuada da produção de ovos.	Variam de acordo com a cepa viral. Não há lesão patognomônica. Pode-se observar lesões hemorrágicas em intestino e traquéia, aerossaculite e alterações em órgãos do sistema reprodutor.	Biosseguridade e vacinação. Notificação compulsória.
Coriza Infecciosa	<i>Halmophillus paragallinarum</i>	Infecção catarral aguda nas membranas mucosas da vias e seios nasais, descarga nasal mucosa, edema facial, conjuntivite catarral e barbelas inchadas. Ocorre a obstrução das vias aéreas, dificuldade respiratória e respiração característica pelo bico. Havendo invasão do trato	Broncopneumonia catarral aguda com o lúmen dos brônquios secundários e terciários repletos de heterófilos e debris celulares. Ocorre hiperplasia e edemaciamento das células epteliais dos capilares aéreos, dificultando a troca gasosa. Os	Biosseguridade e vacinação.

		respiratório inferior, aparecem os estertores e aerossaculite.	sacos aéreos têm inflamação catarral, com hiperplasia das células epiteliais e infiltrado heterofílico abundante.	
Laringotraqueíte infecciosa	Herpesvírus	A forma aguda é responsável por elevada mortalidade; nota-se dispnéia severa, tosse e expectoração de exsudato traqueal mucosanguinolento. A forma moderada ou subaguda é caracterizada por conjuntivite, edema de sinus nasais, traqueíte, estertores suaves e descarga nasal persistente.	Lesões podem ser observadas na conjuntiva e no trato respiratório. Principalmente em laringe e traquéia, nota-se hemorragia e exsudato sanguinolento e fibrinoso.	Medidas de biossegurança e vacinação.
Colibacilose	<i>E. coli</i>	Doença respiratória crônica complicada, que geralmente evolui para septicemia. Severidade da infecção depende do número de agentes envolvidos.	Principalmente traqueíte, aerossaculite e pericardite ("tríade de condenação de carcaça", comum em abatedouros). Pneumonia, pleuropneumonia e peritonite, com consequente septicemia.	Medidas de biossegurança, vacinação e fatores nutricionais.
Aspergilose	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Dispnéia, inapetência, emaciação, diarreia.	Aerossaculite severa e pneumonia granulomatosa.	Medidas de biossegurança.
Clamidiose	<i>Chlamydothila psittaci</i>	Perus apresentam anorexia, conjuntivite,	Pulmões apresentam congestão difusa.	Medidas de biossegurança.

		alterações respiratórias e redução na produção de ovos. Evidências epidemiológicas e laboratoriais indicam que galináceos são resistentes ao agente.	Cavidade pleural e sacos aéreos revestidos por exsudato fibrinoso. Aumento de tamanho do coração, fígado e baço.	
Influenza aviária	Orthomixovírus	Os sinais predominantes são tosse, espirros, corrimento nasal e ocular, sinusite e decréscimo na produção de ovos. Também pode haver diarreia, edema de cabeça e desordens nervosas.	As lesões variam de acordo com a patogenicidade do vírus e com a espécie acometida. Vários graus de congestão, hemorragias, transudatos e lesões necróticas podem ser observados.	Biossegurança e vacinação. Notificação compulsória.
Rinotraqueíte infecciosa	<i>Ornithobacterium rhinotracheale</i>	Os principais sinais clínicos incluem rinite mucosa, inflamação de sinus infraorbitários, conjuntivite, apatia, penas eriçadas, diminuição do consumo de alimentos e claudicação quando há acometimento de articulações. Redução da produção de ovos, redução da taxa de crescimento e óbito em casos severos.	Acometimento de sinus infraorbitários, traqueíte, sacos aéreos, pulmões e articulações.	Medidas de biossegurança.



Cólera Aviária	<i>Pasteurella multocida</i>	Em infecções agudas, é comum óbito em poucas horas. As infecções crônicas são caracterizadas por dispnéia, corrimento mucoso nasal, estertores, edema em seios infraorbitários, além de possíveis alterações em outros sítios de infecção.	Quando a doença apresenta-se de forma aguda, a maioria das lesões estão associadas a distúrbios vasculares. A forma crônica caracteriza-se por infecções localizadas que podem tornar-se supurativas e amplamente distribuídas. Em perus, é frequente pneumonia e em galinhas, aerossaculite purulenta.	Medidas de biossegurança e vacinação.
----------------	------------------------------	--	---	---------------------------------------

## Lista de figuras



**Figura** - Opistótono em reprodutora infectada por Metapneumovírus aviário.



**Figura** - Coriza Infecciosa em poedeira comercial.



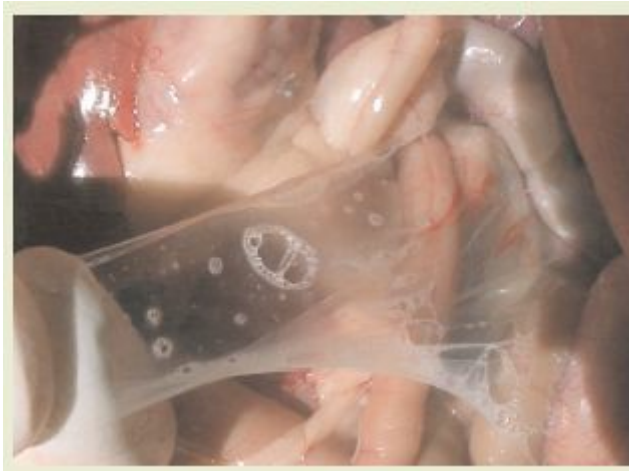
**Figura** - Deformidade em ovos de aves acometidas pela Bronquite Infecciosa.



**Figura** - Infecção por *E. coli* em frango de corte.



**Figura** - Hiperemia em conjuntiva de poedeira comercial infectada por Metapneumovírus Aviário.



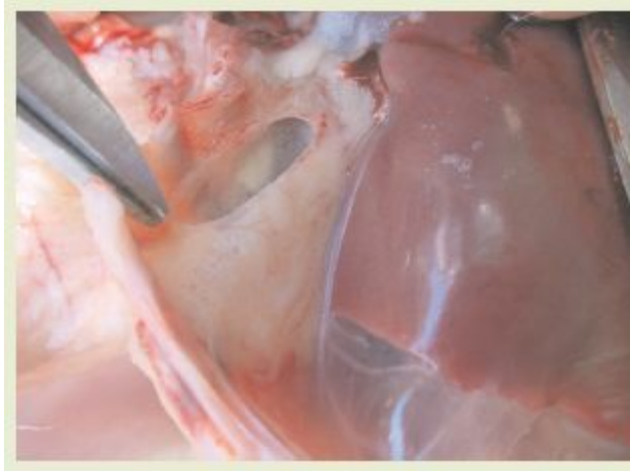
**Figura** - Aerossaculite em poedeira comercial acometida por *Mycoplasma gallisepticum*.



**Figura** - Traquéia com irritação na mucosa e presença de secreção serosa.



**Figura** - Frango de corte com Bronquite Infecciosa complicada por *E. coli* - septicemia em quadro respiratório avançado.



**Figura** - Aerossaculite em frango de corte - presença de conteúdo caseoso nos sacos aereos.

Alguns avanços nas pesquisas voltadas ao controle de enfermidades também estão sendo desenvolvidos. Huff *et al.* (2002) sugerem que o uso de bacteriófagos para prevenção de *Escherichia coli* em infecções respiratórias pode ser uma alternativa futura a antibioticoterapia. Vacinas recombinantes e de subunidades de DNA têm sido desenvolvidas para vírus de laringotraqueite infecciosa, doença de Newcastle e influenza aviária.

Entretanto, um certo espaço separa os avanços da ciência e a aplicação prática de muitas destas inovações no campo. Enquanto, novas alternativas não estão disponíveis comercialmente, cabe a cada um dos profissionais envolvidos na produção avícola, se conscientizar da necessidade de criar plantéis saudáveis e para isso a prevenção é fundamental.

## Bibliografia

Abdul-Rahman A, Bradbury JM, Naylor CJ, Worthington KJ, Payne-Johnson C, Jones RC. Avian pneumovirus infection in broiler chicks inoculated with *Escherichia coli* at different time intervals. **Avian Pathology** 2001; 30:257-267.

Barnes HJ, Gross WB. **Colibacillosis**. In: Calnek BW. Diseases of poultry .10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.131-141.

Bermudez AJ, Stewart-Brown B. **Disease prevention and diagnosis**. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW. editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa University Press; 2003. p.17-55.

Bernardino A. **Programas de vacinação**. In: Mendes AA, Nääs IA, Macari M. Produção de frangos de corte. Campinas: Facta; 2004. p.179-199.

Bernardino A. **O sistema respiratório**. In: Anais do Curso Básico de Sanidade Avícola Fort Dodg; 1999; Campinas. p.20-21.

Bradbury JM. Avian mycoplasma infections: prototype of mixed infections with mycoplasmas, bactéria and viruses. **Annales de Microbiologie** 1984; 135A:83.

Canal CW. *et al.* Detecção de *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). **Ciência Rural** 2003; 33(2):377-379.

Capua I, Minta Z, Karpinska E, Mawditt K, Britton P, Cavanagh D, Gough RE. Co-circulation of four types of infectious bronchitis vírus (793/B, 624/I, B1648 and Massachusetts). **Avian Pathology** 1999; 28:587-592.

Cardozo SP, Yamamura MH. Parasitas em produção de frangos no sistema de criação tipo colonial/caipira no Brasil. **Ciências Agrárias** 2004; 25(1):63-74.

Carlson HC, Whenhan GR. Coliform bactéria in chicken brolier house dust and their possible relationship to coli- septicemia. **Avian Diseases** 1968; 12:297-302.

Cavanagh D, Mawditt K, Britton P, Naylor CJ. Longitudinal field studies of infectious bronchitis vírus and avian pneumovirus in broilers using type-specific polymerase chain reactions. **Avian Pathology** 1999; 28:593-605.

Cavanagh D, Naqi SA. **Infecçios bronchitis**. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW. editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa University Press; 2003. p.101-119.

Cook JKA, Huggins MB, Orbell SJ, Mawditt K, Cavanagh D. Infectious bronchitis virus vaccine interferes with replication of avian pneumovirus vaccine in domestic fowl. **Avian Pathology** 2001; 30:233-242.

Dekich MA. Broiler industry strategies for control of respiratory and enterid diseases. **Poultry Science** 1998; 77:1176-1180.

Di Fabio J, Rossini LI. **Bronquite infecciosa das galinhas**. In: Berchieri Jr A, Macari M. Doenças das aves. Campinas: Facta; 2000. p.217-225

Di Matteo AM, Sonez MC, Plano CM, Lawzewitsch I. Morphologic observations on respiratory tracts of chickens after hatchery infectious bronchitis vaccination and formaldehyde fumigation. **Avian Diseases** 2000; 44:507-518.

Dohms JE, Jaeger JS. The effect of infectious bursal disease virus infection on local and systemic antibody responses following infection of 3-week-old broiler chickens. **Avian Diseases** 1998;

Dohms JE, Lee KP, Rosenberger JK, Metz AL. Plasma cell quantitation in the gland of Harder during infectious bursal disease virus infection of 3-week-old broiler chickens. **Avian Diseases** 1968; 32:624-631.

Domermuth CH, Gross WB, Dubose RT. Mycoplasmal salpingitis of chickens and turkeys. **Avian Diseases** 1968; 11:393- 398.

Doretto Jr L, Paulillo AC, Santos JM, Silva GS, Berchieri Jr A. A utilização da microscopia eletrônica de varredura na avaliação da reação pós-vacinal em epitélio traqueal em pintos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola** 1999; 1:149-152.

Dufour-Zavala L. **Efeito da qualidade do pintinho sobre as doenças respiratórias.** In: Conferencia da Elanco sobre doenças respiratórias de aves; 1999 jan. 20; Atlanta, GEO. p.509

Eidson CS, Giambrone JJ, Barger BO, Kleven SH. Comparison of the efficacy and transmissibility of conventional NDV vaccines and vaccines prepared after back-passage through chickens. **Poultry Science** 1977; 56:19-25.

Empel PV, Bosch HV. Identification and serotyping of *Ornithobacterium rhinotracheale*. **Journal of Clinical Microbiology** 1997; 35(2):418-421.

Farrager JT, Allan WH, Wyeth PJ. Immunossuppressive effect of infectious bursal agen on vaccination against NewCastle disease. **Veterinary Record** 1974; 95:385-388.

Fedde MR. Relationship of structure and function of the avian respiratory system to disease susceptibility. **Poultry Science** 1988; 77:1130-1138.

Giambrone JJ, Eidson S, Kleven H. Effect of infectious bursal disease on the response of chickens to *Mycoplasma synoviae*, NewCastle disease vírus and infectious bronchitis vírus. **American Journal of Veterinary Research** 1977; 38:251-253.

Glisson J. **Função e doenças respiratórias das aves.** In: Conferência da Elanco sobre doenças respiratórias de aves; 1999 jan. 20; Atlanta. GEO. p.11-14

Glisson JR. Bacterial respiratory diseases of poultry. **Poultry Science** 1998; 77:1139-1142.

Gobel TWF. **The T-dependent immune system.** In: Davison TF, Morris TR, Payne LN, editors. Poultry immunology Poultry Science Symposium Series. Akington, UK: Carfax Publishing Company; 1995; 24:31-45.

Gough RE. **Avian Pneumoviruses: NewCastle disease and other avian pneumoviruses.** In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa University Press; 2003. 567-613.

Gross WB. Factors affecting the development of respiratory disease complex in chickens. **Avian Diseases** 1990; 34:607- 610.

Guy JS, Barnes HJ, Smith L. Increased virulence of modified live infectious laryngotracheitis vaccine virus following bird-to-bird passage. **Avian Diseases** 1991; 35:348-355.

Hagood LT, Kelly TF, Wright JC, Hoerr FJ. Evaluation of chicken infectious anemia virus and associated risk factors with disease and production losses in broilers. **Avian Diseases** 2000; 44:803-808.

Hanson LE, Bargust TJ. **Laryngotracheitis**. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa University Press; 2003, p.485-492.

Hayter RB, Besch EL. Airborne-particle deposition in the respiratory tract of chickens. **Poultry Science** 1974; 53:1507-1511.

Herdt PD, Ducatelle R, Uyttebroek E, Sneep A, Torbeyns R. Infectious bronchitis serology in broilers and broiler breeders: correlations between antibody titers and performance in vaccinated flocks. **Avian Diseases** 2001; 45:612-619.

Hopkins SR, Yoder HW. Increased incidence of airsacculitis in broiler infected with *Mycoplasma synoviae* and chicken passaged infectious bronchitis vaccine virus. **Avian Diseases** 1984; 28:386-396.

Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Xie H, Moore PA Jr, Donoghue AM. Prevention of *Escherichia coli* respiratory infection in broiler chickens with bacteriophage (SPR02). **Poultry Science** 2002; 81(4):437-41.

Jackwood MW, Brown TP. *Bordetella avium*: an opportunistic pathogen in leghorn chickens. **Avian Diseases** 1995; 39(2): 360-367.

Klasing KC. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science** 1998; 77:1119-1125.

Kleven SH, Eidson CS, Anderson DP, Fletcher OJ. Decrease of antibody response to *Mycoplasma synoviae* in chickens infected with Marek's disease herpesvirus. **American Journal of Veterinary Research** 1972; 33:2037-2037.

Kleven SH. **Multicausal respiratory diseases**. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa University Press; 2003. p.1164-1168.

Klika E, Scheuermann DW, Groot-Lasseel MHA, Bazantova I, Switka A. Pulmonary macrophages in birds: barn owl, *Tyto tyto alba*, domestic fowl (*Gallus gallus f. domestica*), quail (*Coturnix coturnix*), and pigeons (*Columba livia*). **Anatomical Record** 1996; 246:87-97.

Kling HF, Quarles CL. Effect of atmospheric ammonia and the stress of infectious bronchitis vaccination on Leghorn males. **Poultry Science** 1974; 53:1161-1167.

Lee JF, Sears FW. **Termodinâmica**. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill; 1992. p.302.

Macagnan M. *et al.* Caracterização de isolados de *Ornithobacterium rhinotracheale* do Brasil.

Macari M, Furlan RL. **Termorregulação**. In: Macari M, Furlan RL, Gonzáles E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. 2.ed. Jaboticabal: Funep; 2002. p.209-230.

Macari M, Givisiez PEN. **Fisiologia respiratória**. In: Macari M, Furlan RL, Gonzáles E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. 2.ed. Jaboticabal: Funep; 2002. p37-49.

Manfredini R, Simon V, Tsuchiya P, Verdi Filho R. Reações pós-vacinais de caráter respiratório. **Avicultura dinâmica** 1991; 1(1):1-4.

Martins PC. **Influenza aviária**. In: Anais do XI Curso Básico de Sanidade Avícola; 2004 maio; Florianópolis, SC. Brasil.

Mensah GA, Brain JB. Deposition and clearance of inhaled aerosol in the respiratory tract of chickens. **Journal of Applied Physiology** 1982; 53:1423-1428.

Naas IA. **Ventilação e climatização para frangos de corte**. In: Anais da Conferência APINCO-1997 de Ciência e Tecnologias Avícolas; 1997; São Paulo, SP. Brasil. p.108-119.

Nakamura K, Ueda H, Tanimura T, Noguchi K. Effect of mixed live vaccine (NewCastle disease and infectious bronchitis) and *Mycoplasma gallisepticum* on the chicken respiratory tract and on *Escherichia coli* infection. **Comparative Pathology** 1994; 111:33-42.

Nascimento ER. **Micoplasmoses**. In: Berchieri Jr A., Macari M. Doenças das aves. Campinas: Facta; 2000. p.217-225.

Okoye JOA, Okeke AN, Ezeobele KO. Effect of infectious bursal disease vírus infections on the severity of *Aspergillus flavus* aspergillosis of chickens. **Avian Pathology** 1991; 20:167-171.

Paulillo AC, Doreto Jr L. **Doença de Newcastle**. In: Berchieri Jr A, Macari M. Doenças das aves. Campinas: Facta; 2000. p.267-281.

Peighambari SM, Julian RJ, Gules CL. Experimental *Escherichia coli* respiratory infection in broilers. **Avian Diseases** 2000; 44:759-769.

Ragland WL, Mazija H, Cvelic-Cabrilo V, Savic V, Novak R, Pogocnik M. Immune suppression of commercial broilers in Croatia, Slovenia and Bosnia and Herzegovina from 1981 to 1991. **Avian Pathology** 1998; 27:200-204.

Rhee JK, Yang HJ, Yook SY, Kim HC. Immunosuppressive effect of *Cryptosporidium baileyi* infection on vaccination against avian infectious bronchitis in chicks. **The Korean Journal of Parasitology** 1998; 36(3):203-206.

Rimler RB, Glisson JR. **Fowl cholera**. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Mc Dougald LR, Saif YM, editos. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.143-159.



Ruano MEA, Villegas P. Efficacy comparison of disinfectants used by commercial poultry industry. **Avian Diseases** 2001; 45:972-977.

Sander JE, Wilson JL, Rowland GN, Middendorf PJ. Formaldehyde vaporization in the hatcher and the effect on tracheal epithelium of the chick. **Avian Diseases** 1995; 39:152-157.

Sesti L. **Biosseguridade na avicultura**. In: Anais do XI Curso Básico de Sanidade Avícola Fort Dodge; 2004 ago.; Campinas, SP. Brasil.

Springer WT, Luskus C, Pourciau SS. Infectious bronchitis and mixed infections of *Mycoplasma synoviae* and *Escherichia coli* in gnotobiotic chickens. I. Synergistic role in the airsacculitis syndrome. **Infection and Immunity** 1974; 10:578-589.

Temple LM. *et al.* *Bordetella avium* virulence measured in vivo and in vitro. **Infection and Immunity** 1998; 66(1):5244-5251.

Vandemaele F, Assadzadeh A, Derijcke J, Vereecken M, Goddeeris BM. Avian pathogenic *Escherichia coli*. **Tijdschr Diergeneeskd** 2002; 1(19):582-8.

Villegas P, Kleven SH. Aerosol vaccination against NewCastle disease. I. Studies on particle size. **Avian Diseases** 1976; 20:179-190.

Villegas P. Viral diseases of the respiratory system. **Poultry Science** 1998; 77(8):1143-1145.

Winterfield RW, Hoerr FJ, Fadly AM. Vaccination against infectious bronchitis and the immunosuppressive effects of infectious bursal disease. **Poultry Science** 1978; 57:386-391.

Yoder HW, Drury LN, Hopkins SR. Influence of environment on airsacculitis: Effects of relative humidity and air temperature on broiler infected with *Mycoplasma synoviae* and infectious bronchitis. **Avian Diseases** 1977; 21:195-208.

Zanella A, Lavazza A, Marchi R, Moreno M, Paganelli F. Avian infectious bronchitis: characterization of new isolates from Italy. **Avian Diseases** 2003; 47:180-185.

**Fisiopatologia do sistema genitourinário**

<b>Introdução</b>	<b>305</b>
<b>Fisiopatologia do sistema genital feminino</b>	<b>305</b>
<i>Introdução</i>	305
<i>Ovário</i>	306
<i>Oviduto</i>	307
<b>Fisiopatologia do sistema genital masculino</b>	<b>308</b>
<i>Introdução</i>	308
<i>Testículo</i>	308
<b>Fisiopatologia do sistema urinário</b>	<b>310</b>
<i>Introdução</i>	310
<b>Bibliografia</b>	<b>312</b>

## Fisiopatologia do sistema genitourinário

**Bernadete Miranda dos Santos**

### Introdução

A organização das gônadas e os modelos arquitetônicos básicos do sistema genital estabelecem-se muito precocemente na embriogênese. As gônadas originam-se dos gonócitos, grupos celulares que se localizam no interstício gonadal, no saco vitelino. Os gonócitos migram para o mesoderma no seio urogenital e aí se multiplicam, formando duas estruturas. Essa migração nas aves se dá por via sanguínea. Nessa fase, o indivíduo é bissexuado. As estruturas originadas formam as porções cortical e medular. Se o indivíduo for portador do cromossoma X, desenvolve-se a porção cortical, dando origem ao ovário. Porém, se o indivíduo possui o cromossoma Y, desenvolve a porção medular, originando o testículo.

### Fisiopatologia do sistema genital feminino

#### Introdução

O sistema genital feminino das aves é muito simples e compreendem um ovário e um oviduto. O ovário é único e está situado no antímero esquerdo, ventralmente ao lobo cranial do rim. Está preso à parede dorsal do abdômen por meio do ligamento mesovárico. Quando a galinha não ainda está em atividade reprodutiva, o ovário se apresenta como um cacho de numerosas pequenas esferas de cor amarelo-claro transparente e em um único estágio de desenvolvimento. Porém, no ovário de uma galinha em postura os óvulos estão em diferentes estágios de maturidade.

Reconhece-se a proximidade do estágio pleno de desenvolvimento quando o óvulo apresenta a cor amarelada que o caracteriza. Histologicamente, o ovário consiste em um córtex e uma medular, que não são muito distintas. O córtex circunda a medular, exceto no hilo, onde a medular está em contato com a parede dorsal do corpo. A superfície externa do córtex é formada por epitélio alto, cubóide ou achatado. No córtex estão confinados os oócitos, entremeados por tecido conjuntivo denso, túnica albúginea, ou estroma ovariano. A medular consiste de tecido conjuntivo com vasos sanguíneos, nervos e músculo liso. Os ovócitos estão localizados no córtex, em estruturas denominadas folículos.

O ovário de uma ave recém-eclodida possui cerca de 100.000 células germinativas. Estas são chamadas de oócitos primários. Cada oócito encontra-se no interior do folículo. O oócito é rodeado por uma camada de células foliculares, que é chamada de camada granulosa. Na fase de desenvolvimento do ovário, as células da granulosa tornam-se cúbicas e depois cilíndricas. Com a deposição da gema no interior do oócito, o núcleo é deslocado até próximo à superfície. O oócito primário transforma-se em oócito secundário, através da divisão por meiose. Iniciando a fase de maturação, ocorre deiscência (expulsão) do oócito para o oviduto.

A superfície do ovário é coberta por epitélio germinativo, que consiste em uma única camada de células. Estas são normalmente cuboidais, com núcleo vesiculoso e arredondado. Nas áreas onde o epitélio está sob tensão, como as camadas que envolvem o oócito em crescimento, ele torna-se achatado e o núcleo apresenta-se fusiforme.

O oviduto é um longo ducto através do qual a gema, ou o óvulo, é revestida de albumina, membranas e casca. Ele mede cerca de 18cm nas galinhas não em postura e de 60 a 80cm, nas galinhas em postura. A parede do oviduto possui uma camada serosa, uma camada muscular e uma mucosa com numerosas pregas longitudinais, elevadas e tortuosas. As fibras da camada muscular oferecem disposição circular e podem formar dois estratos. A mucosa é coberta por um epitélio cilíndrico vibrátil simples. Está semeada de glândulas com epitélio cúbico, que secretam albumina, membranas da casca e depois a casca do ovo.

O oviduto é formado por cinco regiões distintas:

**a) Infundíbulo** - é a primeira porção do oviduto, possui quatro camadas de dentro para fora: mucosa, submucosa, muscular e serosa. As paredes são muito delgadas e amplas, principalmente na borda fimbriada. Internamente há pregas oblíquas e baixas na região do funil. Na região tubular, essas pregas formam uma espiral. O epitélio de revestimento interno é composto de células colunares ciliadas e não-ciliadas, formando uma simples camada. A borda fimbriada é constituída de duas camadas de epitélio mucoso.

**b) Magno** - a grande espessura da parede é causada essencialmente pelas numerosas glândulas tubulares que estão dispostas dentro das pregas longitudinais da mucosa. O epitélio possui a mesma disposição celular apresentada pelo infundíbulo, com células ciliadas e não-ciliadas.

**c) Ístimo** - camada muscular (parede) mais espessa e mais desenvolvida que no magno. As glândulas tubulares são secretoras das membranas da casca.

**d) Útero** - possui epitélio colunar com células ciliadas e células secretoras, como nos outros segmentos. A mucosa apresenta pregas longitudinais e transversais. Contém glândulas tubulosas de estrutura semelhante à do magno. Entre o ístimo e o útero, há um músculo circular que recebe um reforço semelhante a um esfíncter.

**e) Vagina** - possui uma poderosa túnica muscular de fibras lisas circulares, que é muito mais espessa do que em qualquer outra parte do oviduto.

## Ovário

### Alterações no desenvolvimento

**Hipoplasia** - macroscopicamente, o ovário está reduzido de tamanho e com ausência de desenvolvimento dos folículos. Histologicamente, a cortical mostra ausência de folículos ovarianos primários ou em desenvolvimento. A região medular constitui-se por tecido conjuntivo fibroso e vasos sanguíneos. A hipoplasia do ovário é um fenômeno normal que ocorre no final da postura. Em aves de postura comercial, a hipoplasia pode ocorrer como resposta a um sinal de estresse. Também, a hipoplasia pode se dar em consequência de perturbações hormonais,

especialmente no lóbulo anterior da hipófise, na qual a influência da luz desempenha papel relevante. Neste caso, o ovário tem dimensões normais, mas os folículos não atingem o estágio de desenvolvimento pleno.

### **Alterações regressivas**

**Atresia** - é encontrada em duas situações principais: atresia por invasão, quando as células da granulosa ou da teca invade o oócito e provoca a absorção da gema e atresia por ruptura, quando a parede da teca rompe e a gema cai na cavidade abdominal. Essa gema é rapidamente absorvida, a menos que ocorra infecção secundária, podendo provocar peritonite.

**Cistos** - são caracterizados pela presença de estruturas vesiculares repletas de líquido de aspecto seroso. No exame histológico, verifica-se que há ausência de óvulo e a granulosa está destruída em grande parte. A parede desses cistos é revestida por epitélio pavimentoso, cuja estrutura consiste em estreita faixa de tecido conjuntivo pobre em células e vasos.

### **Alterações inflamatórias**

**Ooforite** - pode estabelecer-se por via hematógena, linfógena ou por continuidade a partir de uma salpingite, peritonite ou aerosaculite. Localiza-se no estroma do ovário, com maior frequência no revestimento seroso. Os agentes são muito variáveis. Nos casos de infecções por bactérias, os folículos ovarianos podem mostrar-se esverdeados, deformados ou hemorrágicos. Às vezes pode-se observar óvulos na cavidade abdominal. Ovário hemorrágico é um achado frequente na pasteurelose aguda. Também, na doença de Newcastle, causada por estirpes velogênicas, pode haver hemorragia e gema na cavidade abdominal. Histologicamente observam-se lesões granulomatosas nas infecções por bactérias do gênero *Salmonella* sp. e infiltração de células inflamatórias, principalmente polimorfonucleares, nas diferentes bacterioses.

### **Alterações progressivas**

**Neoplasias ou tumores** - a doença de Marek é a causa mais comum de tumores no ovário de galinha. Os carcinomas ovarianos são um tipo de tumor de aparecimento esporádico e somente afeta indivíduo. A característica desse tumor é a tendência de formar metástases na cavidade abdominal. Também os tumores de tecido conjuntivo (leiomioma, condrolipoma, hemangioma e sarcoma) são esporádicos e afetam unicamente indivíduos que, no aspecto anatômico, caracterizam-se pelo notável aumento de volume do ovário.

A doença de Marek e a leucose linfóide, que são duas doenças neoplásicas de etiologia viral, respectivamente causadas por um *Herpesvírus* DNA e um retrovírus aviário RNA, podem provocar lesões no ovário, que caracterizam-se por massa ou estruturas nodulares macias, brilhantes e lisas, com superfície de corte cremosa e de coloração acinzentada ou brancacenta. O diagnóstico diferencial das duas neoplasias é feito por exame de cortes histológicos de materiais suspeitos. Na doença de Marek, verifica-se proliferações e infiltrações de células linfóides em diferentes estágio de desenvolvimento, caracterizando, assim, o pleomorfismo celular que é comum no processo. No caso da leucose linfóide, não existe pleomorfismo celular, uma vez que se observam unicamente linfoblastos em um único estágio de desenvolvimento, ou seja, há ausência de pleomorfismo celular.

## Oviduto

### Alterações do desenvolvimento

**Hipotrofia** - está relacionada com a perda de função do ovário.

### Alterações inflamatórias

**Salpingite** - é inflamação do oviduto das aves e se relaciona com processos infecciosos causados por bactérias, que invadem o órgão, ou pode ser uma extensão de infecção dos sacos aéreos abdominais ou, ainda, causada por migração ascendente de bactérias da cloaca até o oviduto. É um achado freqüente na avicultura. Neste caso, há sempre redução na produção de ovos. A salpingite pode ser causada por agentes virais (bronquite infecciosa, doença de Newcastle, laringotraqueíte, influenza, síndrome da queda de postura) ou por agentes bacterianos (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Pasterella*, *Mycoplasma*). Algumas amostras do vírus da bronquite infecciosa possuem tropismo para o oviduto. Em frangas, sobretudo aquelas que não possuem anticorpos maternos, a infecção pode causar degeneração de desenvolvimento das células do epitélio do oviduto imaturo. Este dano resulta em hipoplasia, que pode persistir até o amadurecimento sexual da ave e afetar a produção de ovos.

Na síndrome da queda de postura, causada por um adenovírus, as lesões se restringem ao útero. O vírus causa degeneração e descamação do epitélio uterino, provocando corpúsculo de inclusão, hiperplasia do epitélio, atrofia das glândulas tubulares, degeneração, necrose e hipoplasia do epitélio glandular, dilatação glandular, infiltração por células mononucleares, células plasmáticas, heterófilos, edema e fibroplasia da lâmina própria.

Macroscopicamente, nas salpingites de origem bacteriana, há acúmulo de exsudato purulento, fibrinopurulento ou caseoso no oviduto, cuja parede se mostra fina e dilatada. As aves, em geral, desenvolvem o processo na forma crônica, podendo levar até seis meses para morrer. Essas aves devem ser eliminadas do plantel para não constituir fonte de contaminação.

### Alterações progressivas

**Neoplasia** - linfossarcoma causado pelo vírus da doença de Marek. É o tipo de tumor mais freqüente, além de carcinomas e leiomiomas. O carcinoma é também conhecido como adenocarcinoma, carcinoma leucomiomatoso e carcinoma peritoneal das aves. Caracteriza-se pela presença de numerosos tumores coalescentes incrustados nas superfícies serosas das vísceras abdominais. O processo é crônico e afeta aves com mais de um ano de idade. Com freqüência produz distensão abdominal por ascite. As aves afetadas podem mostrar letargia, apatia e outros sinais clínicos inespecíficos. Macroscopicamente observa-se numerosos tumores coalescentes de cor brancacenta e de consistência firme nas serosas dos órgãos abdominais. Histologicamente trata-se de uma estrutura que contém escassas estruturas glandulares, predominando tecido conjuntivo fibroso e muscular. A forma mais comum caracteriza-se pela presença de cordões de ácinos glandulares, formados por uma camada simples de epitélio cuboidal. As lesões de necropsia são suficientes para o diagnóstico, porém, em caso de dúvidas pode-se recorrer ao diagnóstico histopatológico.

## Alterações na formação dos ovos

Na formação de um ovo, pressupõe o seu trajeto normal do infundíbulo à cloaca. Assim, qualquer perturbação durante esse trajeto resultará em alteração na sua formação.

**Impactação do oviduto** - é o acúmulo excessivo de gemas, albúmen coagulado e membranas e, às vezes, ovos completamente formados. Essa alteração é vista, principalmente, em galinhas no final do ciclo de produção. Em algumas ocasiões o abdômen mostra-se muito distendido e a ave adota posição ereta, semelhante a um quadro de ascite. As causas da impactação do oviduto são paralisias dos músculos do oviduto ou torção parcial desse órgão. Nos casos de salpingite de origem bacteriana, pode ocorrer uma subsequente acumulo de exsudados e materiais do ovo, podendo produzir impactação do oviduto. Essa alteração é uma das causas comuns de mortalidade em galinhas poedeiras. Em casos individuais, é possível ajudar a saída dos ovos e materiais do oviduto, usando um lubrificante e manipulando a ave adequadamente.

**Postura interna** - é a presença de ovos semi ou completamente formados na cavidade abdominal. Essa alteração é causada por movimentos antiperistálticos. Quando há vários ovos acumulados na cavidade abdominal, a ave assume uma posição ereta.

**Falsa poedeira** - é quando a ave apresenta características de estar produzindo ovos, mas não põe ovos. Estas aves possuem ovário e oviduto normais, porém o infundíbulo é incapaz de captar o óvulo, de modo que na necropsia se encontram restos de gema líquida ou coagulada na cavidade abdominal. A gordura corporal, a pele e o bico estão pigmentados devido à absorção do pigmento da gema. Uma de suas causas específicas é a infecção por algumas amostras do vírus da bronquite infecciosa, durante as primeiras semanas de idade, causando lesão permanente no oviduto.

## Outras alterações

**Prolapso do oviduto** - é uma alteração caracterizada por inversão do oviduto para fora da cloaca e sua incidência é maior por ocasião do início da postura. As causas são muito variadas, mas as relacionadas com o manejo são as mais significativas, como a aceleração da postura, por aumento da intensidade de luz ou sua duração ou alimentação incorreta (excesso de alimentação ou com muita energia), predispondo as aves à obesidade. Essa alteração é encontrada em linhagens precoces e produtoras de ovos de grande tamanho. Também, as situações de estresse (alta densidade, ventilação deficiente, parasitismo.) podem causar prolapso de oviduto em aves em produção de ovos. Outras causas menos importantes são: pouca elasticidade muscular, enterite, cloacite e alterações hormonais.

**Cloacite** - é o processo inflamatório crônico da cloaca das aves. É caracterizada por odor desagradável dessa região, formação de membrana diftérica de cor amarelada sobre a mucosa, com presença de uratos e exsudato inflamatório, que contaminam a pele e regiões próximas. O problema é mais freqüente nas fêmeas. A morbidade é baixa e não há mortalidade. A causa é desconhecida e recomenda-se eliminar as aves afetadas, ou tratá-las localmente com aplicação de pomadas, contendo antibióticos de amplo espectro.

## Fisiopatologia do sistema genital masculino

## Introdução

O sistema genital masculino das aves é constituído por um par de testículos, epidídimos rudimentares, ductos deferentes e um sistema rudimentar para ejaculação do sêmen, conhecido como falo, que é um pênis rudimentar na maioria das espécies de aves. Os testículos localizam-se na cavidade abdominal, ventralmente ao lobo cranial de cada rim. O epidídimo constitui uma porção dilatada do ducto deferente, que aumenta de diâmetro à medida que corre caudalmente em direção à cloaca. O sistema ejaculador do macho, situado na cloaca, torna-se túrgido por acúmulo de linfa durante a ejaculação.

## Testículo

É revestido por uma túnica membranosa (albugínea). O testículo é constituído de duas partes morfológica e fisiologicamente distintas: túbulos seminíferos e interstício. Cada túbulo seminífero é constituído de uma camada de tecido conjuntivo peritubular. O epitélio dos túbulos seminíferos é chamado de epitélio germinativo. O ciclo desse epitélio compreende a sua proliferação ou esperma- togênese, seguida de regressão. Entre as células do epitélio germinativo existem células alongadas, que se estendem da membrana basal para a luz do túbulo seminífero, que são as células de Sertoli.

Histologicamente, desde a parede até a luz do túbulo seminífero encontram-se espermatogônias, espermatócitos primários e secundários, esper- máticas arredondadas e alongadas e espermatozói- des. Também, estão presentes nos túbulos as células de Sertoli e, entre os túbulos, as células intersticiais de Leydig.

As alterações testiculares traduzem-se pela redução quantitativa ou qualitativa do número de espermatozoides formados, sejam elas causadas por alterações do desenvolvimento, degenerativas, inflamatórias ou progressivas.

### Alterações do desenvolvimento

**Hipoplasia testicular** - macroscopicamente os órgãos mostram-se diminuídos de volume e, histologicamente, os túbulos seminíferos estão reduzidos de tamanho e revestidos unicamente por células de Sertoli normais e membrana basal, com ausência de espermatogênese.

A hipoplasia testicular pode confundir-se com degeneração, sendo o diagnóstico diferencial baseado em fundamentos clínicos e exames seriados do sêmen, além de exames histológicos do material suspeito. Acredita-se que a causa de hipoplasia testicular está relacionada com um gene dominante incompleto.

### Alterações degenerativas

**Degeneração testicular** - as gônadas estão diminuídas de volume, com consistência firme à palpação e ao corte, apresentando superfícies homogêneas de coloração branco-amarelada. Microscopicamente, as lesões degenerativas dos túbulos seminíferos caracterizam-se por ausência de espermiogênese, presença de espermáticas com citoplasma vacuolizado e núcleo picnótico, às vezes formando células gigantes multinucleadas, espermatócitos e espermatogônias com



citoplasma granuloso, às vezes vacuolizado e núcleo picnótico ou em cariorexe. Os túbulos seminíferos podem estar revestidos somente por membrana basal espessa e hialinizada e por células de Sertoli normais. Também, pode haver proliferação de tecido conjuntivo fibroso intersticial, invadindo os túbulos seminíferos. A degeneração testicular, em aves, relaciona-se com processos infecciosos locais ou sistêmicos, lesões vasculares, distúrbios hormonais e tóxicos diversos. Essa patologia é freqüentemente responsabilizada por redução da fertilidade em todas as espécies de animais.

## **Alterações inflamatórias**

**Orquite** - nas reações inflamatórias agudas, as gônadas apresentam-se aumentadas de volume, flácidas, avermelhadas, pouco resistentes ao corte e as superfícies de corte não se justapõem após secção. Nas inflamações crônicas, os testículos estão diminuídos de volume, com consistência firme e resistente ao corte. A túnica albugínea pode estar aderida, espessa e rugosa. Microscopicamente, em sua maioria, caracteriza-se por focos de células inflamatórias no interstício, constituídos por mononucleares linfócitos e polimorfonucleares heterófilos. O infiltrado, às vezes, pode estar somente na túnica albugínea, caracterizando um quadro de periorquite. Os túbulos seminíferos podem apresentar alterações degenerativas e espermiostase.

Os processos inflamatórios dos testículos são freqüentemente relacionados com infecção por bactéria do gênero *Salmonella* ou uma extensão de uma peritonite.

**Epididimite** - geralmente está associada à orquite. Macroscopicamente não se detecta lesões e, microscopicamente, o infiltrado inflamatório é focal e constituído por mononucleares linfócitos e plasmócitos. Às vezes, observa-se proliferação de tecido conjuntivo fibroso. Nos processos agudos, verifica-se reação vascular caracterizada por hiperemia e infiltração inflamatória de linfócitos e heterófilos. Às vezes, a luz do conduto pode estar dilatada e com hipotrofia do epitélio, com rompimento da membrana basal e extravasamento de espermatozóides para o interstício. Pode haver lesões granulomatosas, contendo células do sistema monocítico fagocitário.

## **Alterações progressivas**

**Neoplasias** - as neoplasias testiculares podem ser seminomas e teratomas. Os seminomas, macroscopicamente, possuem as áreas neoplásicas bem definidas. Estas são regularmente vascularizadas e de aspecto tubular em razão da presença de discreto estroma conjuntivo. Microscopicamente é caracterizada por intensa celularidade. As células são grandes e arredondadas, com citoplasma pouco acidófilo e núcleo grande e arredondado, com nucléolo bem evidente. Os teratomas, macroscopicamente, são tumores de consistência firme. Ao corte, observa-se a presença de uma cápsula conjuntiva bem definida e superfícies irregulares e de coloração brancacenta. Histologicamente, o tumor é envolvido por cápsula de tecido conjuntivo fibroso, revestida internamente por epitélio estratificado pavimentoso, às vezes ceratinizado. Nesse tipo de tumor, pode haver tecido adiposo, placas de queratina e estrutura semelhante à pena e, às vezes, focos de tecido linfóide. Outras estruturas, como tecido condróide, osteóide, variedades epiteliais, fibras musculares e cavidades císticas, podem ser encontradas nos teratomas testiculares.

# Fisiopatologia do sistema urinário

## Introdução

O sistema urinário das aves é constituído por dois rins e dois ureteres. Os rins das aves são divididos em lobos cranial, medial e caudal. Cada lobo é composto de vários lóbulos e cada lóbulo é formado por vários segmentos localizados na cortical, que deságuam em um único e profundo cone medular. Cada seguimento da cortical contém uma veia central, correndo paralelamente em direção à superfície renal. Envolvendo esta veia, encontram-se os túbulos proximal e distal e os glomérulos. O nefron é a unidade funcional dos rins. Um único lóbulo consiste de uma grande cortical e de uma pequena região medular. O córtex é formado por vários segmentos de nefrons. Estes segmentos não diferem muito daquele dos mamíferos.

Os ureteres são revestidos externamente por serosa, possuindo uma espessa parede muscular e mucosa formada por epitélio colunar pseudoestratificado.

Nos rins, a autólise surge logo após a morte. As células desprendem-se e desintegram-se e podem dissolver-se completamente. Nas aves é característica uma hipercromasia da membrana nuclear com cariorexe, como é encontrado na nefrose. Assim, torna-se indispensável proceder rapidamente à necropsia logo após a morte e fixar os fragmentos de rins para os casos de necessidade de avaliações histológicas.

As alterações renais é uma parte considerada complexa da patologia. Todavia, examinando-se os órgãos macro e microscopicamente, verifica-se não ser tão complicado. No exame macroscópico sistemático dos rins, é importante avaliar tamanho, cor e consistência do órgão.

## Alterações do desenvolvimento

**Agenesia** - é encontrada somente em embriões mortos. A hipoplasia renal e agenesia podem ser induzidas por infecção em pintos de um dia de idade com amostras nefrotóxicas do vírus da bronquite infecciosa. Isto pode ser manifestado por diminuição do número de nefrons. Relatos de alta incidência de defeitos congênitos nos rins podem ser devidos à atrofia pós-inflamatória. Os rins policísticos são usualmente considerados achados de ocorrência esporádica e associados a um processo pós-inflamatório.

## Alterações vasculares

Nas galinhas, as artérias renais e seus ramos não são, rotineiramente, envolvidas nos processos patológicos. A aterosclerose, que é comum, especialmente em aves mais velhas, usualmente não envolve os vasos renais. Congestão, hiperemia e hemorragia são achadas comumente nas doenças infecciosas.

## Alterações degenerativas ou nefroses

As nefroses são alterações degenerativas dos rins, as quais são predominantemente tubulares. Essas são doenças metabólicas primárias dos rins, causadas por determinadas intoxicações (cloreto de sódio, bicarbonato de sódio, micotoxinas, pesticidas, fósforo) e privação de água.

Clínica e macroscopicamente, não é possível diagnosticar a nefrose. Na necropsia, os rins podem estar pálidos e aumentados de volume. Histologicamente, desde que o órgão não tenha alterações de autólise, verifica-se degeneração parenquimatosa em diferentes graus e estágios. As células tubulares estão edemaciadas, frequentemente separadas uma da outra por espaços intercelular e frequentemente separadas da membrana basal. A presença de cilindros hialinos pode obliterar o seguimento tubular distal e impedir o escoamento da urina, ocasionando a estagnação e dilatação do seguimento proximal.

Na privação aguda de água das aves, os rins mostram uma rápida progressão de lesões degenerativas até necrose das células do epitélio tubular. Inicialmente, observa-se que há dilatação da luz tubular, seguida de material eosinofílico e basofílico, que são cristais de uratos. Estes, ao penetrarem na lâmina basal do epitélio tubular, desencadeiam uma reação inflamatória em resposta à necrose e a si mesmos. A necrose tubular pode ocorrer em aves domésticas e silvestres, devido ao uso de antibióticos aminoglicosídeos, principalmente a gentamicina e a canamicina. Doses excessivas e prolongadas de sulfonamidas podem produzir um estado de toxicidade aguda e levar à precipitação de cristais nos rins e à obstrução dos ureteres. Além disso, nos casos de acidose metabólica, há diminuição no consumo de água e aumento do risco de ocorrência de cristalização renal.

A nefrose pode ser induzida com a administração de excesso de sódio na água ou no alimento. Os compostos aldrin, aloxano, acetona e fenol podem produzir necrose tubular aguda. A administração de oosporina ou cultura do fungo que a produz induz necrose tubular aguda em aves jovens. Em ave adulta a necrose tubular tende à cronicidade. A ocratoxina, entretanto, produz necrose tubular severa com deposição de uratos. A citrinina, em baixas doses, produz sinais clínicos de doença renal, incluindo a poliúria. Rações com alta concentração de cálcio para aves não em produção de ovos podem produzir nefrose. As lesões observadas na necropsia são: rins pálidos e aumentados de volume, com os nefrons se destacando na superfície. Microscopicamente, observa-se degeneração parenquimatosa do epitélio tubular. Pode haver mineralização focal disseminada, necrose, fibrose e urolitiase.

**Gota** - como é visto em galinha (*Gallus gallus domesticus*), macroscopicamente, os rins gotosos mostram-se aumentados de volume com superfície como que polvilhada de gesso fino. Na superfície de corte, observa-se o mesmo aspecto umedecido. Às vezes, notam-se grandes manchas radiadas.

No exame microscópico, a gota aparece em forma de leque ou radiadas ou em grânulos amorfos, depositados na cápsula de Bowman e nos túbulos coletores. Estes estão incluídos numa fina massa necrótica e, em volta deles, encontra-se grande quantidade de células gigantes do tipo corpo estranho.

Essa alteração pode ser vista também em outras espécies de aves, como perus, papagaios e aves silvestres, inclusive de gaiolas.

Na etiologia da gota estão relacionada a deficiência da vitamina A, neste caso são observadas lesões em outros órgãos como esôfago, coração e articulações. As intoxicações por bicarbonato de sódio, que podem ser imputadas como causa da gota renal.

## Alteração inflamatória

**Glomerulonefrite** - é um processo inflamatório focal, observado no decurso de diferentes doenças infecciosas de origem bacteriana ou viral. Na glomerulonefrite serosa ou serofibrinosa, os rins estão aumentados de volume e pálidos. No exame histológico os espaços subcapsulares estão repletos de massa homogênea e filamentosa. Os capilares estão repletos e os núcleos das células endoteliais mostram-se aumentados. Pode haver degeneração hidrópica da parede dos capilares e lise total. Simultaneamente, observa-se imbebição serosa focal periglomerular ou intertubular. Nos perus, a glomerulonefrite ocorre juntamente com a necrose hepática nos casos de aflatoxicose.

**Nefrite intersticial** - a base etiológica da nefrite intersticial da galinha é constituída, quase sempre, por doenças infecciosas, especialmente as salmoneloses. Na necropsia, os rins estão aumentados de volume. Em exame histológico verifica-se exsudação leucocitária. As células inflamatórias se agrupam principalmente nos espaços interlobular em redor dos glomérulos. Esta nefrite pode ser interpretada como pielonefrite. Nela, consideram-se as fases hiperaguda, aguda e crônica. A fase hiperaguda é caracterizada por edema intersticial, que ocasiona tumefação dos rins. Nas fases aguda e crônica ocorre, muitas vezes, grande eliminação de uratos e acúmulo destes nos canalículos.

Nefrite não-purulenta ou de etiologia viral - a mais comum é a nefrite-nefrose, causada pelo vírus da bronquite infecciosa (BI), e a lesão é mais degenerativa. As amostras do vírus da Bronquite infecciosa, que possuem tropismo para as células do epitélio tubular dos rins, são: Australian T ou A, Holte, Grey, J 19 e GN-2 e algumas variantes. Além disso, algumas amostras vacinais, incluindo Flórida 88, H 52 e Massassuchets 41, têm sido relatadas como capazes de causarem nefrite intersticial em surtos de campo. Em necropsia, os rins mostram-se aumentados de volume, pálidos e de aspecto marmóreo, em razão da presença de cristais de uratos. Os ureteres apresentam-se dilatados e repletos de cristais de uratos. Também, na doença infecciosa bursal, que é causada por um birnavírus RNA, os rins apresentam-se pálidos, aumentados de volume e com presença de uratos. Histologicamente caracteriza-se por degeneração turva e necrose de coagulação tubular, edema intersticial, acentuado acúmulo de uratos e cilindros granulosos intratubulares, infiltrado de células mononucleares (linfócitos e plasmócitos), na cortical e medular. Os glomérulos mostram-se invadidos por células inflamatórias, dando um quadro de glomerulite aguda.

Nefrite purulenta ou de etiologia bacteriana – em salmoneloses o processo infeccioso é focal. Macroscopicamente, os rins podem apresentar aumentados e congestos nos processos agudos ou pálidos nos processos subagudos. Ocorre exsudação leucocitária e ativação dos histiócitos e as células se agrupam ao redor dos glomérulos e tubos proximais.

**Nefrite de etiologia parasitária (nefrite granulomatosa)** - *Eimeria truncata* (ganso e pato). Na necropsia, os rins estão pálidos e aumentados de volume e no exame histológico observa-se dilatação tubular e presença de coccídias em diferentes fases de desenvolvimento. O epitélio mostra-se necrosado e descamado, acumulando-se no lume dos túbulos, podendo haver precipitação de cristais de uratos.

## Alterações progressivas

**Neoplasias** - os tumores renais mais comuns são os induzidos pelo vírus da doença de Marek. Todavia, o nefroblastoma é um outro tumor que pode ser encontrado nos rins, o qual varia em tamanho e em aparência. Esses tumores são, em sua maioria, císticos e frequentemente unilaterais. Os nefroblastomas originam-se de células nefrogênicas multipotenciais, possuindo estruturas epiteliais e mesenquimais. As características histológicas são muito variadas, mostrando hemorragias, necrose e placas de queratina.

## **Bibliografia**

- Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW. *et al.* **Diseases of poultry**. 10th ed. Iowa: Iowa State University Press; 1997. 1.080 p.
- Hodges RD. **The histology of the fowl**. New York: Academic Press; 1974. 648 p.
- Jubb KVF, Kennedy PC. **Pathology of domestic animals**. New York: Academic Press; 1963. v. 2.
- King AS, McLelland J. **Outlines of avian anatomy**. London: Baillière Tindall; 1975.
- Nieberle K, Cohrs P. **Anatomia patológica especial dos animais domésticos**. 5.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 1970. v. 2.
- Riddell C. **Avian histopathology**. 2nd ed. Saskatchewan: American Association of Avian Pathologists; 1996.
- Santos BM, Faria JE, Ribeiro VV. **Doenças virais de importância nas aves**. Viçosa: Editora UFV; 2005. Cadernos didáticos.
- Siller WG, Cumming RB. The histopathology of an interstitial nephritis in the fowl produced experimentally with infectious bronchitis virus. **Journal of Pathology** 1974; 75:114-173.
- Siller WG. Renal pathology of the fowl. A review. **Avian Pathology** 1981; 10:187-262.

Fisiopatologia do sistema reprodutor

<b>Introdução</b>	<b>315</b>
<b>Sistema reprodutivo das fêmeas</b>	<b>317</b>
<i>Ovário</i>	317
<i>Oviduto</i>	320
<b>Sistema reprodutivo dos machos</b>	<b>321</b>
<i>Produção espermática</i>	321
<b>Fisio-endocrinologia do sistema reprodutivo</b>	<b>324</b>
<i>Fêmea</i>	324
<i>Macho</i>	327
<b>Semiologia e avaliação clínica</b>	<b>327</b>
<i>Anamnese</i>	327
<i>Análise clínica</i>	330
<b>Lesões macro e microscópicas</b>	<b>336</b>
<i>Patologias do trato reprodutor feminino</i>	336
<i>Patologias do sistema reprodutor masculino</i>	341
<b>O sistema reprodutivo das aves e a disseminação de enfermidades</b>	<b>343</b>
<i>Poder multiplicador</i>	343

<i>Transmissão vertical de microorganismos</i>	343
<b>Fatores que afetam o desempenho reprodutivo</b>	<b>351</b>
<i>Aporte de nutrientes</i>	351
<i>Condição corporal</i>	353
<i>Uniformidade</i>	357
<i>Idade do lote</i>	357
<i>Programa de estímulo luminoso (ou Programa de Luz)</i>	358
<i>Comportamento de incubação (choco)</i>	363
<i>Estresse calórico</i>	368
<i>O macho</i>	370
<b>Bibliografia</b>	<b>374</b>

## Fisiopatologia do sistema reprodutor

Luiz Sesti; Nair M. K. Ito

### Introdução

O sistema reprodutivo das aves domésticas de importância econômica (matrizes pesadas para a produção de frangos de corte, poedeiras leves para a produção de ovos comerciais) é composto basicamente por:

- **sistema endócrino** (hipotálamo, hipófise anterior mais folículos ovarianos nas fêmeas e testículos nos machos).
- **sistema anatômico-funcional** (ovário e oviduto nas fêmeas e testículos nos machos).

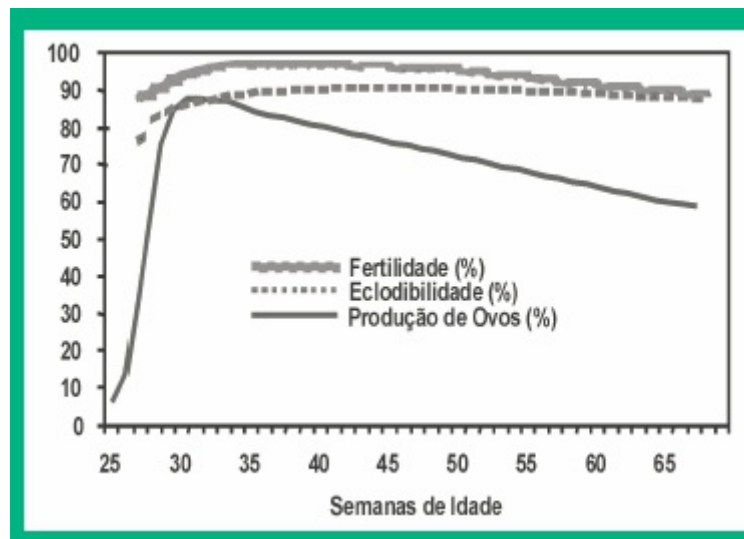
Estes componentes do sistema reprodutivo necessitam estar finamente sintonizados e ajustados entre si (como um trabalho em time) para uma eficiente produção de ovos férteis ou comerciais. Este trabalho em time ou comunicação entre órgãos é essencial na prevenção de problemas que possam ocorrer quando certos fatores etiológicos perturbam a sintonia do sistema reprodutivo. Particularmente para matrizes pesadas, o manejo da forma e função ovariana influencia diretamente o desempenho reprodutivo e a incidência de condições de patologias da reprodução nestas aves.

Qualquer tipo de causa que induza algum distúrbio funcional nos componentes do sistema reprodutivo também causará anormalias no desempenho reprodutivo das aves e, conseqüentemente, perdas econômicas para seus criadores. Portanto, sempre que uma ave apresentar qualquer desvio de seu desempenho reprodutivo normal, o qual é ditada por seu potencial genético, práticas de manejo às quais é submetida e pela saúde de seu organismo, ela certamente poderá ser diagnosticada como apresentando um sistema reprodutivo enfermo. Embora, muitas vezes, as causas desta baixa performance reprodutiva nada tenham a ver com agentes de doenças infecciosas (vírus e bactérias).

Por outro lado, certas condições infecciosas podem causar reduções temporárias no desempenho reprodutivo (Encefalomielite Aviária e outros causando perdas temporárias na produção de ovos e eclodibilidade) ou mesmo causar problemas de desempenho reprodutivo a longo prazo, tais como os casos da síndrome da queda da postura e bronquite infecciosa. Com estes dois últimos, uma piora na qualidade da casca pode fazer com que os ovos sejam não aproveitáveis mesmo que o nível de produção seja normal. A leucose linfóide aviária tem sido identificada como uma condição que não somente causa um problema primário, como a produção de tumores e altas taxas de mortalidade semanal, bem como induz uma condição crônica de baixa produção de ovos. Além disso, não se pode esquecer que determinadas doenças podem fazer com que ovos comerciais se tornem não aptos ao consumo humano, como, por exemplo, ovos produzidos por lotes contaminados por *Salmonella* Enteritidis.



A investigação de problemas de natureza reprodutiva em lotes de aves reprodutoras envolve a análise detalhada de várias possíveis etiologias infecciosas e não infecciosas, as quais muitas vezes, estão atuando conjunta e sinergisticamente na diminuição de desempenho reprodutivo de fêmeas e machos. Outro aspecto essencial para uma investigação efetiva é a utilização de parâmetros reprodutivos alvos em comparação com o atual desempenho das aves. Empresas de melhoramento genético suprem os produtores de ovos férteis com números alvo para as principais características reprodutivas de suas fêmeas (**Figura 1**). Estas informações podem e devem ser utilizadas para melhoria e maximização (sintonia fina) da performance dos lotes de matrizes.



**Figura 1** - Exemplo de padrões de produção e reprodução de matrizes pesadas para a produção de frangos de alta conformação. Estes dados devem ser fornecidos como números alvo aos usuários de cada linhagem genética (pico de produção de ovos de 85% às 31 semanas de idade com um total de 7 semanas acima de 80%. Produção total alvo  $\geq 152$  pintos de um dia de idade por fêmea alojada durante 44 semanas de produção / 85% de eclodibilidade semanal média / 89,8% fertilidade semanal média. [[http://site.aviagen.com.br/pdf\\_matriz/Encarte\\_pag2.pdf](http://site.aviagen.com.br/pdf_matriz/Encarte_pag2.pdf) e [http://site.aviagen.com.br/pdf\\_matriz/Encarte\\_pag8.pdf](http://site.aviagen.com.br/pdf_matriz/Encarte_pag8.pdf)]).

As causas de quedas bruscas nestes parâmetros são, na maioria das vezes, facilmente diagnosticáveis. No entanto, pequenas flutuações na produtividade e mesmo pequenas reduções permanentes de produtividade podem facilmente passar despercebidas na rotina do dia a dia.

Portanto, é essencial que os produtores implementem e mantenham sempre atualizado um banco de dados com informações do desempenho reprodutivo de lotes em produção (**Tabela 1**). Estes dados devem ser coletados e analisados semanalmente. Somente assim, quedas bruscas na produtividade e tendências a médio e longo prazo podem ser avaliadas efetivamente para a tomada de decisões corretivas.

**Tabela 1** - Parâmetros relacionados com o desempenho produtivo/reprodutivo a serem coletados e analisados semanalmente em lotes de matrizes pesadas de alta conformação durante a fase de produção.

Parâmetro	Valor Alvo
-----------	------------

% Produção / Fêmea / Dia	manual da linhagem
% Produção / Fêmea / Semana	manual da linhagem
Ovos totais / Semana/ Fêmea Alojada	manual da linhagem
Ovos totais acumulados / Fêmea Alojada	manual da linhagem
Ovos incubáveis / Semana/ Fêmea Alojada	manual da linhagem
Ovos incubáveis acumulados / Fêmea Alojada	manual da linhagem
% Total de Eclosão	manual da linhagem
Fertilidade (% de nascimento do total de ovos incubáveis)	manual da linhagem
Nascimento Total de Pintos de Primeira	manual da linhagem
Pintos / Semana / Fêmea Alojada	manual da linhagem
Pintos acumulados / Fêmea Alojada	manual da linhagem
Peso Médio do Ovo	manual da linhagem

Massa de Ovo	manual da linhagem
% Aproveitamento de Ovos	manual da linhagem
Curva de Peso (macho e fêmea) / semana manual da linhagem	
Taxa de Mortalidade (macho e fêmea) / semana manual da linhagem	
Variação de Temperatura do Galpão / semana manual da linhagem (mínima, máxima e operacional)	
Variação de Temperatura Externa	padrão de cada região geográfica
Consumo de Ração / Ave / Dia	manual da linhagem
Consumo de Água / Ave / Dia	350-500 ml dependendo da temperatura ambiente dentro das instalações serem coletados e analisados semanalmente em lotes de matrizes pesadas de alta conformação durante a fase de produção.

As causas de quedas do desempenho reprodutivo em um lote de matrizes podem ser múltiplas (fatores infecciosos e não infecciosos). É necessário, portanto, que o médico veterinário realizando a investigação conheça em detalhes o sistema de produção em questão. Deste modo, o profissional poderá direcionar o levantamento inicial de informações (anamnese) e, assim, agilizar o diagnóstico. Por exemplo, problemas de desempenho reprodutivo em um sistema de produção com excelente programa de biossegurança e monitoramento da saúde do rebanho, localizado em uma área geográfica com baixa densidade animal (baixo número de granjas de aves) estarão, provavelmente, relacionados à fatores não infecciosos (nutrição, manejo, meio ambiente e outros). Este direcionamento inicial da investigação poderá não só agilizar a resolução do problema quanto também evitará que o produtor tenha despesas inúteis com análises em laboratórios de diagnóstico veterinário.

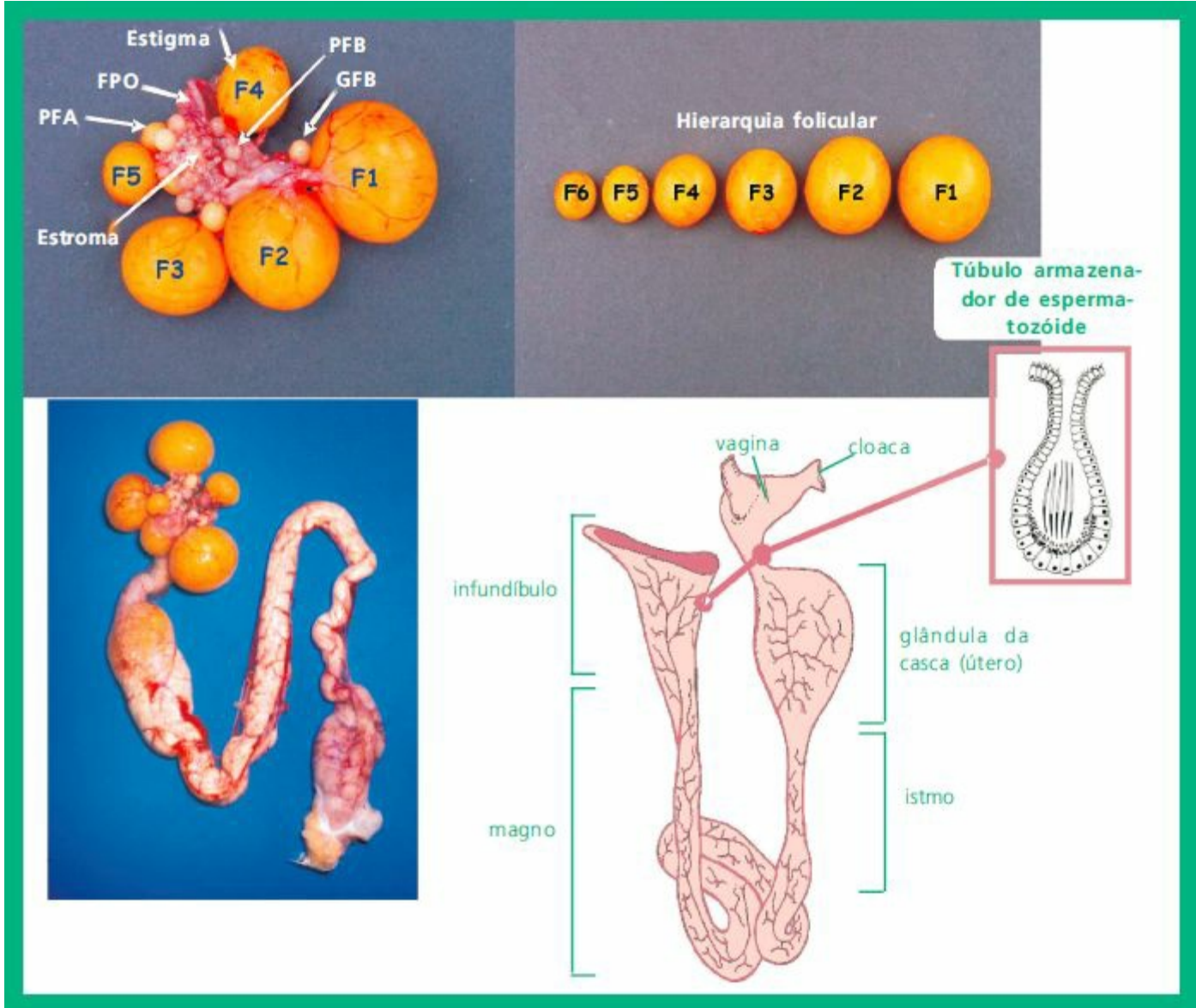
A maximização da eficiência reprodutiva de aves fêmeas e machos reprodutores requer um conhecimento básico a respeito dos processos fisiológicos e estruturas anatômicas que influenciam a maturação sexual, ovulação, fertilização, reserva de espermatozoides in vivo, formação do ovo e oviposição (ato de postura ou expulsão do ovo formado). O desempenho reprodutivo de fêmeas e machos é determinado pelo potencial genético transmitido pelos pais e por fatores ambientais (estímulo de luz, instalações, temperatura, nutrição e manejo) os quais afetam significativamente a capacidade do criador em atingir o máximo potencial reprodutivo das aves.

O objetivo primário deste capítulo é o de descrever as estruturas e processos anátomo-fisiológicos básicos do processo reprodutivo em aves e suas possíveis patologias, sejam elas de ordem infecciosa ou não (fisiopatologia). As quais possam causar perdas econômicas na criação de aves via uma diminuição da performance reprodutiva de fêmeas (menor produção de ovos ou pintos de um dia de idade) e machos (menor quantidade e qualidade de produção de espermatozoides, menor fertilidade).

## Sistema reprodutivo das fêmeas

Uma breve revisão da anatomia funcional do trato reprodutivo da galinha é necessária para um melhor entendimento e descrição de suas funções durante o ciclo reprodutivo. Descrições mais extensas e detalhadas nesta área podem ser encontradas nos trabalhos de Bahr, Johnson (1991), Bakst, Bahr (1993) e Johnson (2000).

O sistema reprodutivo da galinha consiste de um único ovário (esquerdo) e seu respectivo oviduto (**Figura 2**), embora ocasionalmente, o ovário direito possa também estar presente e eventualmente ser funcional.



**Figura 2** - O trato reprodutivo das aves domésticas inclui o ovário o qual contém uma hierarquia de folículos de gema amarelada identificados como F1, F2, F3, F4, F5 e F6 e vários milhares de pequenos folículos dos quais os da série F... são recrutados. Os folículos pequenos são qualificados de acordo com seu diâmetro em pequenos folículos amarelos (PFA; 5 a 10mm), grandes folículos brancos (GFB; 2 a 4mm) e pequenos folículos brancos (PFB; <1 mm). O folículo F1 se rompe através do estigma que é uma área avascular da parede folicular. O folículo rompido ou folículo pós-ovulatório (FPO) é facilmente identificado por pelo menos 24 horas após a ovulação e então regressa rapidamente durante os próximos poucos dias. Os espermatozóides normalmente são armazenados nos túbulos armazenadores de espermatozóides, localizados junto à junção entre a glândula da casca e a vagina. No entanto, outro grupo de túbulos armazenadores de espermatozóides (de função desconhecida) estão localizados no infundíbulo.

## Ovário

O número de oócitos (óvulos imaturos) de um embrião de galinha aumenta de aproximadamente de 28.000 no nono dia de desenvolvimento para 680.000 no 17º dia e, subsequentemente, diminui para 480.000 até o momento da eclosão quando a oogênese já está terminada. O ovário de uma ave imatura sexualmente consiste de uma massa de pequenos óvulos, dos quais em torno de 1.000 podem ser vistos a olho nu. Somente uma pequena quantidade destes, em torno de 150 a 250 (dependendo do objetivo comercial da ave e da linhagem genética utilizada em cada tipo), atingem

a maturidade e são ovulados durante a vida produtiva da galinha adulta.

O ovário de uma ave em produção contém uma hierarquia de folículos em quatro categorias (**Figura 2**):

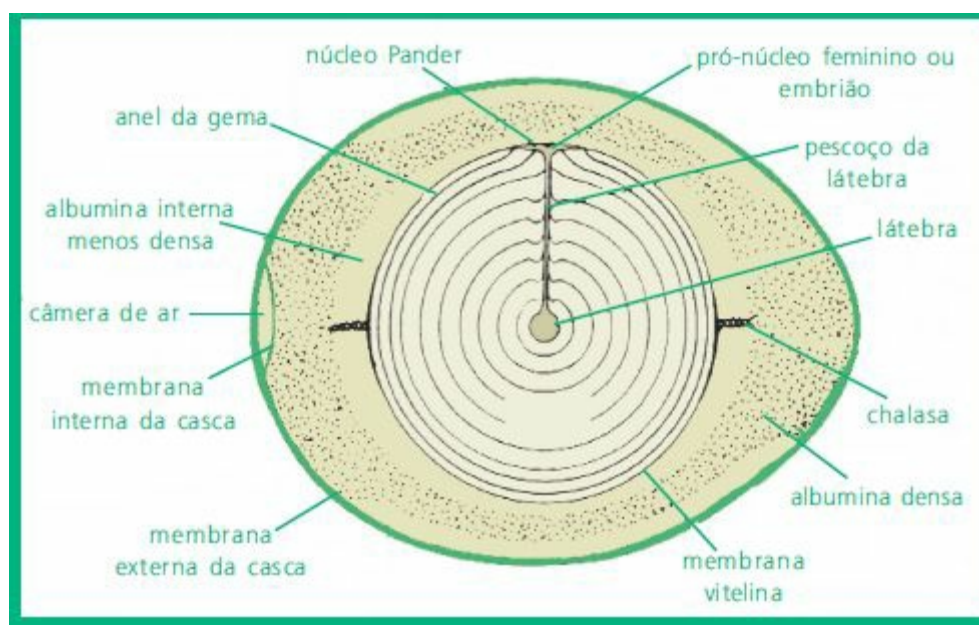
1ª Folículos brancos pequenos (FBP)

2ª Folículos brancos grandes (FBG)

3ª Folículos amarelos pequenos (FAP) e

4ª Categoria F. Folículos hierarquicamente designados pela sua posição no desenvolvimento (i.e., F1, F2, F3, etc...) a partir do de maior diâmetro (F1).

O diâmetro dos FBP é de menos de 1mm e existem mais de 1.000 folículos nesta categoria. Estes pequenos folículos são recrutados dentro de um grupo de aproximadamente 20 FBG com diâmetro variando de 2 a 5mm. Durante estes dois estágios os folículos acumulam gema branca contendo aproximadamente 87% água e 4% gordura. Os FBG são em seguida recrutados para dentro de um grupo de 8 a 10 FAP o quais começam então a acumular gema amarela. Estes por sua vez são recrutados para a posição mais baixa (menor diâmetro) da quarta categoria (categoria F) de folículos contendo com gema amarela. Após sua entrada nesta categoria, os folículos acumulam gema amarela rapidamente em camadas concêntricas que podem ser reconhecidas. A gema amarela é distinguida da gema branca (que rodeia o pró-núcleo ou embrião) por seu pequeno conteúdo de água ( $\pm 45\%$ ) e uma alta concentração de lipídeos ( $\pm 37\%$ ). A medida que a gema amarela é depositada no óvulo a gema branca se estende como uma coluna dentro do gema amarela até a superfície do óvulo (**Figura 3**).



**Figura 3** - Estruturas anatômicas de um ovo.

Quando ocorre a postura do ovo, o pró-núcleo feminino ou embrião está localizado na superfície da coluna de gema branca e embaixo da membrana vitelina.

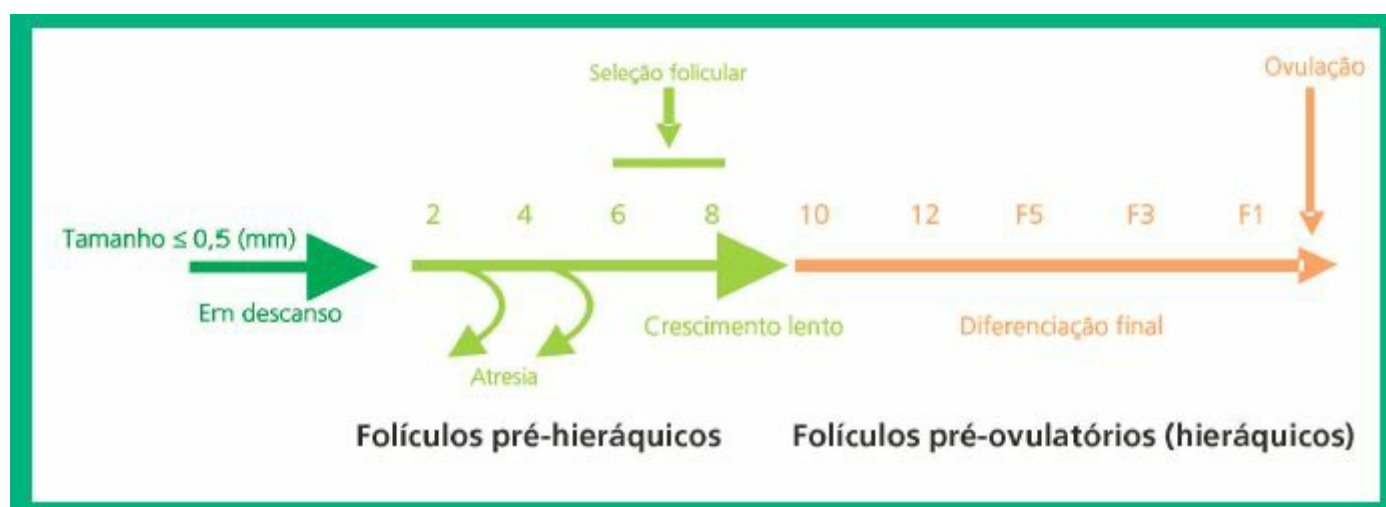
## Hierarquia folicular

Dois dos conceitos mais fundamentais e ainda não resolvidos dentro da disciplina da biologia

reprodutiva durante as últimas décadas são:

1. A identificação de fatores que regulam a seleção de um, ou em muitas espécies vários, folículos que em determinado momento é selecionado para continuar seu crescimento e diferenciação até ser ovulado.
2. A caracterização dos mecanismos que determinam quais folículos permanecerão viáveis, ou alternativamente, quais serão selecionados para sofrer atresia.

A presença de uma hierarquia folicular no ovário de galinhas (**Figura 4**) tem um significado adaptativo para as espécies ovíparas que produzem ovos sazonalmente em períodos seqüenciados de postura. Na natureza, a criação da progênie requer um extenso período de tempo, deste modo, limitando o período de reprodução para um ou dois em cada estação.



**Figura 4** - A hierarquia dos folículos no ovário da galinha assegura um continuum de folículos maduros a serem ovulados em dias sucessivos. Os folículos crescem de um diâmetro de 1 mm até o momento da ovulação em um período de 2 a 3 semanas. Dos folículos selecionados para a fase de crescimento lento, a maioria será perdida via atresia folicular. Um único folículo por dia é selecionado de um pequeno grupo de folículos pré-hierárquicos de 6 a 8 mm e, uma vez selecionados, muito raramente serão perdidos via atresia. Dois dos mais importantes eventos relacionados com o estabelecimento e manutenção desta hierarquia são a caracterização dos fatores que mediam a seleção folicular para dentro da categoria de folículos pré-ovulatórios e, a caracterização de mecanismos extra e intra-celulares envolvidos com o processo de atresia folicular.

O estabelecimento e a manutenção desta hierarquia folicular são dependentes de dois eventos considerados intrinsecamente ligados: seleção folicular e resistência à atresia. Recentemente, progressos significativos têm sido alcançados na caracterização dos mecanismos os quais estão intimamente ligados com o processo de seleção de folículos. Embora os sinais específicos para o recrutamento de alguns folículos para dentro da hierarquia bem como os locais específicos de ação (camada da granulosa ou camada da teca) não tenham sido identificados, é evidente que imediatamente após a seleção folicular as células da granulosa começam a se diferenciar rapidamente e concomitantemente perdem sua habilidade de proliferar, exceto na área do disco germinal do folículo.

Outro aspecto muito importante é que folículos pré-ovulatórios tornam-se resistentes ao processo de atresia, o que é atribuído à uma resistência adquirida das células da granulosa à apoptose (processo de morte celular conservado durante a evolução que serve para eliminar células e tecidos seletivamente durante um processo de remodelação tecidual ou renovação celular normal). O sinal que inicia atresia em alguns folículos pode perfeitamente ser um processo já programado geneticamente, já que não há ainda nenhuma evidência da secreção de fatores indutores de atresia por parte de folículos dominantes adjacentes à aqueles que sofrem atresia.

Embora existam vários sistemas intracelulares prováveis responsáveis pela manutenção da viabilidade das células da granulosa, pelo menos um destes parece envolver a família de genes relacionados com o bcl-2, ou seja, um proto-oncogene envolvido com o processo de apoptose (Johnson, 1996). Além disso, é muito importante notar-se que os processos fisiológicos que regem a seleção (atresia ou continuação do crescimento) de folículos podem ser regulados ou modificados pelas ações dos hormônios FSH (follicle-stimulating hormone; hormônio folículo estimulante) e VIP (vasotocin intestinal peptide; peptídeo vasotocina intestinal). Tais efeitos podem ser a redução da expressão de genes ligados à apoptose, aumento dos níveis e ativação de enzimas esteroidogênicas e atenuação do processo de apoptose em células da granulosa.

## Oviduto

O oviduto da galinha (**Figura 2**) consiste em um tubo de aproximadamente 700mm de comprimento constituído por sete diferentes camadas de tecido e sustentado (suspendido) na cavidade abdominal pelo ligamento dorsal peritoneal o qual continua-se ao redor do oviduto formando o ligamento ventral. Somente o oviduto esquerdo se desenvolve na galinha e, após 16 semanas de idade, apresenta um rápido processo de desenvolvimento, tornando-se totalmente funcional imediatamente antes do início da postura.

O oviduto consiste em cinco regiões anatômicas facilmente distinguíveis:

1. Infundíbulo
2. Magno
3. Istmo
4. Útero ou Glândula da Casca
5. Vagina

As principais funções do oviduto no processo reprodutivo incluem:

- Sítio de fertilização do óvulo.
- Deposição da albumina (clara do ovo), membranas e casca ao redor do ovo.
- Movimento do ovo ao longo do oviduto.
- Armazenamento e transporte dos espermatozoides.

As camadas de tecido muscular do oviduto são muito bem supridas de terminações nervosas do sistema nervoso autônomo o qual mantém um apropriado nível de contrações musculares nos vários segmentos. Sugere-se também que o trato reprodutivo possui nervos sensoriais já que corpos estranhos (agentes irritantes) colocados no útero inibem a deposição de  $\text{CaCO}_3$  nas cascas.



## **Infundíbulo**

Logo após a ovulação o óvulo é recolhido pelo infundíbulo (o qual não está diretamente ligado ao ovário) onde fica por aproximadamente 18 minutos. No entanto, este óvulo pode permanecer até aproximadamente 15 minutos solto na cavidade abdominal antes de ser apanhado pelas fimbrias do infundíbulo. É durante este estada no infundíbulo que o óvulo é fertilizado e a primeira camada de albumina é depositada. As contrações do tecido muscular do infundíbulo aumentam ao redor do momento da ovulação e os lábios desta estrutura engolfam o óvulo recém-ovulado. A atividade muscular desta parte do oviduto não parece ser controlada pelo processo da ovulação, já que qualquer objeto estranho colocado na cavidade abdominal antes da ovulação também será recolhido da mesma forma que o óvulo.

## **Magno**

A seguir o ovo passa para a maior porção do trato reprodutivo ( $\pm 330$  mm na galinha) que é o magno, onde a grande parte do conteúdo de albumina do ovo é formada ( $\pm 80\%$ ). Neste segmento, o ovo permanece por aproximadamente 3 horas. A camada muscular ao redor do magno não é extensa, mas suficientemente bem desenvolvida para impulsionar o ovo à frente.

Os níveis de estrógenos circulantes estimulam as células primordiais epiteliais do magno a diferenciarem-se em três tipos morfológicos de células: células glandulares tubulares, células ciliadas e células tipo taça. As células glandulares tubulares são responsáveis pela produção de várias proteínas (ovalbumina, conalbumina e lisozima) sob a estimulação de estrógenos. As células tipo taça sintetizam avidina sob a influência da progesterona e estrógenos.

Uma quantidade mensurável de cálcio é secretada no magno, no entanto, em nenhum momento esta secreção é maior do que a secreção basal de cálcio que ocorre na glândula da casca.

## **Istmo**

O istmo é claramente distinguível do magno. Entre ambos existe uma zona translúcida estreita que não possui glândulas tubulares mas possui uma camada muscular bastante grossa. Esta é a parte do oviduto onde é formada a membrana que recobre o ovo em formação e é caracterizada por paredes mais finas e estreitas. Sugere-se que as células secretórias das glândulas tubulares do istmo secretam a matéria base (proteínas) para as fibras que compõem a membrana da casca e as células secretórias do epitélio secretam a capa que recobre estas fibras.

Os processos físico-químicos através dos quais as proteínas secretadas pelas glândulas tubulares são transformadas em fibras não são conhecidos. A medida que o ovo passa pelo istmo (aproximadamente 90 minutos) as fibras são enroladas e constituem as membranas interna e externa da casca do ovo.

## **Glândula da casca ou Útero**

Dependendo do fotoperíodo, o ovo em formação pode permanecer no útero ou glândula da casca de 18 a 22 horas. Esta parte do oviduto é caracterizada por uma aparência de bolsa unida ao istmo por um curto “pescoço” e possui extensa musculatura. Durante sua permanência no útero, o ovo

agrega aproximadamente 15g de líquido o qual contém anidrase carbônica, fosfatase ácida, atividade de esterase, bicarbonato e uma variedade de eletrólitos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$ ). Durante este tempo, o ovo recebe ainda sua cobertura de cálcio (na verdade  $\text{CaCO}_3$ ), proteínas, pigmentos, cutícula e outros componentes da casca. Ao final de sua estadia no útero o ovo é expelido pelas contrações da musculatura lisa.

A calcificação que ocorre no útero está associada com estímulos iniciados pela ovulação ou por fatores neuro-endócrinos que controlam ambos, a ovulação e a secreção de cálcio. Evidências científicas indicam que a distensão do útero provocada pela presença do ovo não é o estímulo necessário para o início da alta taxa de deposição de cálcio, bem como também o sistema nervoso autônomo não está envolvido neste processo.

## Vagina

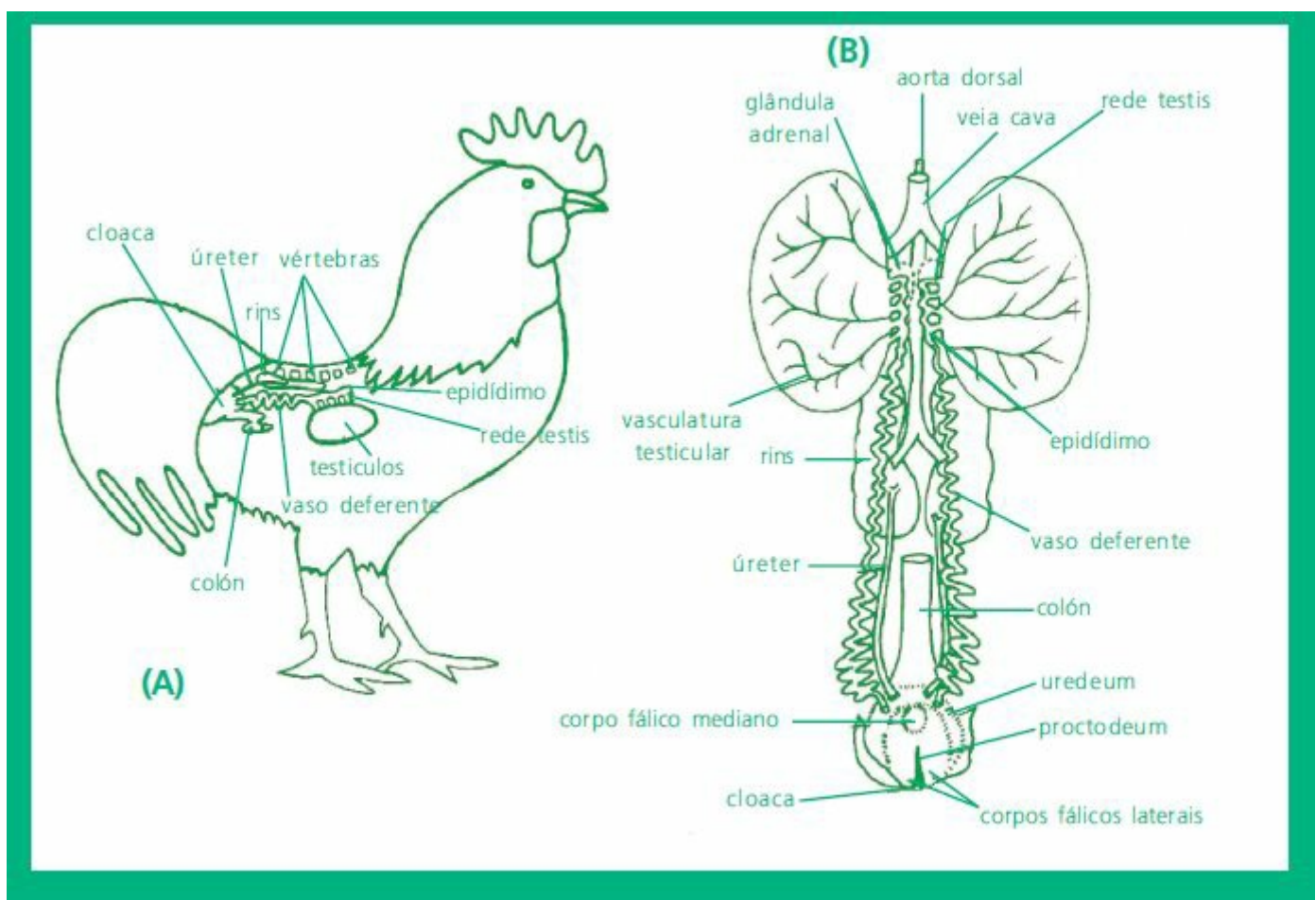
A vagina parece ser bastante curta por possuir sua metade cranial com muitas dobras as quais estão unidas por tecido conetivo. Possui uma camada muscular bem desenvolvida e serve como passagem para ovo até a cloaca no momento da postura. A vagina não tem nenhuma função na formação do ovo.

As contrações musculares da musculatura lisa do útero que causam a impulsão do ovo formado no momento da postura estão sob o controle dos hormônios prostaglandinas E2 e F2a e arginina vasotocina, cujos níveis mais altos estão associados com aumentos nas contrações da musculatura lisa do trato reprodutivo.

Nas aves domésticas, os espermatozóides ejaculados pelo macho durante a cópula são armazenados em estruturas especializadas chamadas túbulos armazenadores de espermatozóides presentes no infundíbulo e na vagina ([Figura 2](#)). Nestes, os espermatozóide permanecem viáveis por 7 a 14 dias na galinha e por mais de 21 dias na fêmea de perus.

## Sistema reprodutivo dos machos

O sistema reprodutivo do macho (galo) é basicamente constituído pelos testículos, epidídimos, vasos deferentes e o falo ([Figura 5](#)). Diferentemente do que ocorre em mamíferos, o macho das espécies avícolas não possuem órgãos reprodutivos acessórios tais como vesículas seminais, próstata, glândula de Cowper e glândulas uretrais.



**Figura 5** - (A) Os testículos e os ductos seminíferos dos machos das espécies avícolas estão localizados dentro da cavidade corporal ventralmente à espinha dorsal e rins. Uma curta rede testis conecta os túbulos seminíferos dos testículos com o epidídimo como ilustrado em (B). O sêmen contido no epidídimo é passado ao vaso deferente cuja porção mais caudal serve como órgão de armazenamento. Os ureteres, cólon e vasos deferentes abrem-se na cloaca. Durante a ejaculação o sêmen é expelido desde as porções mais caudais dos vasos deferentes dentro do urodeum e flui através do proctodeum entre as dobras dos corpos fálicos laterais (adaptada de Etches, 1996).

### Produção espermática

O sêmen consiste em espermatozoides e plasma seminal. O sêmen de aves é normalmente bastante concentrado (**Tabela 2**). Este fato é devido à quantidade limitada de plasma seminal presente, o que por sua vez é um reflexo da ausência dos órgãos reprodutivos acessórios nas espécies aviárias. O plasma seminal é derivado dos testículos e dos ductos seminíferos. No momento da ejaculação um líquido do tipo linfa (também conhecido como fluido transparente), de origem cloacal, pode ser adicionado ao sêmen em quantidades variáveis.

**Tabela 2** - Volume de sêmen e concentração espermática (média e variação) produzido por machos de linhagens comerciais de aves domésticas.

	Matrizes Pesadas	Linhagem Comercial			
		Poedeiras Comerciais		Perus	
		Leves	Médias	Leves	Pesados
Volume médio e variação (ml)	0,35(0,1-0,9)	0,15(0,05-0,3)	0,2(0,08-0,5)	0,15(0,08-0,3)	0,2(0,1-0,33)
Concentração de espermatozóides em bilhões por ml	5,7(3,0-8,0)	5,0(4,0-7,5)	5,0(3,5-6,0)	9,0(8,0-14,0)	9,5(9,0-13,5)

Um conhecimento preciso da taxa de produção de sêmen é muito importante para completa e efetiva avaliação do processo espermatogênico e os efeitos ambientais e hormonais sobre o desenvolvimento testicular. Com o advento da inseminação artificial (IA), um bom conhecimento da taxa de produção de espermatozóides é essencial para o manejo dos machos e para maximizar a disseminação de genes de machos de alto valor genético. O valor da taxa de produção de sêmen permite a determinação melhor taxa de acasalamento (porcentagem de machos sobre o número total de fêmeas), especialmente quando a IA é utilizada. A mensuração ou estimativa da taxa de produção de sêmen propicia a oportunidade uma identificação mais rápida de maus produtores de sêmen bem como a informação de quando e por quanto tempo bons produtores de sêmen podem ser utilizados em um programa de melhoramento genético.

A produção diária de espermatozóides (PDE) pode ser definida de duas maneiras diferentes baseadas em:

**Peso de tecido testicular (PDEp) ou produção durante período fixo de tempo (PDEt).**

PDEp é o total do número de espermatozóides produzidos por dia pelos dois testículos e é normalmente expresso como número de espermatozóides por grama de tecido testicular. Já PDEt é o número total de espermatozóides coletados durante um determinado período de tempo e expresso em uma base de produção por dia. É muito importante salientar que a PDEp depende unicamente de fatores fisiológicos (assumindo a utilização de técnicas padronizadas). Já, o PDEt depende grandemente de fatores técnicos tais como a habilidade do coletador, tipo de massagem empregada e frequência de coleta.

Técnicas padronizadas para a mensuração de PDEp estão baseadas em homogeneizados testiculares, análises morfométricas de seções de tecido testicular fixado ou canulações do parênquima testicular. Na grande maioria dos casos, a medida de PDEp em uma ave viva é totalmente impraticável, uma vez que isto requereria a biópsia de um ou ambos testículos. Isto é ainda mais difícil dada à localização intra-abdominal dos testículos nas espécies aviárias.

No entanto, se uma série de ejaculados é coletada durante um determinado período de tempo a PDEp pode ser estimada com boa precisão através da PDEt. Para tal é necessário obter-se de 5 a 10 coletas de sêmen sendo cada uma realizada em dias consecutivos. A PDEt é melhor utilizada quando os machos estão em um programa freqüente e regular de ejaculações. As coletas de sêmen podem ser facilmente realizadas através da técnica de massagem (Bakst, Cecil, 1997). A concentração de espermatozoides em um ejaculado pode ser determinada por contagem direta de uma amostra diluída em um hemocitômetro ou por métodos indiretos os quais geralmente requerem menos tempo. As duas técnicas mais comumente utilizadas são o volume de células centrifugadas (hematócrito) ou densidade ótica (espectrofotômetro).

O número de espermatozoides contidos nos ductos seminiais (epidídimos e vasos deferentes) pode ser estimado e é, geralmente, conhecido como reserva seminal extragonadal (RSE). Conhecendo-se a PDEt e a RSE, é possível calcular-se o número de dias que um espermatozoide em maturação é mantido pelo macho. A puberdade é alcançada quando os primeiros espermatozoides maduros são produzidos. No entanto, o macho só alcança sua maturidade sexual quando a máxima PDEp é alcançada.

A habilidade dos testículos em produzir espermatozoides parece estar regulada pelos eventos associados com a proliferação das células de Sertoli os quais ocorrem antes da maturidade sexual. Durante as primeiras dez semanas de vida de um macho o peso de seus testículos aumenta desde umas poucas miligramas até 60 a 100mg paralelamente a um aumento no número de células de Sertoli de um milhão para 100 milhões durante o mesmo período. Se um dos testículos é removido dentro de umas poucas semanas após o nascimento, o testículo remanescente apresenta um crescimento compensatório durante seis a oito semanas. Ao final, este único testículo apresentará a mesma massa de tecido e o mesmo número de células de Sertoli encontradas nos dois testículos somados em um macho intacto. No entanto, se a retirada de um dos testículos ocorre após o término da mitose das células de Sertoli (primeira semana de vida), o crescimento compensatório testicular não ocorre. Portanto, o número de células de Sertoli presentes nos testículos está intimamente relacionado com a habilidade destes órgãos para produzir espermatozoides.

Como a população de células de Sertoli é proporcional ao peso testicular, a produção de sêmen é também correlacionada com tamanho testicular. Em geral, machos maiores possuem testículos maiores e é por isso que machos de linhagens de matrizes pesadas produzem mais sêmen do que machos de linhagens de poedeiras leves. Em um meio ambiente estável e sob um fotoperíodo constante, em que os suprimentos adequados de ração e água são providos e os machos estão livres de doenças, a produção de sêmen diária é constante, independente da freqüência de ejaculações. Até aproximadamente 87% da produção diária de sêmen pode ser coletada pela técnica de massagem abdominal se os machos estão copulando freqüentemente ou estão em um programa de inseminação artificial com pelo menos cinco coletas semanais. Na ausência de

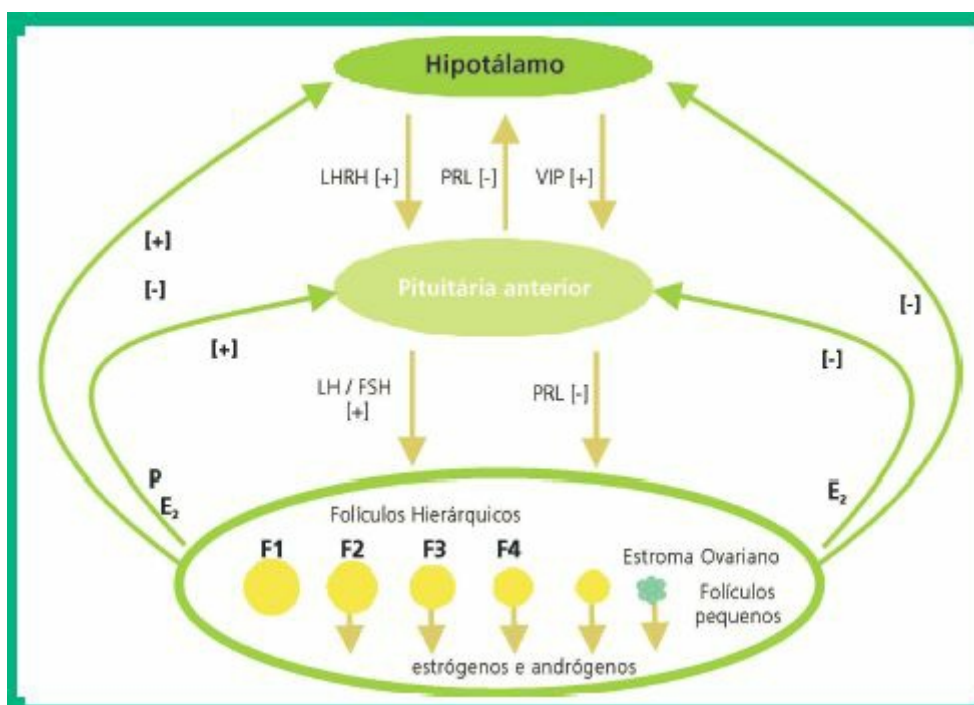
ejaculações ou coletas de sêmen, os espermatozoides são armazenados por alguns dias nas porções mais caudais dos vasos deferentes e então são reabsorvidos.

Embora a produção diária de espermatozoides ocorra em uma taxa constante, tanto o volume do ejaculado quanto a concentração de espermatozoides no ejaculado são reduzidas quando o sêmen é coletado frequentemente. Então, intervalo ótimo entre coletas de sêmen para a inseminação artificial dependerá do objetivo do programa de inseminação. Se o alvo é um máximo número de progênie por cada inseminação, o macho deverá ser coletado há aproximadamente cada cinco a sete dias. No entanto, se o objetivo é o número máximo de progênie por cada macho, então estes devem ser coletados em torno de cinco vezes por semana.

## Fisio-endocrinologia do sistema reprodutivo

### Fêmea

No interior do crânio das aves estão contidos dois importantes e críticos componentes do sistema reprodutivo. O primeiro, o hipotálamo, é uma pequena área endócrina localizada na base do cérebro e representa o principal “gatilho” controlador de muitos processos reprodutivos. Este órgão é diretamente estimulado pela energia da luz durante o período de fotoestimulação da ave. Os olhos das aves não são necessários para a percepção do fotoperíodo. A percepção do comprimento do fotoperíodo ocorre por meio da energia da luz que passa através dos ossos do crânio e estimula fotoreceptores específicos no hipotálamo. Quando as aves percebem que o comprimento do fotoperíodo é o suficiente para iniciar desenvolvimento do processo reprodutivo (mínimo efetivo de 11 a 12 horas de luz), a energia da luz que chega ao hipotálamo é convertida em impulsos nervosos e inicia-se então a produção, secreção e interação dos hormônios envolvidos no processo reprodutivo (**Figura 6**). Estes impulsos nervosos estimulam a produção e liberação pelo hipotálamo do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH, Luteinizing Hormone-Releasing Hormone) o qual viaja uma distância muito curta pela corrente sanguínea até a pituitária (hipófise) anterior (ou adenohipófise). Nesta glândula o LHRH por sua vez estimula a produção e secreção das gonadotropinas hormônio folículo estimulante (FSH, Follicle-Stimulating Hormone) e hormônio luteinizante (LH, Luteinizing Hormone). Este processo somente ocorre após a maturação funcional do hipotálamo, ou seja, o órgão é capaz de responder não somente aos estímulos da luz como também ao processo de retroalimentação hormonal (**Figura 6 e Tabela 3**). A maturidade do hipotálamo em combinação com outros sinais positivos oriundos de vários fatores metabólicos é fator crucial para que as aves jovens respondam ao estímulo da luz à época da maturação sexual (18-23 semanas de idade). Os hormônios FSH e LH agem no ovário para estimular a produção de folículos. No ovário, os pequenos folículos produzem andrógenos e estrógenos. Estes hormônios esteróides não somente retroalimentam o hipotálamo para auxiliar no controle da produção e secreção de gonadotropinas bem como, também, são responsáveis pela estimulação do desenvolvimento das características sexuais secundárias (por exemplo, crescimento e coloração de crista e barbela nos machos).



**Figura 6** - Inter-relações entre os hormônios da reprodução secretados pelo hipotálamo, pituitária anterior e ovário. Durante o ciclo reprodutivo, o hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH) é produzido pelo hipotálamo, estimula a produção e secreção da gonadotropinas (LH e FSH) pela pituitária anterior as quais agem no ovário e estimulam a síntese e secreção de estradiol ( $E_2$ ) e progesterona (P). Quando o folículo pré-ovulatório cresce o suficiente, a P secretada por ele estimula uma maior secreção de LHRH suficiente para provocar uma onda pré-ovulatória de LH e a ovulação ocorre. A prolactina (PRL), produzida pela pituitária anterior é antagonista, causa uma supressão na síntese e secreção de LHRH e regressão do ovário. O estradiol ( $E_2$ ) por sua vez inibe a síntese e secreção hipotalâmica do peptídeo intestinal vasoativo (VIP) o qual estimula a síntese e secreção de PRL pela pituitária. Os sinais [+] e [-] indicam efeitos de retroalimentação hormonal positiva e/ou negativa na pituitária e hipotálamo.

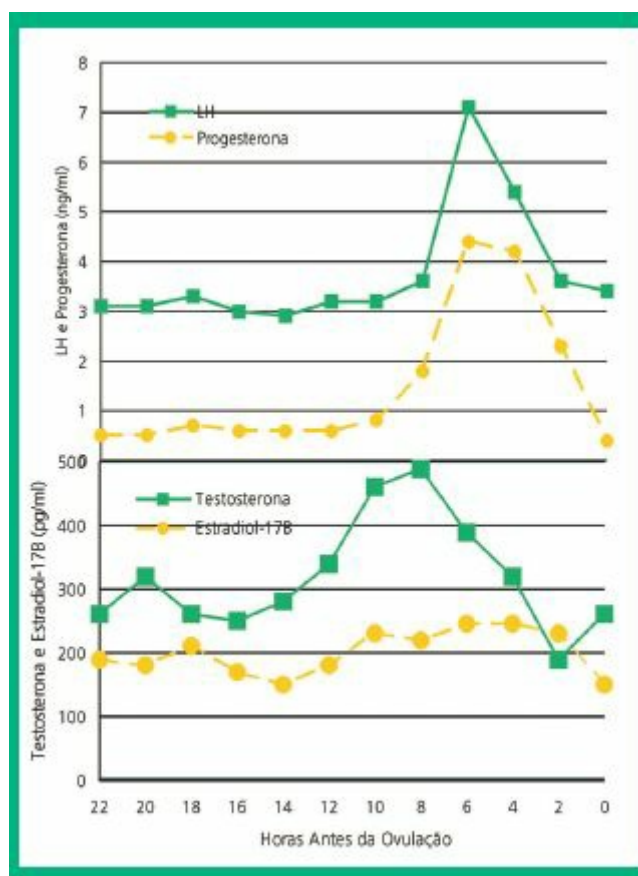
**Tabela 3** - Produção e função dos principais hormônios da reprodução nas fêmeas de espécies avícolas domésticas.

Órgão Produtor	Hormônio	Órgão Alvo	Função
Hipotálamo	LHRH (hormônio liberador do hormônio luteinizante)	Pituitária Anterior	Estimular síntese e secreção de gonadotropinas (LH e FSH)
	VIP (peptídeo intestinal vasoativo)	Pituitária Anterior	Estimular síntese e secreção de prolactina

Pituitária Anterior	FSH (hormônio folículo-estimulante)	Ovário	Estimular crescimento folicular inicial
	LH (hormônio luteinizante)	Ovário	Estimular produção hormonal ovariana e provocar ruptura folicular e ovulação
	Prolactina	Hipotálamo	Inibir síntese e secreção de LHRH e induzir comportamento de incubação (choco)
Folículos Imaturos e Pré-ovulatórios	Estrógenos e Andrógenos	Fígado Oviduto	Estimular lipogênese Estimular crescimento
		Ossos	Estimular crescimento de osso medular
		Crista	Estimular crescimento e coloração vermelha
		Penas	Podem iniciar uma troca de penas "pré-nupcial"
		Símfise púbica	Estimular alargamento da pélvis para passagem do ovo
Folículos Maduros (F1)	Progesterona	Hipotálamo	Estimular síntese e secreção de LHRH

A maturação folicular pode ser vista como um crescimento do folículo e desenvolvimento de sua capacidade endócrina (secreção de esteróides) a medida que a ovulação se aproxima. Medido como acumulação de massa tecidual, o crescimento do folículo ocorre de maneira exponencial após sua seleção para fazer parte do grupo de folículos hierárquicos que estão depositando gema. De um ponto de vista histológico, o folículo retém a mesma estrutura durante todo o processo de deposição da gema. No entanto, a esteroidogênese folicular muda da produção primária de estrógenos para andrógenos entre as diferentes posições da hierarquia folicular (de Fn a F2). Durante as últimas poucas horas antes da ovulação, a progesterona é o único esteróide produzido pelo folículo pré-ovulatório F1. As principais variações na secreção hormonal que ocorre durante um ciclo circadiano até a ovulação estão representadas na [Figura 7](#).





**Figura 7** - Variação na secreção de esteróides (progesterona, estradiol-17 $\beta$  e testosterona) e LH durante o ciclo circadiano ovulatório da galinha doméstica (adaptado de Bahr & Johnson, 1991).  
Nota-se os picos pré-ovulatórios de LH e progesterona.

Nas fêmeas, esta produção de esteróides resulta na transformação de uma ave jovem e imatura sexualmente em uma reprodutora. Em particular, observa-se:

- Oviduto se desenvolve e aumenta de tamanho para iniciar a secretar albumina (clara do ovo).
- Fígado torna-se um órgão chave para a produção dos ovos via a metabolização de lipídeos e começa a produzir uma classe especial de lipídeos destinados a formar a gema do ovo.
- Os ossos longos tornam-se envolvidos com o metabolismo do cálcio para a produção da casca do ovo. A mobilização e armazenamento de cálcio está sob a influência direta de estrógenos.
- Várias modificações são facilmente percebidas na aparência das aves.
- A crista se desenvolve e torna-se avermelhada.
- As aves podem perder algumas penas primárias e desenvolver um empenamento “pré-nupcial”.
- O espaço entre os ossos pélvicos alarga-se para dar passagem ao ovo.

Normalmente, entre 10 e 11 dias após estes sinais visíveis da chegada da puberdade, o primeiro ovo é posto pela jovem galinha. Existe uma grande variabilidade nestas características tanto entre indivíduos quanto entre diferentes linhagens genéticas. O controle da reprodução ocorre em três níveis: hipotálamo, pituitária anterior e ovário. Qualquer alteração deste status quo hormonal via mudanças no manejo alimentar ou no meio ambiente, afetará o modo de operação de todo o sistema reprodutivo.

A ovulação de um folículo maduro é governada pelos controles independentes do ciclo circadiano

(repetições regulares de certos fenômenos em ciclos de aproximadamente 24 horas) e pela maturação folicular. A cada dia, a secreção de LH é restrita a um período específico de aproximadamente seis a oito horas de duração chamado de período aberto. Variações na duração deste período entre aves de diferentes idades ou genótipos não são conhecidas. Para a galinha doméstica, o anoitecer é o sinal que permite ao hipotálamo ajustar seu ritmo circadiano. Isto ajusta também o período aberto, especificando quando a ovulação será possível. Se a secreção de progesterona durante o período aberto for suficiente, uma onda secretória de LH será liberada e a ovulação ocorrerá. Este sistema tem sido testado experimentalmente através da indução artificial da ovulação via injeções de progesterona. Se o folículo adquire a capacidade de secretar progesterona fora do período aberto, ele tem que esperar no ovário até que o próximo período comece, criando assim um dia de pausa ovulatória.

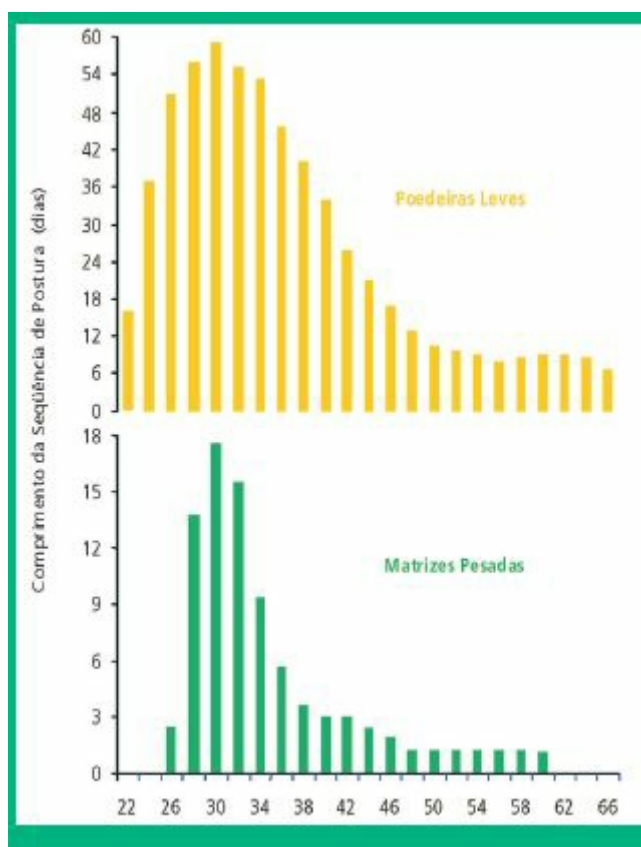
## Seqüência de postura

As galinhas domésticas põem ovos em seqüência (um grupo de ovos postos em dias seguidos), há aproximadamente cada 24 a 26 horas. Isto resulta em ovos sendo postos um pouco mais tarde a cada dia de uma determinada seqüência. Os ovos que compõe uma seqüência são postos em dias consecutivos e estão limitados a um período de aproximadamente 8 a 10 horas do dia que é semelhante ao período aberto de secreção de LH. As seqüências são separadas por um dia de pausa de postura com duração de 40 a 44 horas ou até um pouco mais. Através do monitoramento do comprimento das seqüências de postura muito se pode aprender sobre a dinâmica da taxa de maturação folicular a qual é considerada como a base primária da taxa de produção de ovos pelas aves. Aquelas fêmeas com taxas de maturação folicular mais rápida (24 horas ou menos), sempre terão um folículo maduro produzindo progesterona ao início do período aberto de secreção de LH. Teoricamente, tais aves irão por um ovo por dia sem a necessidade de um dia de pausa para reprogramar o processo. Seqüências bastante longas são comuns em aves Leghorn (poedeiras leves de ovos comerciais) as quais têm uma taxa de maturação folicular curta quando comparadas com fêmeas de linhagens de matrizes pesadas para a produção de frangos de corte. Já as fêmeas que apresentarem uma taxa de maturação folicular mais longa (26 a 28 horas) irão por cada ovo de uma seqüência um pouco mais tarde em dias sucessivos. Na [Tabela 4](#) é apresentado um exemplo de como os ovos são postos em seqüências de diferentes comprimentos (número de ovos).

**Tabela 4** - Exemplo hipotético de hora da postura e tempo estimado para maturação folicular em galinhas com diferentes comprimentos de seqüência de postura e com as luzes sendo acesas às 06:00h.

Comprimento da Seqüência	____ Hora da postura em dias sucessivos ____								Duração Maturação Folicular
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	
1 ovo	08:30		08:30		08:30		08:30		>32 h
2 ovos	07:00	14:00		07:00	14:00		07:00	14:00	29 h
3 ovos	07:00	10:30	14:00		07:00	10:30	14:00		27,5 h
4 ovos	07:00	09:00	11:00	13:00		07:00	09:00	13:00	26 h
5 ovos	07:00	08:30	10:00	11:30	13:30		07:00	08:30	25,5 h
6 ovos	07:00	08:00	09:30	11:00	12:30	14:00		07:00	25 h
7 ovos	07:00	07:00	07:00	07:00	07:00	07:00	07:00		<24 h

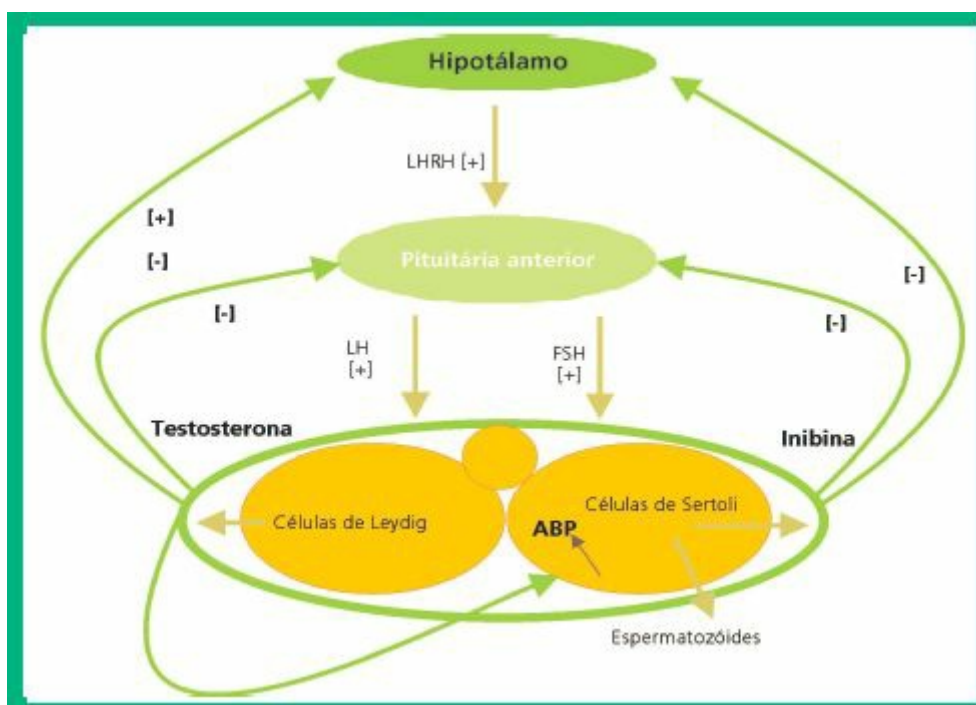
O tempo de maturação folicular aumenta a medida que a ave envelhece, de modo que as seqüências de postura vão se tornando mais curtas com a idade. As seqüências mais longas ocorrem ao redor do pico de produção de ovos (30 a 35 semanas de vida). Todas as aves, caracteristicamente, apresentam uma seqüência longa, Em matrizes pesadas esta seqüência tem um comprimento de aproximadamente 20 ovos. Um perfil típico de tamanhos de seqüências de postura ao longo da vida de um lote de matrizes pesadas é mostrado na [Figura 8](#). Outros efeitos do envelhecimento claramente observado no sistema reprodutivo das aves são menores números de folículos grandes e uma reduzida resposta a sinais endócrinos emitidos pelos hormônios reprodutivos.



**Figura 8** - Variação típica de tamanho de seqüência de postura ao longo da vida produtiva de um lote de poedeiras leves de ovos comerciais e de um lote de matrizes pesadas em restrição alimentar.

## Macho

Nos machos das espécies aviárias, assim como nos mamíferos, os testículos têm a função dupla de produzir espermatozoides (espermatogênese) e produzir e secretar hormônios esteróides ([Figura 9](#)). Os hormônios reprodutivos produzidos pelos testículos são principalmente andrógenos, sendo a testosterona o mais importante. As principais células produtoras de esteróides nos testículos são as células de Leydig (via estímulo endócrino do LH da pituitária anterior), embora as células de Sertoli também possam produzir certa quantidade. As células de Sertoli estão sobre o controle do FSH e dos andrógenos produzidos pelas células de Leydig. Estes dois hormônios trabalham em sinergia via células de Sertoli para estimular a espermatogênese e o desenvolvimento das células germinais. As interações célula a célula, ambos dentro e entre os três compartimentos dos testículos (túbulos seminíferos, células de Leydig e vasos de irrigação sangüínea) são extremamente importantes no processo de espermatogênese.



**Figura 9** - Diagrama da regulação da função testicular pelo hipotálamo (secreção de LHRH) e pituitária anterior (secreção de LH e FSH). O LH estimula a produção de testosterona pelas células de Leydig (ou intersticiais) dos testículos. O FSH e a testosterona estimulam a espermatogênese via células de Sertoli. A testosterona entra nas células de Sertoli, combina-se com a proteína ligadora de andrógenos (ABP, Androgen Binding Protein) a qual é FSH-dependente, e assegura uma concentração local de andrógenos próximo dos espermatócitos para afetar sua divisão ou maturação meiótica. A testosterona, uma vez dentro das células de Sertoli pode, sob a influência do FSH, ser convertida a estrógenos (E). O hormônio inibina é produzido pelas células de Sertoli e causa uma retroalimentação negativa na produção e secreção de LHRH e/ou FSH. Os sinais [+] e [-] indicam efeitos de retroalimentação hormonal positiva e/ou negativa na pituitária e hipotálamo.

Os hormônios esteróides produzidos pelos testículos possuem papéis secundários muito importantes na regulação do comportamento e desenvolvimento das aves além de controlarem a secreção de gonadotropinas pela pituitária anterior. Muitas das características secundárias que diferenciam machos e fêmeas (tamanho de crista, cor da plumagem, estrutura das penas, timbre da expressão vocal, temperamento e comportamento). Os andrógenos, por exemplo, induzem o crescimento de crista em ambos machos e fêmeas. Uma secreção aumentada de testosterona a qual coincide com a maturidade sexual no macho é associada com as expressões vocais típicas e comportamento agressivo expressados pelas aves quando encontram rivais em seu território. Este mesmo andrógeno é o responsável pelo comportamento dos machos direcionados às fêmeas no início do comportamento de corte, pelo comportamento de cópula e pela libido dos machos.

**Semiologia e avaliação clínica**

Quando uma ave adulta é acometida por uma doença, independente de haver injúria direta no trato reprodutor, ela poderá apresentar uma redução do seu desempenho com reflexos sobre o índice de produção, qualidade dos ovos, eclosão e qualidade da progênie. São conhecidos inúmeros fatores que induzem o comprometimento da produção, de natureza metabólica, infecciosa, nutricional e tóxica e ainda erros de manejo, problemas com instalações e condições climáticas adversas.

Portanto, para se chegar a um diagnóstico de uma doença infecto- contagiosa no trato reprodutivo, é imprescindível que se agregue o máximo de dados ou informações através da anamnese, análise de histórico retroativo e atualizado e avaliação clínica.

## Anamnese

É importante obter o máximo de informações relativo às fêmeas, por exemplo, relacionadas com os aspectos descritos a seguir.

### Galinhas improdutivas

As galinhas improdutivas podem ser de três categorias: falsa poedeira, galinha “corrida” ou “apanhadeira” e galinha choca.

- **Falsa poedeira** é uma galinha que frequenta o ninho, mas não bota ovos, que se comporta como se estivesse com pseudociese, possui pernas bem pigmentadas de amarelo, cristas e barbelas desenvolvidas e plumagem de fêmea. As galinhas falsas poedeiras apresentam ovários e ovidutos infantis porque o sistema reprodutor atrofiou no período da recria, devido à infecções por vírus que possuem tropismo pelas células epiteliais do estroma ovariano e do oviduto, por exemplo, da bronquite infecciosa das galinhas e da síndrome da queda de postura.
- **Galinha choca** é aquela que fica no ninho após paralisação temporária da produção de ovos fisiológica e hormonalmente modulada, com o intuito de incubar ovos. Este tipo de ave é diferente da falsa poedeira porque, além de permanecer por um período relativamente longo no ninho, não tem a aparência de fêmea intersexo ou de falsa poedeira e, quando estimulada, eriça as penas.
- **Galinha “corrida” ou “apanhadeira”** é uma denominação popular de campo que é dada às fêmeas improdutivas que são rejeitadas pelas aves normais e saudáveis porque, de uma certa forma, apresentam doenças ou seqüelas irreversíveis causadas por enfermidades infecciosas, metabólicas ou tóxicas. Este tipo de ave apresenta crista e barbela pouco desenvolvidas, pálidas ou desidratadas, lesões localizadas principalmente na cabeça e peso corporal abaixo do padrão da linhagem. De modo geral, as galinhas corridas ficam sob os ninhos ou sob as calhas ou empoleiradas para escapar das agressões físicas feitas pelas galinhas saudáveis.

### Quedas de produção

Análise do tipo de queda de produção. É importante pesquisar, dentro do mesmo sistema de produção, se existem lotes que, além da queda de produção, possam estar apresentando problemas de falta de pico de produção ou produções abaixo do satisfatório, sem nunca atingir os alvos estimados ou passar do padrão da linhagem ou com problemas de retardo no início de produção. A obtenção destes dados permitirá direcionar a investigação clínica para a causa primária do problema. Por exemplo:

- Problemas ocorrendo simultaneamente em diferentes idades levam à suspeita de falha nutricional, toxemias, falhas de manejo ou micoplasmose, em particular, *Mycoplasma gallisepticum* ou *Mycoplasma synoviae* de transmissão horizontal.

- Falta de pico de produção - bronquite infecciosa das galinhas na recria, falhas no manejo da recria, síndrome da queda da postura (EDS-76), manejo na pré-postura, fotoperíodo, entre outros, causam esse tipo de problema.
- Níveis variados de queda de produção em relação às idades dos lotes pode estar relacionados com falhas de vacinação ou imunidade marginal frente ao desafio de campo, por exemplo, vírus da bronquite infecciosa, vírus da doença de Newcastle e Metapneumovírus associado com outros patógenos ou outros fatores.
- Lotes com queda abrupta da produção de ovos sucedido de retorno para níveis normais após uma a duas semanas são sugestivos de intoxicações, endotoxemias, septicemias bacterianas, encefalomielite aviária em aves adultas sem imunidade, erros isolados na produção de ração, falta de água, etc.
- Produções sempre baixas com declínio lento ou gradual e sem retorno sugerem uma grande probabilidade de estar ocorrendo uma infecção crônica com micoplasmas patogênicos ou com vírus oncogênicos, por exemplo, da leucose linfóide/mielóide.

A produtividade de um lote pode ser medida levando-se em consideração a média da produção diária ou acumulada ou de ovo por ave viável ou em produção no dia (ovo por ave ao dia) ou do ovo produzido em relação ao número de pintainhas alojadas (ovo por ave alojada). A análise destes índices pode dar evidência do curso e da natureza de uma enfermidade ou de fatores exógenos que eventualmente possam estar se associando e causando perdas de produtividade como, também, permite inferir as vantagens ou benefícios obtidos pela adoção de medidas profiláticas ou de estratégias diferentes de manejo ou de nutrição.

- Redução da produção diária e acumulada do ovo por ave ao dia sem o comprometimento severo de ovo por ave alojada é uma característica mais encontrada em doenças que causam comprometimento de caráter não letal e agudo no ovário, causadas por febre ou prostração (septicemias bacterianas), por calor, por intoxicações ou em caso de infecções crônicas complicadas (micoplas- mose) de doenças metabólicas em que são observados aumentos significativos na mortalidade.
- Verminoses, enterites por espiroquetas *Brachyspira hyodysenteriae*, estresse por calor ou por frio e dietas nutricionalmente pobres são fatores que não causam aumento da mortalidade, mas que comprometem a produção acumulada ovo por ave ao dia e ovopor ave alojada. Em função desta característica geralmente só são percebidas após análises de um longo período de produção ou quando levamos em consideração a conversão alimentar.
- A redução só dos índices acumulados de ovo por ave alojada após um longo período de produção é uma característica mais freqüentemente observada em doenças crônicas relacionadas com infecções septicêmicas de evolução lenta causando aumento de mortalidade no período de produção e lesões em órgãos ou tecidos não relacionados com o sistema reprodutor (pulorose, tifo, doença de Marek na forma neoplásica, leucose linfóide, cólera, coriza infecciosa, síndrome do fígado e baço grande).
- Redução da produção diária acumulada de ovo por ave ao dia e ovo por ave alojada é uma característica de enfermidades que acometem principalmente o sistema repro- dutor e causam mortalidade devido à infecção ou competição secundária, tais como bronquite infecciosa das galinhas, síndrome da queda de postura, doença de Newcastle e influenza aviária. É importante lembrar que lotes de aves mal manejadas durante o período de recria e que passaram por erros no arraçamento durante o período de produção e que apresentam má

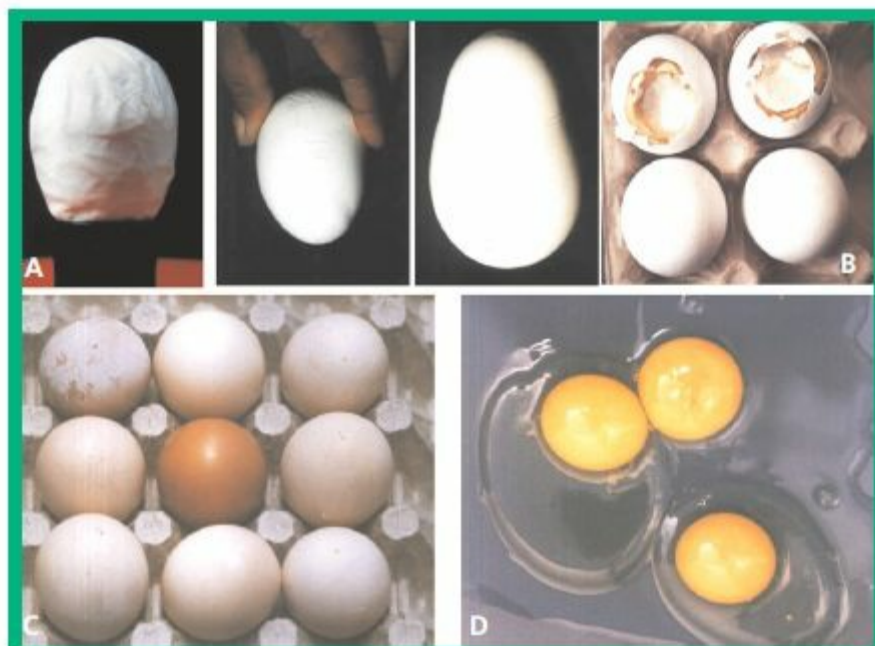
conformação ou peso corporal anormal, também podem apresentar este tipo de problema, à semelhança daquelas que apresentam infecções associadas ou complicadas, em particular micoplasmose.

As perdas de produção também podem estar relacionadas com perda da qualidade do ovo, por exemplo, aumento de ovos sem casca ou com alterações da casca ou do tamanho do ovo, de queda de eclosão ou de perda da qualidade das pintainhas. De um modo geral, a falta de produção está direta e positivamente correlacionada com alterações presentes no ovário, enquanto que o comprometimento da qualidade do ovo correlaciona-se com afecções no oviduto. No entanto, cabe lembrar que a falta de água e nutrição marginal durante a fase de produção podem modificar simultaneamente os dois parâmetros. As enfermidades septicemias que comprometem o ovário de forma aguda ou nas aves com muda forçada, o oviduto pode-se envolver e se desenvolver posteriormente, mas quando o oviduto é lesado após a queda de produção, observamos perda da qualidade do ovo.

### Qualidade do ovo

Um grande número de doenças pode comprometer a qualidade do ovo isoladamente ou associado com perda ou queda de produção. A qualidade do ovo pode estar alterada em várias características (**Figura 10**) tais como:

- Tamanho ou peso do ovo.
- Qualidade da casca.
- Qualidade da clara ou albumina.
- Qualidade e peso da gema.
- Contaminação por microorganismos.



**Figura 10** - Alterações na casca do ovo. **A** = deformações no ovo; **B** = ovos contaminados, câmara de ar com fungos; **C** = ovos com alteração da cor do ovo e da deposição da cutícula (seta); **D** = ovos com albumina (clara) aquosa (seta).



Informações relativas ao tamanho ou ao peso do ovo podem ser obtidas por meio da colheita de dados após a classificação dos ovos. É importante efetuar análise de correlação da quantidade de ovos do tipo “jumbo”, pequenos, (industriais ou não incubáveis) e de duas gemas, com a idade das aves. Alterações relativas à qualidade de casca podem ser inferidas por meio da contagem de ovos trincados, ovos sem casca, ovos deformados ou da avaliação da qualidade externa da casca, por exemplo, deposição de concreções de cálcio, textura, mucina e da densidade de ovos frescos. De modo geral, em galinhas poedeiras, não se efetua avaliação da qualidade de albumina e da gema. Normalmente, questiona-se a qualidade da gema e da clara em ovos comerciais, somente em casos excepcionais de reclamação do consumidor ou no caso de reprodutoras, quando se tem dados de “quebra” de ovos não eclodidos. Portanto, na falta destas informações, sempre é conveniente efetuar análise clínica e exames macroscópicos qualitativos ou quantitativos, pelo menos, 100 ovos não selecionados, coletados no período da manhã (primeira colheita) e no período da tarde. A qualidade microbiológica do ovo comercial e do incubável pode estar comprometida devido aos seguintes fatores:

- Ovo sujo favorecendo aumento da contaminação microbiana.
- Qualidade de casca (ovo poroso ou de casca fina) favorecendo aumento da contaminação microbiana.
- Embalagens sujas são de risco para aumento da contaminação microbiana.
- Aumento de umidade é fator predisponente para ocorrência de mofo ou contaminação fúngica.
- Patógenos de transmissão vertical, tais como salmonelas, micoplasmas, adenovírus (Grupo I ou Aviadenovírus, Grupo II ou Marboadenovírus, Grupo III ou Siadenovírus), vírus da encefalomielite aviária, *Reovírus*, leucose linfóide e outros.

## Eclosão

Tratando-se de reprodutoras, é importante considerar que existem enfermidades que acometem o trato reprodutor e causam, além da queda de produção ou comprometimento da qualidade do ovo, queda de eclosão ou perda da qualidade da progênie (**Tabela 5**). Também existem doenças que não comprometem a produção, mas que são causas de perdas em eclosão ou da qualidade do pinto. Portanto, para realização de um diagnóstico é importante argüir sobre:

- Tempo de eclosão.
- Perdas em eclosão (porcentual).
- Tipo de perdas: dados de análise de mortalidade embrionária.
- Índice e tipo de aproveitamento de ovos.

**Tabela 5** - Enfermidades que causam queda de produção de ovos e que podem comprometer a qualidade do ovo, a taxa de eclosão e a qualidade da progênie.

Enfermidades que causam queda de produção	Efeito no ovo			Queda de eclosão	Problemas na progênie
	Casca	Cor	Gema		

			e/ou albumina		
<b>VIRAIS</b> Laringotraqueíte Doença de Marek Bouba Aviária Pneumovirose	NR	NR	NR	NR	NR
Encefalomielite Aviária	NR	NR	NR	Variável	Encefalomielite
Aviadenovírus	NR	NR	↓Gema	Variável	Hepatite por corpúsculos de inclusão intranuclear. Má absorção intestinal.
<i>Reovírus</i>	NR	NR	NR	Variável	Debilidade, hepatite, artrite, má absorção
Leucose Linfóide Leucose Mielóide	Fina	NR	↓Gema	Sim	Imunodeficiência, imuno-tolerância e debilidade geral
Síndrome da queda de postura (EDS-76)	Sem casca, casca fina e/ou deformada	Perda da cor ↓cutícula (?)	Albumina	Variável	Imunotolerância, diarreia (?), contaminação microbiana
Bronquite infecciosa das galinhas	Fina e/ou deformada	Perda da cor cutícula (?)	Albumina	Variável ↑contaminação	Contaminação microbiana Transmissão vertical (?)
Doença de Newcastle	Fina e/ou deformada	Perda da cor ↓cutícula (?)	Variável com sangue	Variável	Contaminação microbiana
<b>BACTERIANAS</b>					

Pulorose Tifo aviário	NR	NR	NR	↓fertilidade ↓eclosão	Imunotolerância, septicemia e/ou refugagem e/ou desuniformidade e/ou artrite
<i>Salmonella</i> <i>Enteritidis</i> S. Thyphimurium	NR	NR	NR	Variável	Imunotolerância, septicemia e/ou refugagem e/ou desuniformidade e/ou artrite
M. gallisepticum (MG) M. meleagridis (só perus)	Variável	NR	NR	Sim ↓fertilidade	Imunotolerância, ↑ovo bicado morto, doença respiratória
<i>M. synoviae</i> (MS)	Variável	NR	NR	Variável	Imunotolerância, ↑ovo bicado morto (variável), sinusite, artrite / tenosinovite
Colibacilose secundária às outras infecções virais (bronquite infecciosa das galinhas e Metapneumovírus) e bacterianas (MG e MS)	Sim	Variável	↓Gema	Sim	Contaminação bacteriana

## NUTRICIONAIS

↓metionina e/ou lisina	Ovo pequeno	NR	↓gema	Variável	Debilidade, ↓crescimento
↓ácido linoléico e aracônico	Ovo pequeno	NR	↓albumina	NR	Pequenos e fraqueza
↓Ca/P, cálcio, Vit. D	Casca fina e porosa	NR	NR	Sim	Dificuldade de locomoção,

					osteoporose
Cloreto de sódio	NR	NR	NR	NR	Debilidade
<b>INTOXICAÇÕES</b>					
Policloretos bifenílicos	Fina	NR	NR	NR	NR
Sulfonamidas, nicarbazina	Fina	Perda de pigmentação	NR	NR	NR
Aflatoxina, Toxina T2	Fina, ovo pequeno	Perda de pigmentação	↓gema	Sim	Debilidade
Ocratoxina, ácido ciclopiazônico	Fina, ovo pequeno, sem casca	Mancha amarela, perda de pigmentação	↓albumina	Sim	Desidratação, nefrose, gota úrica.
Metais pesados	Fina	Sem cor (vanádio)	Sim	Sim	Debilidade
NR = não relatado.					

Redução da fertilidade é uma forte evidência de existência de problema com machos.

### **Análise clínica**

As informações obtidas pela anamnese e pelo histórico do lote devem ser complementadas com a morbidade e características dos sintomas obtidas pela análise clínica das aves e dos ovos produzidos e, em caso de reprodutoras, mortalidade embrionária e qualidade do pinto.

### **Avaliação clínica**

A avaliação clínica ou do exterior da ave e as suas modificações podem ter correlação com problemas reprodutivos permanentes ou intermitentes. Deve-se considerar seguintes parâmetros:

#### Sintomas gerais

Os seguintes sintomas também são encontrados em várias enfermidades que acometem tanto

machos quanto fêmeas e não estão obrigatoriamente restritas aos distúrbios do trato reprodutor:

- Prostração (febre), ou depressão, ou apatia, ou sonolência podem ter relação com quadros sistêmicos ou septicêmicos.
- Queda de consumo ou inapetência devem ser diferenciadas de septicemias com restrição de consumo devido à rejeição da ração por algum fator tóxico.
- Cianose de crista pode ter relação com septicemias ou intoxicações, assim como com adipsia ou falta de água, frio ou calor demasiado ou distúrbios metabólicos ou cárdio-respiratórios ou renais.
- Diarréias, tipo de fezes ou diureses, com ou sem região cloacal empastada, podem ter relação com gastroenterites, problemas renais ou perdas de íons ou ânions contribuindo com problemas de casca ou ainda podem estar relacionadas com viremias (bronquite infecciosa das galinhas, síndrome da queda de postura).

### Sinais e sintomas específicos

São aqueles que têm correlação direta com algum tipo de distúrbio reprodutivo.

- Conformação ou tamanho de carcaça em conformidade com linhagem genética. Aves com carcaça pouco desenvolvida geralmente tendem a apresentar mortalidade elevada por prolapso, produção de ovos pequenos, fadiga de poedeiras ou osteomalácia, produzir ovos com má qualidade de casca, pinto de má qualidade e apresentar distúrbios metabólicos não específicos. Lotes com predomínio de aves com má conformação de carcaças, geralmente apresentam redução do índice acumulado de produtividade relacionada com ovo por ave alojada.
- O peso corporal deve ser relacionado com o tipo de carcaça e estar correlacionado com boa reserva de gordura e constituição esquelética, suficientes para suportar o pico de produção, a persistência da produção e resultar em boa massa de ovo (tamanho e peso).
- Tempo de maturidade sexual é um fator que modula ou estabelece início de produção. O tempo de fechamento de um ciclo de maturação folicular e mudas de penas (fisiológicas ou patológicas) são parâmetros muito importantes para prever o potencial de produção ou a taxa de perdas. Cristas ou barbelas murchas e secas ou desidratadas e cristas caídas podem ter relação com processos septicêmicos ou, simplesmente, com atrofia ou hipotrofia do sistema reprodutor refletindo sobre a produtividade do lote.
- A presença de pigmentação amarela intensa nos bicos e nas pernas denotam ave improdutiva ou com baixa produtividade de ovos em relação à sua idade.
- Distensão da pelve ou dos ossos pélvicos. Aves produtivas apresentam distensão do osso pélvico de aproximadamente 2 a 3cm de acordo com a idade da ave e linhagem. O grau de distensão dos ossos pélvicos tende a ser menor em aves em início de produção, e quando acentuadamente menor, pode ser causa de retenção de ovos completos (principalmente dos maiores) no oviduto ou de prolapsos e pode ser decorrente de desequilíbrio entre tipo de carcaça e maturação dos folículos ovarianos (programa de luz).
- A cloaca de aves em franca produção, apresenta coloração rósea ou esbranquiçada, boa umidade e esfíncter relaxado. Galinhas improdutivas apresentam coloração tendendo para o amarelo, mucosa seca e abertura contraída ou enrugada. Durante o exame da cloaca, deve-se pesquisar se há aderência de material branco (uratos, cálcio) ou mesmo de fezes nas penas

pericloacais que pode ter sido causada por distúrbios da motilidade uterina ou por uma afecção renal e devem ser diferenciadas de gastroenterites. A ruptura dos músculos da cloaca com extrusão da vagina denotam que houve prolapso útero-vaginal e deve ser diferenciada de prolapso retal devido às enterites.

- A perda das penas principais da asa e das penas de cobertura da região dorsal denota boa produtividade e mobilização de reservas para atender a produção de ovos. O desequilíbrio entre a perda e a renovação das penas pode ter relação com redução gradativa da produção, falta de persistência da produção e redução da massa do ovo e pode ser decorrente de problemas de dieta (formulação da ração) ou erros de arraçamento, em reprodutoras pesadas. As doenças que causam atrofia do ovário e do oviduto induzem muda das penas ou a renovação da plumagem em períodos ou idades não esperadas. Falta de água e de ração também precipitam a ocorrência de muda das penas e diminuição da produção.
- As aves sem depósito de gordura, geralmente, tendem a produzir ovos de tamanho menor ou apresentar discreta queda de produção, enquanto aquelas com excesso de gordura abdominal possuem maior predisposição para aumento da mortalidade devido às ovoperitonites ou retenção de ovos no oviduto. Pelo exame de exterior, galinhas com excesso de gordura abdominal apresentam abaulamento ou relaxamento da musculatura abdominal. Às vezes assumem postura ereta devido ao excesso de tecido adiposo e ovoperitonite. Este quadro deve ser diferenciado de ovoperitonites infecciosas (pulorose e tifo aviário) e da hérnia umbilical que se deve a falta de fechamento do umbigo ou da musculatura abdominal.

## **Análise da qualidade de ovos**

O ovo não faz parte do trato reprodutivo, mas um distúrbio fisiológico ou uma lesão no tecido reprodutor vai resultar em alteração na sua formação, em relação ao seu tamanho, peso, casca, albumina e gema. Uma boa avaliação clínica deve incluir observações detalhadas sobre:

### Tamanho dos ovos

o tamanho do ovo pode ser definido por idade, precocidade de início da produção, manejo da alimentação, níveis nutricionais, consumo de água e de ração e temperatura ambiente. Todos estes fatores podem modificar a massa ou o volume de clara (albumina) ou da gema. Modificações no volume da gema têm relação com afecções ovarianas e hepáticas, enquanto o volume e a qualidade da clara são influenciados, principalmente, pela atividade do magno. O peso do ovo quase sempre tem correlação com o seu tamanho, exceto em caso de perda de água por processo evaporativo causada por armazenamento por tempo prolongado em condições inadequadas de umidade ou de temperatura. Um ovo pode perder até um grama por semana quando armazenado a mais de 21°C e a menos de 50% de umidade relativa. Os ovos de casca fina ou porosa perdem água com maior facilidade e em tempo mais curto.

### Qualidade de casca

Os defeitos da casca (**Figura 10**) podem ser produzidos por inúmeros fatores ou causas que podem interferir nos processos fisiológicos ou induzir alterações durante o processo da sua formação no oviduto. Como sabe-se, a formação da casca é iniciada no istmo com a formação da membrana testácea (também chamada de membrana interna e externa de casca) e o cone ou núcleo mamilar basicamente composto de matéria orgânica. Após aproximadamente 90 minutos de

permanência no istmo, o ovo chega ao útero e, em um período de 18 a 20 horas é formada a camada em paliçada ou esponjosa, através de um processo de secreção pelas células epiteliais, de carbonato de cálcio que se depositará sobre uma matriz orgânica. Durante os últimos 30 minutos que precedem a oviposição, é depositada uma cutícula e o pigmento da casca. Portanto de acordo com a localização de lesões em diferentes partes do oviduto ou do útero pode-se observar diferentes tipos de alteração da estrutura da casca.

**Espessura** - a espessura normal é de aproximadamente 330mm. O comprometimento da espessura da casca tem relação com aumento ou produção de ovos com película fina, de casca fina ou trincados e com redução da densidade específica dos ovos recém coletados. Este tipo de problema ocorre devido à falha de cristalização da casca, causada por algum problema ocorrido durante a deposição da matriz orgânica (proteína e mucopolissacarídeos) ou carbonato de cálcio na camada de cristalização. A matriz orgânica é secretada pelas células epiteliais não ciliadas do útero, enquanto que o carbonato de cálcio é liberado pelas células ciliadas do útero, cujo processo depende da função das glândulas tubulares. As células ciliadas do útero efetuam a translocação do cálcio do sangue para a luz uterina, via CaBP (Calcium Binding Protein) que é uma proteína transportadora de cálcio. A produção do CaBP ocorre nas células epiteliais e poligonais do útero e é dependente de vitamina D<sub>3</sub>. As glândulas tubulares do istmo e do útero possuem células poligonais que secretam água, eletrólitos, glicose, minerais e bicarbonato de sódio. São das moléculas de bicarbonato de sódio que são liberados os íons carbonatos (CO<sup>-</sup>) e que se ligarão nas moléculas livres de cálcio (Ca<sup>++</sup>) formando o carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>). A liberação do íons CO<sub>3</sub> depende da ação da anidrase carbônica que é secretada pela célula epitelial do útero.

O comprometimento da qualidade ou da formação da casca pode ser causado por inúmeros fatores:

**Células ciliadas do útero** - efetua a translocação do cálcio do sangue para a luz uterina, via a CaBP (calcium binding protein) que é uma proteína transportadora de cálcio. A produção de CaBP ocorre nas células epiteliais e poligonais do útero, e é dependente de vitamina D<sub>3</sub>.

**Glândulas tubulares** - as células poligonais do magno secretam água, eletrólitos, glicose, minerais e bicarbonato de sódio. É da molécula de bicarbonato de sódio que são liberados os íons carbonato (CO<sup>-</sup>), que ligarão moléculas livres de cálcio (Ca<sup>++</sup>) formando o carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>). A liberação do íons CO<sub>3</sub> - depende da ação da anidrase carbônica, que é secretada pela célula epitelial do útero.

O comprometimento da espessura da casca pode ser causado por inúmeros fatores:

**Ovos de casca fina ou porosos** – a produção de ovos com casca fina ou porosa pode ter relação com:

- Genética.
- Idade, aumento do tamanho do ovo (pontos translúcidos aparecem na casca).
- Temperatura ambiental elevada porque reduz os níveis de CO<sub>2</sub>/HCO<sub>3</sub> comprometendo o equilíbrio ácido básico.

- Água com salinidade excessiva ou água com excesso de carbonatos.
- Horário de produção.
- Perda do equilíbrio Ca:P ou perda de íons com Zn, Mn ou vitamina D3 causada por distúrbio metabólico.
- Doenças infecciosas (várias).
- Mistura de ingredientes, redução do consumo.
- Sulfas, olaquinox ou outros antimicrobianos e anticoccidianos.
- Micotoxinas.

**Textura** – os problemas de textura da casca relacionados somente com falta de brilho ou superfície áspera ou com concreções sobre a casca se deve a falha na deposição de carbonato de cálcio, principalmente sobre a camada cristalina ou à falha na deposição da cutícula. A falha na deposição ou a remoção da cutícula porque o ovo foi limpo imediatamente após a oviposição pode ser causa de aumento da evaporação do ovo e da contaminação microbiana, propiciando o aparecimento de ovos com odores estranhos ou ovos com áreas com falhas de coloração. O excesso de produção ou de deposição da cutícula pode ser causa do aparecimento de mácula branca (visível em ovos vermelhos) e considerados impróprios para incubação porque ocorre obstrução dos poros da casca e, como consequência, comprometimento da troca gasosa. Ovos com este tipo de defeito geralmente ocorrem devido às salpingopatias causadas por:

- Estresse comprometendo a formação da cutícula externa.
- Fator genético.
- Patógenos que infectam as células do oviduto, como visto na doença de Newcastle, paramixovirose, bronquite infecciosa das galinhas, síndrome da queda de postura e micoplasmose.
- Antibióticos, sulfas, olaquinox, arsenicais, metais pesados.
- Perda do tônus muscular em ave velha ou com oviposição precoce.
- Excesso de cálcio.

**Ovos porosos** - que não obrigatoriamente apresentam casca fina, são aqueles que apresentam pontos transparentes que são visíveis à ovoscopia, principalmente após o armazenamento e que favorecem o aumento de fissuras internas e de contaminações. Este tipo de problema pode ocorrer devido ao comprometimento do istmo porque:

- Há comprometimento da composição ou da estrutura do cone mamilar ocasionada pela falta de nutrientes essenciais para a formação da matriz orgânica.
- Observam-se falhas na deposição da matriz orgânica ou da formação do cone mamilar. Acredita-se que a passagem de água distende a membrana da casca e aumenta a distância entre os cones ou brotos da mamila, ocorrendo assim um defeito na estratificação da camada de cristalização, dando origem a poros que têm um papel importante na troca de O<sub>2</sub> e de CO<sub>2</sub> e ainda, na manutenção da umidade. Uma falha na formação dos poros (poros muito amplos), é causa de perda acelerada da qualidade dos ovos por desidratação ou por contaminação. Poros aumentados podem ser observados na deficiência de iodo.
- Pode haver uma falha na formação da membrana interna e externa da casca que é a base para a formação do cone mamilar. A membrana de casca ainda atua como barreira de proteção para a



penetração de bactérias (vide contaminação de ovos). Ela é composta de colágeno (10%), fibras protéicas (70%) e glicoproteínas e permite a passagem de gases, água e cristalóides. Em aves mais velhas, esta membrana tende a apresentar-se mais fina.

**Cor da casca** - o carregamento de pigmentos estranhos ligados com a proteína ou com os mucopolissacarídeos da matriz orgânica pode ser a causa do aparecimento de cores estranhas. O pigmento que confere cor vermelha à casca pode deixar de ser secretado pelas células uterinas e dar origem aos ovos descoloridos em poedeiras leves ou reprodutoras leves e pesadas que põem ovos vermelhos. Alterações da cor da casca do ovo podem ser dos seguintes tipos e causadas por:

**a. Manchado** - genética, umidade excessiva, sujeira.

**b. Amarelo** - tetraciclina, ocratoxina.

**c. Sem cor** - genética, enfermidades (Doença de Newcastle, influenza aviária, bronquite infecciosa das galinhas, síndrome da queda de postura), sulfonamidas, nicarbazina, piperazina, temperatura elevada, produção elevada.

**Forma do ovo** - geralmente ocorre devido à distúrbio relacionado com os movimentos peristálticos do oviduto e pode estar relacionado com as seguintes alterações e causas:

**a. Deformados:** genética, doenças infecciosas (Doença de Newcastle, bronquite infecciosa das galinhas, síndrome da queda de postura). Aves mais velhas apresentam maior incidência devido à perda do tônus muscular, falta de proteína na albumina, início de produção ou após transferência de frangas para as unidades de produção.

**b. Extremidade cinturada ou estrangulada** - é causada por dano uterino instalado ao momento do início do processo de calcificação da casca ou por densidade excessiva da casca e em situação de estresse com liberação de adrenalina.

**c. Corrugado** - é descrito para deficiência de cobre e seqüelas após infecção pelo vírus da bronquite infecciosa das galinhas ou da síndrome da queda de postura.

**d. Achatado de lado** - deve-se ao aumento da pressão uterina durante o início da formação da casca.

### Anexos do ovo

O ovo é constituído basicamente de casca, clara, gema e de anexos que são as membranas interna e externa da casca, câmara de ar e chalaza (**Figura 3**). Alterações ou anormalidades nos anexos do ovo podem ter relação com:

**1.** Problemas de espessura da membrana da casca causados por afecções no istmo ou falta de nutrientes para a sua formação.

**2.** A ausência da câmara de ar ou localização anômala tem relação com erros de manipulação ou boa qualidade da casca, enquanto que o aumento da área relaciona-se com má qualidade da casca. A má qualidade da clara também pode contribuir para a redução da área da câmara de ar.

3. Uma chalaza proeminente pode estar relacionada com clara liquefeita ou com lesões no oviduto, por exemplo, àquelas causadas pelo vírus da bronquite infecciosa.

### Clara (Albumina) e gema

Deve-se sempre investigar se há ocorrência das seguintes alterações:

- a. Presença de massa de tecido ou de sangue é relacionada com ovulação ou descolamento do óvulo da teca e podem estar exacerbadas na deficiência de vitaminas A e K.
- b. Variações de cor - a coloração amarela pode variar conforme tipo de dieta, porém, máculas vermelhas ou em tom de oliva ou rosadas podem ter relação principalmente com intoxicações ou tipo de fonte protéica, por exemplo, farinha de peixe.
- c. Perda de consistência geralmente se deve a problemas de armazenamento e intoxicações, enquanto gemas caseosas, além de poderem estar relacionadas com armazenamento a temperaturas muito baixas, podem ter sido causadas por contaminações ou por distúrbios ou perda das glândulas do oviduto em decorrência de doença de Newcastle, da bronquite infecciosa das galinhas.
- d. Forma - gema achatada pode ter relação com albumina liquefeita, intoxicação ou problema de armazenamento. No entanto, clara liquefeita pode estar associada com alteração do oviduto causada por doenças infecciosas ou pela deficiência de proteína. A consistência da albumina, avaliada em unidades Haugh, deve ser de aproximadamente 70, sendo que abaixo de 50 é considerada ruim.
- e. Quantidade ou viscosidade – são causadas principalmente por dietas com concentrações não ajustadas de proteínas e de lipídeos ou por comprometimento do metabolismo hepático.

### **Análise da mortalidade embrionária e da qualidade do pinto**

A análise clínica do tempo e tipo de mortalidade e da qualidade dos pintos pode trazer subsídios valiosos para a diferenciação de causas ou fatores que podem estar incidindo diretamente sobre o aparato reprodutor daqueles de natureza nutricional,

metabólica, tóxica e decorrente de erros de incubação. É importante lembrar que o padrão de desenvolvimento embrionário, o tempo e o tipo de mortalidade, bem como as lesões presentes no embrião podem estar diretamente relacionadas com alterações da casca, da gema e da albumina e ainda, com doenças de transmissão vertical. Algumas doenças são capazes de causar sinais e sintomas típicos (vide [Tabela 6](#)).

**Tabela 6** - Fatores que causam comprometimento da produção e da eclosão e características da progênie ou mortalidade embrionária.

Fatores	Queda de produção	Queda de eclosão	Efeito sobre embrião e progênie
---------	-------------------	------------------	---------------------------------

**BACTERIANOS**

Pulorose	Sim	Sim	↑Mortalidade
Tifo	Sim	Sim	↑Mortalidade
<i>S. Enteritidis</i>	Variável	Variável	Enterite
<i>S. Thyphimurium</i>	Variável	Variável	Enterite
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	Sim	Sim	Aerossaculite
<i>Mycoplasma meleagridis</i>	Sim	Sim	Deformidade esquelética
<i>Mycoplasma iowae</i>	Variável	Sim	Variável
<i>Mycoplasma synoviae</i>	Discreta	Discreta	Variável

**VIRAL**

Encefalomielite aviária	Sim	Sim	↑Distrofia muscular e paralisia
Anemia infecciosa	Sem relato	Sem relato	Pancitopenia

**MICOTOXINAS**

Ocratoxinas	Sim	Sim	Mortalidade precoce e gota úrica (oosporeina)
Aflatoxina	Sim	Sim	Pinto pequeno e malformações

# Lesões macroemicroscópicas

## Patologias do trato reprodutor feminino (Figura 11)



**Figura 11** - Alterações no oviduto. **A** = ovo grande retido no útero (seta) devido à produção de gema volumosa; **B** = à direita, impactação de ovos no útero, istmo e magno de cor branca compatível com glândula repleta de secreção e à esquerda, oviduto com esvaziamento das glândulas, ovo retido no istmo e no útero; **C** = oviduto e ovários em atrofia. **D** = piometra e metrite.

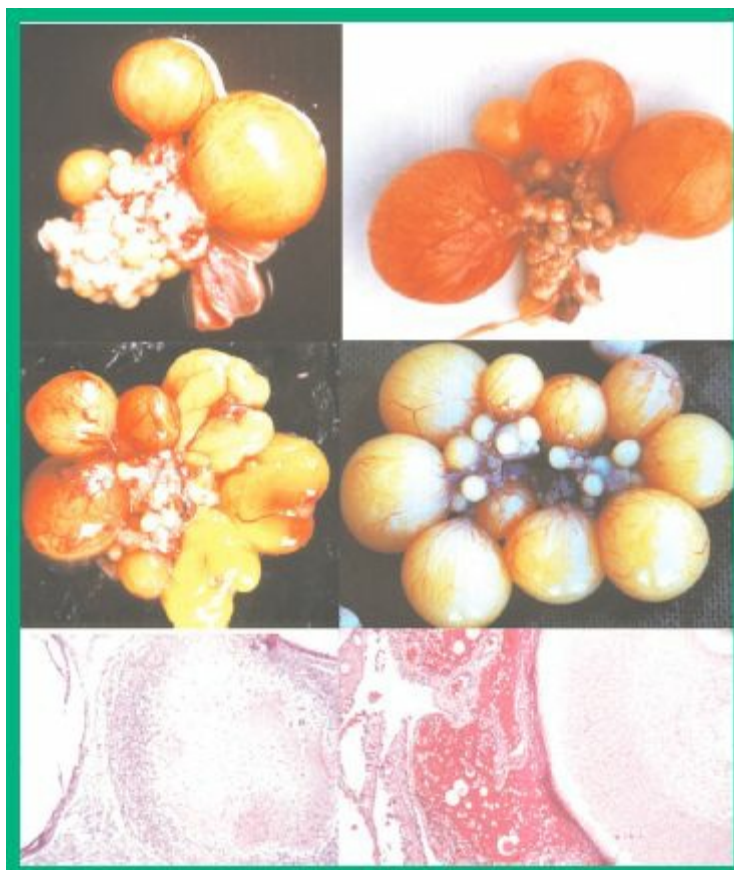
Diante de uma suspeita para enfermidade do sistema reprodutor é muito importante efetuar avaliações na reprodutora, nos ovos produzidos e também nos embriões ou na progênie. Também é importante considerar que o aparato feminino da galinha é constituído de um ovário e um único oviduto do lado esquerdo e, no lado direito, observa-se o conduto de Mueller que corresponde ao resquício primário do oviduto que não desenvolve. A presença do oviduto direito ou dos dois ovidutos pode ser considerada aberrante ou anormal. No entanto, existem casos excepcionais em que uma ave com o oviduto esquerdo lesado ou atrofiado, tardiamente, apresenta o oviduto direito funcional.

### Ovário

O exame do ovário deve ser feito levando-se em consideração os seguintes aspectos:

## Seqüência de maturação folicular

O normal é encontrar uma série de folículos imaturos ou pré-hierárquicos sucedidos por uma seqüência de seis a sete folículos hierárquicos contendo gema e apresentando tamanhos diferentes (**Figura 2 e 12**). Seqüências foliculares inferiores a cinco podem ter relação com baixa produtividade devido à nutrição marginal, intoxicações, redução do consumo, comprometimento do metabolismo hepático, manejo, enquanto seqüências superiores a oito a nove são indicativas de hiperovulação (luz, hormônios, dietas hipercalóricas ou hiperprotéicas). A hiperovulação aumenta a predisposição para ovoperitonites.



**Figura 12** - Alterações macroscópicas e microscópicas no ovário. A = ovário de galinha em início de produção com seqüência de três dos folículos hierárquicos em maturação e com um folículo pós ovulatório (seta); estroma com folículos pré-hierárquicos em maturação; B = seqüência fraca de folículos hierárquicos e folículos hierárquicos com teca hiperêmica contendo folículos pré-hierárquicos degenerados (seta) e no estroma, vários folículos pré-hierárquicos degenerados; C = folículos hierárquicos degenerados e folículo com teca apresentando vasodilatação e hemorragia focal (seta); D = ovário policístico e folículo hierárquico em degeneração (seta); E = ooforite em folículos pré-hierárquicos do estroma ovariano; F = reabsorção do vitelo por inclusão associada com atresia folicular, material corado de róseo equivalente a lipídeos em absorção.

## Anomalias de ovário

Ovário infantil, atrofia, inatividade do ovário ou aumento de folículos atrésicos podem ter relação com convalescença de doenças infecciosas ou com erros persistentes de manejo (falta de água, ração, falta de reserva, etc). Ovário atrofiado com consistência firme e coloração esbranquiçada, folículos imaturos consistentes e sem conteúdo podem estar relacionados com presença de

tumores dos seguintes tipos:

- a. Linfoma devido à doença de Marek ou leucose linfóide aviária ou ainda, tecoma e carcinoma das células da granulosa devido à leucose linfóide.
- b. Mielocitomatose devido à leucose mielóide.
- c. Adenocarcinomas, arrenoblastomas ou tumores das células da granulosa.

É indicado efetuar exame histopatológico do ovário para realizar o diagnóstico de neoplasias e a diferenciação com fatores infecciosos ou de estresses e de micotoxicoses. O ovário hipotrofiado ou atrofiado presente em aves que convalescem de processos infecciosos pode apresentar hiperplasia linfóide ou infiltração difusa de células linfóides e de granulócitos enquanto que os ovários inativos de falsas poedeiras ou de aves que passaram por muda forçada ou algum outro tipo de estresse tendem a apresentar hiperplasia focal de granulócitos imaturos. Folículos ovarianos atresicos com reabsorção do vitelo podem apresentar células inflamatórias quando ocorre um quadro infeccioso secundário.

### Cistos ovarianos

É comum encontrar, em ovários funcionalmente ativos, pequenos cistos de parede delgada e com conteúdo branco de aspecto aquoso, localizados no estroma ou na teca dos folículos ovarianos em desenvolvimento. Não se conhece a causa deste distúrbio, porém especula-se que isso tenha íntima relação com distúrbios de secreção de hormônios que modulam o desenvolvimento e a maturação dos folículos.

### Ooforite

Este termo é utilizado para denominar um processo inflamatório localizado nos folículos ovarianos, mais precisamente na camada da teca. Esta lesão deve ser diferenciada de regressão folicular fisiológica ou de bloqueio da maturação folicular devido ao comprometimento vascular ou da vascularização da teca. Deve-se considerar os seguintes aspectos:

- Folículos hiperêmicos ou congestos associados com involução ou parada da maturação folicular, às vezes com ruptura da teca e presença de vitelo na cavidade abdominal, podem ter relação com distúrbio metabólico, falta de água e outros estresses agudos.
- Ooforites geralmente têm relação com o encontro de folículos ovarianos hemorrágicos e com alteração da coloração do vitelo (verde, acinzentado, acastanhado) na fase inicial de uma infecção e, tardiamente, observa-se vários óvulos degenerados, deformados e pedunculados de aspecto cozido no ovário e/ou na cavidade peritoneal. Quadros desta natureza podem ser causados por enfermidades como a doença de Newcastle, influenza aviária, pulorose, tifo aviário, cólera aviária e, mais raramente, em infecções por *S. Enteritidis* e *S. Thyphimurium*. Os ovários apresentam infiltração de células mononucleares e de heterófilos no estroma e na camada granulosa.

Do ponto de vista microscópico, ooforites podem ser caracterizadas pelo exame de cortes histológicos do estroma e dos folículos ovarianos alterados, como um processo associado com

infiltração de células mononucleares e heterófilos e, eventualmente, bactérias. Agregados ou grumos de bactérias são comumente encontrados principalmente em condições de complicações secundárias e/ou associação de patógenos, por exemplo, *Mycoplasma sp* com *Escherichia coli*, *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*, etc.

### Folículos ovarianos

A presença de folículos hierárquicos murchos ou enrugados com teca pouco vascularizada e conteúdo amarelo ou fluidificado encontrado entre folículos normais ou já desenvolvidos (revestidos pela membrana vascularizada), pode ser indicativa de quadros toxêmicos temporais (micotoxinas, medicamentos, pesticidas) ou de endotoxemias bacterianas (botulismo, *Clostridium sp*, coriza infecciosa).

Folículos pré-hierárquicos com aparência de murchos têm relação com regressão ou atresia folicular e podem ser encontrados em situações fisiologicamente normais (atresia fisiológica) ou nos casos acima exemplificados. A atresia folicular pode ser caracterizada histologicamente como sendo de dois tipos: por invasão ou por ruptura.

- Folículos ovarianos pequenos ou imaturos geralmente sofrem atresia por invasão, ou seja, as células da camada granulosa ou da teca invadem o oócito e assim ocorre a reabsorção da ova ou do vitelo de forma fisiológica.
- Folículos ovarianos maiores ou grandes sofrem atresia por colapso e ruptura da teca e, como consequência da ruptura, ocorre o escape da gema para a cavidade abdominal ou o conteúdo do oócito é retido no estroma do ovário ou no epíplon que circunscreve a alça do duodeno e o pâncreas.

É importante ponderar que folículos atrésicos podem ser confundidos com folículos inflamados (ooforite) e que esta diferenciação só pode ser feita através do exame histológico. Muitas vezes, o vitelo não é reabsorvido totalmente e ocorre contaminação secundária, gerando peritonites sépticas, por exemplo, como aquelas descritas para infecções causadas pelo *Ornithobacterium rhinotrachealis* ou em casos severos de doença respiratória crônica, cólera aviária, estafilococose ou infecção pela *Pasteurella haemolytica*. Nestas condições o vitelo tem aspecto caseoso. Casos individuais ou isolados de peritonite com vitelo caseificado e com células inflamatórias degeneradas podem ser vistos em galinhas com septicemia ou infecção ascendente do oviduto por *Escherichia coli*.

A serosite crônica sobre o pâncreas e a alça duodenal, comumente encontrada em aves após o pico de produção e que se parece muito com traços de gordura abdominal reabsorvida, deve-se a uma reação de absorção peritoneal do vitelo expulso por folículos que regredem periodicamente durante a vida, ou sofrem atresia por mecanismo de ruptura devido à endotoxemias e estresses induzidos por falhas de manejo. Do ponto de vista microscópico, podemos observar uma reação acentuada de macrofágos, peritoneais deposição de hemossiderina e presença de vitelo na serosa e no epíplon. A serosite aguda caracterizada pela migração ativa de granulócitos e de monócitos e com formação de ninhos linfóides, às vezes associada com granulomas, pode ser vista em septicemias desencadeadas pela *Salmonella* Enteritidis.

Folículos ovarianos pequenos com vitelo muito amarelo e teca com vascularização normal, se não

correlacionados com o início da produção, podem estar relacionados com hepatopatias, falta de reservas nutricionais ou processos entéricos. Este quadro tem correlação positiva com a produção de ovos pequenos e pintos de má qualidade. Alguns agentes infecciosos, tais como os vírus da doença de Newcastle, da síndrome da queda da postura e da bronquite infecciosa das galinhas, que infectam o trato reprodutor, podem induzir este tipo de alteração ovariana.

## **Postura abdominal e Ovoperitonites**

Folículos ovarianos ou conteúdo vitelínico na cavidade abdominal refletem ocorrências de problemas no ovário ou no infundíbulo, enquanto que o refluxo de ovos com membrana testácea ou com casca, refletem problemas no oviduto, por exemplo, constrição no magno e no istmo. Como consequência da presença de ovos ou folículos ovarianos na cavidade abdominal, a ave desenvolve um quadro de peritonite ou de aderência das vísceras devido à presença do ovo atuando como um corpo estranho. Folículos ovarianos e ovos na cavidade abdominal apresentam aspecto de ovo cozido ou mumificados e o conteúdo vitelínico quando extravasado na cavidade abdominal, assume um aspecto caseoso e deve ser diferenciado de exsudato inflamatório. Estas alterações devem ser diferenciadas e relacionadas à necrópsia com os seguintes quadros:

- 1. Falsa poedeira** - ovário e ovidutos normais, porém com ovo no peritônio devido à falha do infundíbulo em coletar o oócito após ovulação. Aves com este distúrbio apresentam gordura abdominal alaranjada, gema fluida ou liquefeita no abdômen. Este tipo de quadro pode ser decorrente de infecção pelo vírus da bronquite infecciosa em aves em maturação sexual.
- 2. Postura abdominal** - deve ser diferenciada de oviduto impactado com ovos, seja por alteração da motilidade do oviduto ou da contração dos esfíncteres, útero-vaginal e cloacovaginal.
- 3. Ovo entalado** - esta anormalidade se refere à presença de um ovo muito grande ou redondo retido na vagina ou na cloaca. A presença de um ovo entalado pode causar a retenção dos ovos subsequentes, paralisia dos músculos e inflamação no oviduto. A análise criteriosa do tipo de ovo entalado permite excluir fatores infecciosos como causa etiológica.

## **Oviduto**

O oviduto pode estar encurtado, estreito ou infantil como consequência da atrofia do ovário ou devido ao distúrbio hormonal ou ocorrência de injúria local. A ocorrência de atrofia do ovário ou a presença de ovário infantil sucedendo a atrofia ou a hipotrofia de oviduto é rara, mas pode acontecer. Para realizar um exame adequado do oviduto, devemos levar em consideração a idade e a maturidade sexual das aves, ciclo de oviposição ou tempo de migração do óvulo. É importante não confundir momentos fisiológicos com alterações patológicas.

Ao exame macroscópico do oviduto, podemos observar as seguintes alterações:

**Modificação no comprimento ou na largura** - a redução do comprimento do oviduto, em particular do istmo, pode estar relacionada com doenças como a bronquite infecciosa das galinhas e a síndrome da queda de postura.



**Modificações na largura do magno e do istmo** - podem ser desencadeadas por problemas de motilidade, tempo de migração do ovo, repleção das glândulas ou lesões locais devido às infecções. Alterações patológicas geralmente estão associadas com processos hipoplásicos com atresia ou hipoplasia glandular ou degeneração de células epiteliais da mucosa, principalmente, devido às infecções por vírus da bronquite infecciosa e da síndrome da queda de postura. Uma redução do comprimento do oviduto geralmente causa problemas de qualidade da albumina ou da casca, enquanto a redução ou a modificação na largura ou na motilidade, com problemas de volume da clara, casca fina e refluxo de ovo ou ovoperitonites.

**Oviduto infantil** - é encontrado como consequência da atrofia do ovário e deve ser diferenciado de falsas poedeiras devido à infecção precoce (uma a duas semanas de idade) ou durante fase de recria pelo vírus da bronquite infecciosa. Galinhas “corridas” ou em muda também apresentam oviduto infantil. Processos hipoplásicos devido à degeneração epitelial por infecção viral (bronquite), geralmente são associados com o encontro de células epiteliais cuboidais em vez de piramidais e hiperplasia linfóide, inclusive com proliferação de centros germinativos.

**Lesões na mucosa do oviduto** - são difíceis de serem detectadas ao exame macroscópico quando ele está fisiologicamente ativo ou pouco ativo. Durante a necropsia, considera-se presuntivamente lesados as seguintes alterações macroscópicas:

- 1.** Vasodilatação ou cor mais vermelha no infundíbulo e no útero pode ter relação com tempo de passagem do ovo ou com infecções sistêmicas.
- 2.** Pregas com edema presente no infundíbulo ou no útero têm relação com ocorrência de doenças ou redução da função glandular e têm sido descritas na síndrome da queda de postura e em casos de metrite viral.
- 3.** Glândulas inativas ou fibrosadas podem ser vistas nas pregas do magno e caracterizadas como áreas ou focos brancos - acinzentadas e consistentes. Intoxicações medicamentosas podem induzir esta alteração.
- 4.** Cistos miliares, com aparência translúcida vistos na mucosa do magno têm relação com redução da atividade glandular e podem ser causados por vários fatores, inclusive infecciosos.
- 5.** Concreções brancas ou material semelhante a um pó de giz no útero pode ter relação com problema de motilidade ou de inervação uterina causando expulsão prematura do ovo.
- 6.** Superfície mucosa irregular, erosões ou úlceras miliares, edema e hiperemia das vilosidades, principalmente no útero e no istmo, às vezes com exsudato de cor amarela ou com cáseo, têm relação com ocorrência de metrites ou salpingites ou piometra e, geralmente, complicada devido a contaminação secundária por bactérias. Infecções com o vírus da bronquite infecciosa das galinhas, da leucose linfóide e da síndrome da queda de postura e por micoplasmas e salmonelas patogênicas, podem ser causas de descamação epitelial e inflamação no oviduto, caracterizadas por hiperplasia de centros germinativos, afluxo de monócitos, de plasmócitos, de linfócitos e de heterófilos, edema e fibroplasia na lâmina própria. As células epiteliais podem assumir um aspecto cuboidal ou achatado e estarem desciliadas. As glândulas tubulares podem estar atrofiadas e com dissociação do tecido conjuntivo frouxo intersticial. No caso da síndrome da

queda de postura podemos encontrar corpúsculos de inclusões intranucleares nas células epiteliais descamadas. A salpingite, a metrite e a piometra, às vezes, visíveis ao exame macroscópico, geralmente são causadas por septicemias bacterianas (salmonelose, colibacilose, pasteurelose), infecções associadas ou complicadas devido *Mycoplasma gallisepticum* ou retenção de ovos no oviduto (impactação de ovos). A ocorrência de inflamação no oviduto devido às infecções bacterianas (piometra) pode ser decorrente de um processo descendente devido à presença de aerossaculite, ovoperitonite ou de infecção no ovário, ou ascendente, via oviduto-cloaca, por exemplo, devido a um prolapso. Quando o oviduto esquerdo é severamente injuriado por patógenos que possuem tropismo para o sistema reprodutor, ele se atrofia e/ou podemos encontrar exsudato inflamatório no lúmen dos ovidutos esquerdo e direito (conducto de Müller).

- **Salpingopatia:** diferente da salpingite, que é uma reação inflamatória desencadeada por injúria tissular, salpingopatia significa redução ou perda de função decorrente da degeneração de algumas células epiteliais ou glandulares provocada por algum tipo de infecção subclínica ou em aves convalescentes. Por exemplo, os vírus da bronquite infecciosa de patogenicidade mais baixa podem produzir degeneração focal das células ciliadas do oviduto. A zearalenona (micotoxina) pode causar inflamação cística no oviduto, com distensão ou hipertrofia do oviduto.
- Tumores - são raros, mas em galinhas mais velhas, é comum a presença de nódulos na parede do oviduto ou nos ligamentos, relacionados com leiomiomas (tumores benignos). Neoplasias ou tumores no oviduto são raros, no entanto, em caso de leucose linfóide ou mielóide, pode-se detectar proliferações neoplásicas no útero. Em caso de adenocarcinomas peritoneais, pode-se detectar metástase no magno.
- **Persistência do oviduto direito imaturo formando ovidutos císticos** – observa-se acúmulo de fluido, incolor e inodoro compreendendo a linfa que fica retida no lúmen do conduto de Müller que é o resquício embrionário do oviduto direito, que geralmente não se desenvolve na galinha.
- **Eversão da vagina e prolapso** - o prolapso da cloaca pode ocorrer como consequência de má conformação da carcaça, ovo muito grande, aves obesas e estar presente em galinhas velhas que apresentam distúrbios de motilidade do oviduto ou da distensão e retração dos esfíncteres. Deve-se diferenciar prolapso de eversão da vagina durante o processo de oviposição, quando normalmente ocorre uma eversão fisiológica da mucosa vaginal e uterina para que o ovo possa ser expelido. Quando em um lote temos galinhas hiperreativas ou agressivas ou mal debicadas ou com distúrbio nutricional, poder-se observar o canibalismo desencadeado pela visualização de tecido irritado ou róseo evaginado na cloaca. Reprodutoras pesadas que vêm à óbito devido à síndrome da morte súbita ou da monocitose aviária, apresentam cloaca congesta e evertida, além de óvulos e pulmões com congestão vascular e algumas vezes, um ovo com casca quebrada no útero.

## Patologias do sistema reprodutor masculino

O aparato reprodutor do macho é composto de dois testículos com os seus respectivos epidídimos e condutos deferentes que desembocam na falo. Durante a fase de crescimento do macho o testículo apresenta coloração amarela e, à medida que atinge maturidade, este órgão adquire uma coloração branca e opaca de aspecto um pouco nevado. O testículo direito é menor que o esquerdo e pode estar um pouco amarelado mesmo nos machos sexualmente maduros. Não é uma

prática de rotina efetuar avaliações clínicas e anatomopatológicas nos machos que são descartados após seleção ou quando é feita a reposição (Spiking) de machos supostamente inférteis que apresentam:

- a. Pouca agressividade territorial.
- b. Empenamento perfeito.
- c. Excesso de peso ou pouco peso ou caquexia - “macho corrido”.
- d. Cristas e barbelas pouco desenvolvidas, pálidas ou com cianose ou com bordos azulados.

Quando é detectado um aumento de ovos inférteis, deve-se levar em consideração que além dos fatores genéticos, de estresses, de manejo e de instalações, existem doenças infecto-contagiosas que causam a diminuição na fertilidade. É muito importante efetuar uma avaliação clínica e análise do comportamento das reprodutoras no período da manhã e durante o arraçamento e, no período da tarde, para observar o acasalamento e, à noite, no escuro, para detecção de sintomas respiratórios. Deve-se levar em consideração como suspeitos para ocorrência de doença, os seguintes parâmetros:

- a. Dificuldade de locomoção, inapetência, prostração, sonolência e adipsia.
- b. Amplitude e ritmo do canto das fêmeas e dos machos.
- c. Empenamento, coloração e grau de hidratação da pele, das cristas e das barbelas.
- d. Redução da libido.
- e. Diferenciar respostas de luta e fuga por competição territorial ou por excesso de machos ou de fêmeas não receptivas da reação de fuga devido à exclusão de um indivíduo doente da população. As aves têm como hábito excluir ou abandonar parceiros enfermos.

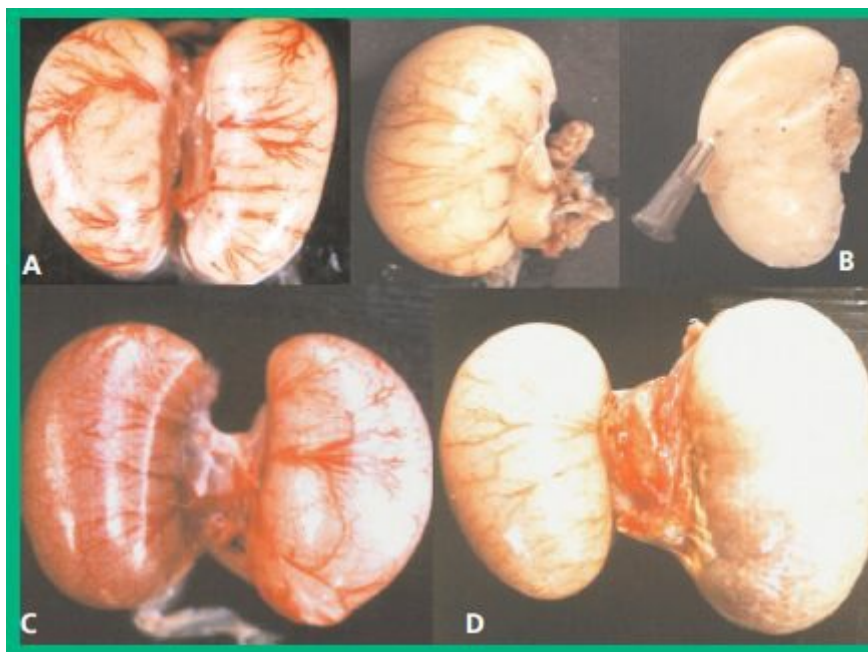
As alterações patológicas que causam infertilidade ou diminuição da fertilidade são:

### **Má formação**

Trata-se de anomalia do desenvolvimento do sistema reprodutor, por exemplo, hipoplasia, ectopia (localização anormal), poli ou monorquidismo (muitos ou um único testículo) e presença de gônadas masculina e feminina na mesma ave (intersexo). Existe, também, a possibilidade de machos apresentarem modificações secundárias, por exemplo, macho com órgãos femininos e vice-versa.

### **Redução do tamanho testicular**

Processos degenerativos (**Figura 13**) são causas de hipotrofia ou atrofia testicular e, geralmente, estão relacionados com a presença de distúrbios metabólicos ou com a ocorrência de enfermidades.



**Figura 13** - Alterações macroscópicas no sistema reprodutor masculino. A = testículo com redução do tamanho e vasodilatação apresentando no epidídimo pontos branco (seta), microscopicamente relacionados com urólitos; B = testículo atrofiado e epidídimo hipertrofiado e inflamação; C = corte longitudinal do testículo e do epidídimo com ducto eferente contendo urólitos (seta) e orifícios no parênquima epididimário correspondendo a ductulos atrofiados; D = orquite aguda, com testículo da esquerda apresentando vasodilatação e hiperemia; E = orquite e epididimite necrozante unilateral (testículo à direita).

Testículos menores em machos adultos ou maduros podem ter relação com:

- Túbulos seminíferos com redução da espermatogênese ou com diminuição das células de Sertoli. Processos crônicos que levam à caquexia, má nutrição, intoxicação por chumbo ou por cádmio, aflatoxina e outras micotoxinas, podem causar redução do calibre do túbulo seminífero e da quantidade de espermátides. Os testículos apresentam-se mais consistentes e acinzentados, às vezes com vasodilatação. O epidídimo atrofia e não se observam no lúmen dos ductos eferentes e deferentes, espermatozóides maduros.
- A degeneração de espermatozóides maduros, sucedida ou associada a desmação de células germinativas ou com formação de células gigantes, pode ser causada pela deficiência de vitamina E. A deficiência crônica desta vitamina promove a degeneração das células epiteliais dos túbulos seminíferos, podendo cessar totalmente a espermatogênese e evoluir para fibrose intersticial e atrofia do túbulo.
- Testículo cístico - na intoxicação por sal, o testículo aumenta de tamanho e fica com conteúdo líquido. Microscopicamente nota-se uma dilatação dos túbulos seminíferos e hipertrofia epitelial nos ductos epididimários. Em caso de toxemia intensa, as células epiteliais ficam achatadas.
- A epididimite crônica pode causar uma redução da função dos túbulos seminíferos e da secreção de hormônios pelas células de Leydig e de Sertoli. Fisiologicamente os espermátócitos diferenciados nos túbulos seminíferos migram para os ductos epididimários onde sofrem maturação e se misturam com o fluido espermático. Quando há degeneração das células epiteliais ciliadas, por exemplo, devido à replicação do vírus da bronquite infecciosa das galinhas e do Mycoplasma sp, não ocorre a maturação dos espermátócitos e secreção do fluido seminal. Nestas circunstâncias, ao exame histológico, observa-se atrofia das

pregas dos ductos epididimários, metaplasia cuboidal do epitélio ciliado cilíndrico pseudo-estratificado e hiperplasia linfóide na lâmina própria e no tecido interductular.

## Processos inflamatórios

A orquite fibrino-purulenta e necrótica tem relação com ocorrência de infecções bacterianas. Este tipo de afecção pode ser causado pela *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* e também é vista na colibacilose. As aves convalescentes ou sobreviventes podem apresentar atrofia testicular associada com calcificação distrófica dos túbulos seminíferos. Na ornitose- psitacose pode-se observar orquite e epididimite associada com a ruptura do vaso testicular, resultando em morte da ave devido à hemorragia interna.

A epididimite crônica ocorre devido à obstrução luminal por cálculos dos ductos eferentes apresentam descamação epitelial, poucos espermatozóides e infiltração de células mononucleares. Não se sabe quais são os fatores que causam a deposição de cálculos no epidídimo. Na síndrome do sêmen amarelo dos perus, a presença de cálculos foi associada com acúmulo anormal de lipídeos no ducto epididimário e secreção excessiva de proteínas e andrógenos. Em galinhas, discute-se como causa, má formação do ducto epididimário ou injúrias causadas por patógenos epiteliotrópicos com tropismo para o sistema reprodutor, por exemplo, vírus da bronquite infecciosa das galinhas.

## Tumores

O adenocarcinoma do túbulo seminífero pode ter relação com infecção pelo vírus da leucose linfóide aviária (MH2). Linfomas podem estar presentes em aves com doença de Marek e seminomas e tumores das células de Sertoli são raros nas galinhas domésticas, mas muito freqüentes em patos, codornas e periquitos. Teratomas e mielocitomas, também, podem ser observados nas aves.

## Pênis ou falo

Os processos inflamatórios de natureza traumática são mais freqüentes dos que as infecciosas, em particular em patos e gansos. No entanto, processos infecciosos podem ter caráter venéreo, por exemplo, na infecção por *Mycoplasma meleagridis* dos perus e possivelmente para *Campylobacter jejuni*.

## Hipofunção testicular

Todas as doenças que induzem lesões testiculares são potencialmente capazes de causar redução da fertilidade, entretanto, existem enfermidades que reduzem a espermatogênese na ausência de lesões típicas ([Tabela 7](#)).

**Tabela 7** - Enfermidades que diminuem a fertilidade dos machos.

Enfermidades	Efeito sobre sistema reprodutor
--------------	---------------------------------

<b>Nutricionais</b>	
Deficiência de vitamina B1	Hipotrofia – atrofia do trato genital.
Deficiência de vitamina A	↓espermatogênese e da motilidade e aumento de espermatozóides anormais
<b>Virais</b>	
Leucose linfóide	
Doença de Marek Bronquite Infecciosa	↓fertilidade e da qualidade do sêmen Epididimite
Tenosinovites, artrites	↓da frequência de cobertura
<b>Bactérias</b>	
Septicemias em geral	Redução da libido
Toxinas – intoxicações	
Aflatoxina	↓do volume do sêmen, do peso do testículo e da espermatogênese
Ionóforos, furazolidona	↓fertilidade
Zearalenona	Redução da libido e lesão testicular?

## O sistema reprodutivo das aves e a disseminação de enfermidades

O poder multiplicador da pirâmide de produção em um sistema de produção de aves domésticas é enorme (**Tabela 8**).

<b>Tabela 8 - Poder multiplicador da pirâmide de produção de aves domésticas.</b>		
<b>Níveis da Pirâmide de Produção</b>		<b>Poder Multiplicador</b>
1	Granja de Pedigree (linhas puras)	→ 1 macho e 10 fêmeas (linha genética pura)
	↓	↓
2	Granja e Incubatório de Bisavós	→ 150 Bisavós
	↓	↓
3	Granja e Incubatório de Avós	→ 6.000 Avós
	↓	↓
4	Granja e Incubatório de Matrizes	→ 330.000 Matrizes
	↓	↓
5	Granja de Frangos de Corte	→ 47.760.500 Frangos de Corte
	↓	↓
6	<b>CONSUMIDOR FINAL</b>	→ ± 77 mil ton de carne de frango

No topo da pirâmide (nível 1) encontra-se a granja de melhoramento genético e multiplicação de linhas genéricas puras (linhas macho e fêmea). Normalmente, em programas de melhoramento genético de matrizes pesadas, cada uma destas populações de linhas puras está dividida em vários grupos de acasalamento consistidos cada um de um macho e 10 fêmeas. Durante o período (normalmente seis e oito semanas) em que as aves de um destes grupos está contribuindo (ovos

férteis) para o programa de melhoramento genético, aproximadamente 15 bisavós são produzidas por cada fêmea de linha pura do grupo de acasalamento, totalizando um número de 150 bisavós (nível 2). Cada uma destas, durante sua vida reprodutiva normal, produzirá em torno de 40 avós o que irá perfazer um total de 6mil avós (nível 3). Do mesmo modo, estas avós irão multiplicar e produzir um total de 294mil matrizes pesadas (55 matrizes por avó; nível 4) as quais por sua vez produzirão aproximadamente 40 milhões de frangos de corte (150 pintos de um dia por matriz menos 4% de mortalidade até o abate; nível 5). Ao abate destes frangos, serão produzidas em torno de 77mil toneladas de carne de frango (peso vivo médio ao abate de 2,3kg com 70% de rendimento de carcaça; nível 6).

É, portanto, bastante evidente que qualquer microorganismo patogênico sendo transmitido verticalmente ao longo desta pirâmide de produção poderá causar grandes prejuízos econômicos aos produtores e indústria. Além disso, se o patógeno transmitido verticalmente for de importância na saúde pública (zoonose), as perdas para o mercado avícola poderão ser multiplicadas várias vezes pelo impacto da opinião pública e diminuição do consumo de produtos avícolas.

### Transmissão vertical de microorganismos

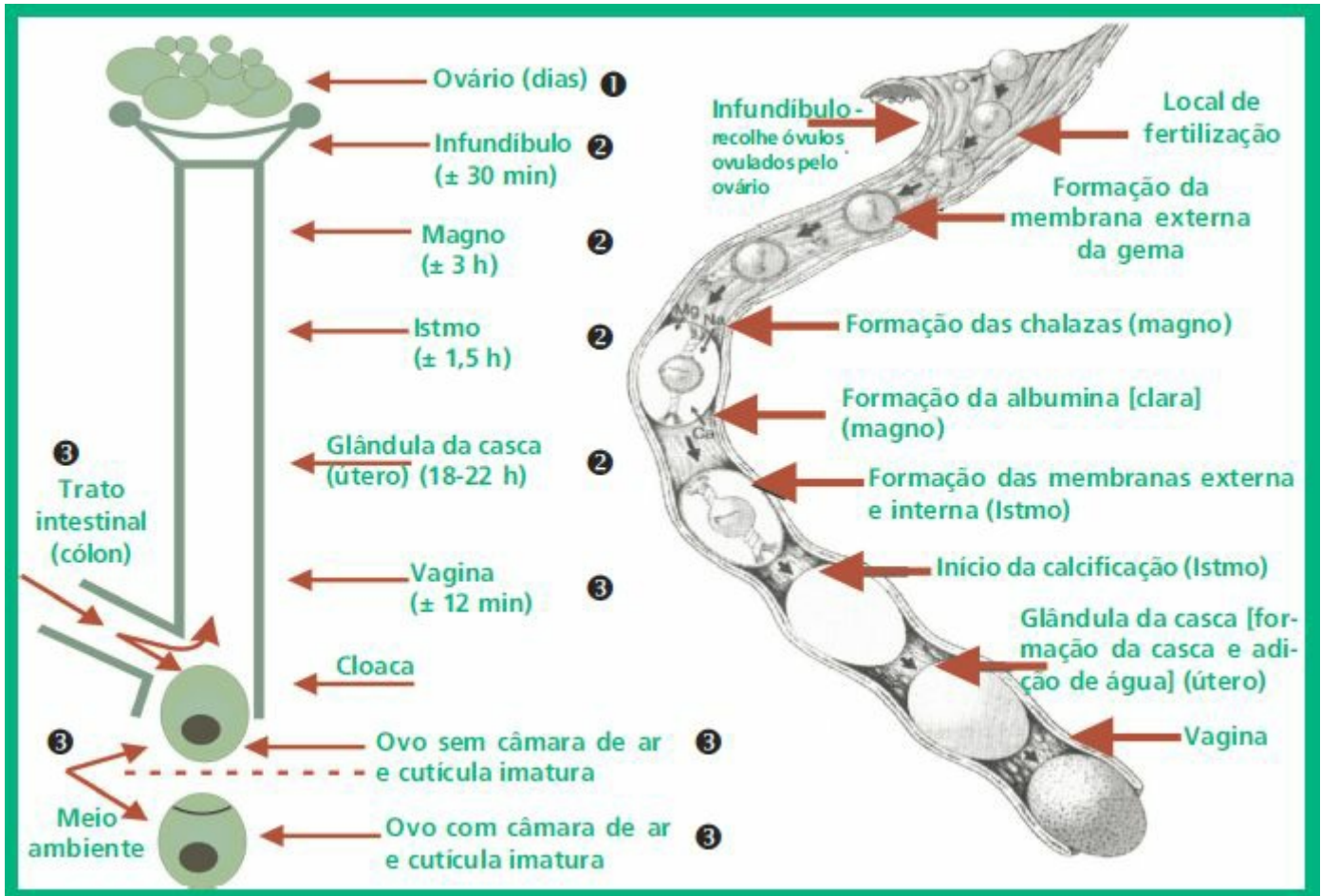
Uma grande variedade de microorganismos patogênicos e outros possivelmente patogênicos podem ser encontradas ao longo do trato reprodutivo das aves. Estes, durante a formação do ovo até momentos antes da de sua postura, podem contaminar o ovo e ser passados adiante aos próximos níveis da pirâmide de produção ou indo contaminar produtos finais de consumo humano (ovos de mesa ou carne de frango). Portanto, a contaminação microbiana de ovos é um fenômeno muito bem estabelecido o qual tem importantes repercussões econômicas para a indústria avícola. No caso de ovos de mesa, esta contaminação pode significar transmissão de doenças para o público consumidor e, no caso de ovos férteis pode representar diminuição da eclodibilidade, transmissão de enfermidades à progênie e produção de pintos de má qualidade ou contaminados com patógenos de importância na saúde pública.

Três diferentes tipos de transmissão de microorganismos podem ocorrer no trato reprodutivo da fêmea (**Figura 14**):

- Transmissão transovariana
- Transmissão transovidutal
- Transmissão trans-casca

Estas podem ocorrer tanto isoladamente quando conjuntamente para um mesmo ovo em formação.





**Figura 14** - Representação esquemática do trato reprodutivo da fêmea mostrando os locais onde possíveis contaminações do ovo podem ocorrer e o tempo gasto (entre parenteses) pelo ovo em formação em cada local. Os números representam os diferentes tipos possíveis de vias de infecção do ovo durante sua formação e após postura: 1 = transmissão trans-ovariana; 2 = transmissão trans-ovidutal; e 3 = transmissão trans-casca.

A via de contaminação trans-casca pode ocorrer antes da postura do ovo (transmissão vertical verdadeira). Já a contaminação no período pós-postura antes da coleta dos ovos, pode ser interpretada tanto como transmissão vertical como horizontal. Por exemplo, a contaminação de um ovo no ninho ou na cama do aviário contaminado por um patógeno eliminado pelas aves nas fezes (salmonelas) pode ser considerada como vertical. Já, se este ovo for contaminado por algum patógeno eliminado no meio ambiente por outra espécie que seja portadora do mesmo (roedores, pássaros, insetos e o próprio homem), esta contaminação seria considerada horizontal.

De um modo geral, a maioria dos ovos em formação no oviduto está livre de contaminação bacteriana, em aves sãs. Estudos microbiológicos do oviduto das galinhas demonstram que a flora bacteriana recuperada dos ovidutos difere marcadamente daquela encontrada nos ovos, indicando que a contaminação destes ocorre, preferencialmente, após a postura para a grande maioria dos microorganismos. Existem, no entanto, vários agentes patogênicos para aves ou humanos (vírus, bactérias, micoplasmas e fungos) que podem ser disseminados via ovos ou sêmen contaminado ([Tabela 9](#)).

Tabela 9 - Principais microorganismos verticalmente transmissíveis e/ou transmissíveis via ovo em aves).		Transmissão por	
		galinha → ovo	macho → fêmea (via sêmen)
<b>Víroses</b>			
1. Retrovíruses			
Oncovíroses aviárias – grupo leucose/sarcoma	Sim	Sim	
Reticuloendoteliose	Sim	Sim	
2. Paramyxovírus			
Doença de Newcastle***	Sim	n.r.*	
3. Picornavírus			
Vírus similares a enterovíroses	Sim	Sim	
Encéfalomielite Aviária	n.r.	n.r.	
4. Coronavírus			
Bronquite infecciosa***	Sim	Sim	
5. Reovírus			
Avian reoviruses	Sim	n.r.	
6. Adenovírus			
Adenovíroses aviárias grupos I & II	Sim	Sim	
Síndrome da Queda da Postura (EDS-76, group III)	n.r.	n.r.	
7. Orthomixovírus			
Influenza Aviária***	Sim	n.r.	
8. Circovírus			
Anemia Infecciosa das Galinhas	Sim	Sim	
<b>Bactérias</b>			
1. Salmonelas			
Vários sorotipos, incluindo aqueles adaptados às aves domésticas ( <i>Pullorum</i> & <i>gallinarum</i> ) e àqueles de importância na saúde pública ( <i>Enteritidis</i> , <i>Typhimurium</i> , <i>Arizona</i> , <i>Hadar</i> , <i>Heidelberg</i> , e muitos outros). É comumente aceito hoje em dia que qualquer sorotipo de salmonela que apresente propriedades invasivas tem forte potencial para ser transmitido via vertical.	Sim	Sim	
2. <i>Escherichia coli</i> (várias cepas)	Sim	a.p.**	
3. <i>Staphylococcus</i> (várias cepas)	Sim	a.p.	
4. <i>Streptococcus</i> (várias cepas)	Sim	a.p.	
5. <i>Mycobacterium avium</i> (Tuberculose Aviária)	Sim	n.r.	
6. <i>Campylobacter jejuni</i>	Sim	Sim	
7. <i>Ornithobacterium rhinotraqueale</i>	Sim	n.r.	
<b>Micoplasmas</b>			
1. <i>Mycoplasma gallisepticum</i> (galinhas)	Sim	Sim	
2. <i>Mycoplasma synoviae</i> (galinhas)	Sim	a.p.	
3. <i>Mycoplasma meleagridis</i> (perus)	Sim	Sim	
4. <i>Mycoplasma iowae</i> (perus)	Sim	Sim	
5. <i>Mycoplasma gallinarum</i> (gansos)	Sim	a.p.	
6. <i>Mycoplasma anseris</i> (gansos)	Sim	a.p.	
7. <i>Mycoplasma cloacale</i> (gansos)	Sim	a.p.	
<b>Chlamydia</b>			
1. <i>Chlamydia psittacci</i> (várias espécies)	Sim	a.p.	
<b>Fungos</b>			
1. <i>Aspergillus fumigatus</i>			
via contaminação do ovo (pós-postura) ocorrida na granja e/ou incubatório			
<b>Outros</b>			
Várias outras bactérias gram-negativas e gram-positivas comensais podem eventualmente ser transmitidas verticalmente pela fêmea e/ou pelo macho			

\* n.r. = não relatado; \*\* a.p. = altamente provável; \*\*\* Transmissão vertical desses patógenos não tem atualmente importância epidemiológica/clínica definitiva, havendo necessidade de evidências científicas mais conclusivas.

Entre as bactérias patogênicas, para as aves domésticas, a mais recentemente demonstrada como sendo de transmissão vertical é o *Ornithobacterium rhinotraqueale* (Empel, Hafez, 1999). Já o *Campylobacter jejuni*, embora não sendo um agente de doença para aves, pode ser isolada de praticamente qualquer lote de reprodutores ou frangos e tem sido demonstrado que também pode ser transmissão vertical (Pearson *et al.*, 1996; Hafez, 1999; Eleazer, 2000). Certos sorotipos de salmonelas e o *Campylobacter jejuni* são as causas mais comuns de toxi-infecções alimentares associadas com produtos avícolas.

Embora várias bactérias transmitidas verticalmente, em aves domésticas, sejam conhecidas e

importantes agentes patogênicos em humanos (salmonelas e *Campylobacter jejuni*), o mesmo não é verdade para as viroses transmitidas verticalmente pelas aves. Destas, somente o vírus causador da Doença de Newcastle está definitivamente comprovado como sendo agente de uma zoonose (causa conjuntivite em pessoas expostas ao vírus). No entanto, desde o final da década de 1990 e início do século 21, pelo menos dois (H5N1 e H9N2) dos vários tipos de vírus causadores de influenza em aves tem sido identificados como causadores de vários casos fatais de influenza aviária em humanos, em muitos países ao redor do mundo. Tendo o subtipo viral H5N1 sido responsável por dezenas de mortes, principalmente no sudeste asiático (para maiores informações, visitar o seguintes endereços na rede Internet:

[http://www.oie.int/eng/info\\_ev/en\\_avianinfluenza.htm](http://www.oie.int/eng/info_ev/en_avianinfluenza.htm) e [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/en/index.html)). Embora o envolvimento de viroses oncogênicas de aves com certos tipos de câncer em humanos tenha sido evidenciado em alguns estudos experimentais e epidemiológicos, a integração do DNA viral das retrovírus aviárias em células humanas e subsequente indução de tumores nunca foram demonstrados (Johnson, 1994; Choudat *et al.*, 1996).

### **Mecanismos de contaminação do trato reprodutivo e do ovo pelos microorganismos**

Os microorganismos podem ser transmitidos para dentro do ovo, após a postura, por rotas. No entanto, este organismo pode não sobreviver dentro do ovo até o momento da eclosão.

A parte do ovo na qual um microorganismo é depositado depende da parte do trato reprodutivo na qual ele está localizado (ovário, oviduto ou cloaca). A habilidade destes microorganismos em se localizar nestas estruturas anatômicas e permanecer viável depende, em grande parte, do fato de possuir ou não características que previnam sua destruição via fixação de complemento, previnam sua opsonização e fagocitose, permitam sua penetração e sobrevivência dentro das células do organismo infectado ou permitam sua sobrevivência e multiplicação no trato digestivo, principalmente nas regiões mais distais do mesmo.

Normalmente, os microorganismos entram em um organismo como resultado de uma infecção. Isto ocorre muito freqüentemente com vários microorganismos comensais presentes normalmente no trato digestivo. E nenhuma doença ocorre quando isto acontece com comensais. Entretanto, muitos patógenos entram nos tecido como parte de um processo normal de infecção e desenvolvimento de uma doença. Em uma fêmea em postura, tais organismos podem se localizar no trato reprodutivo. Ou isto pode ocorrer mais tarde como resultado do desenvolvimento da doença em si ou, no caso de uma infecção crônica em idades mais jovens, ocorrer uma infecção do ovário durante o período de maturação sexual antes do início da postura. As células bacterianas localizam-se no ovário em função de sua passagem pela grande lacuna presente na parede dos vasos sangüíneos, as quais normalmente permitem a passagem de nutrientes para dentro dos óvulos em desenvolvimento. Salmonelas e micoplasmas podem infectar o ovário desta maneira. Quanto às viroses aviárias, estas podem penetrar nas células do ovário por si só, mesmo nas células germinais e, neste último caso, podem permanecer como cópias de DNA integradas ao genoma destas células.

O oviduto pode se tornar contaminado por via hematogênica ou via ascendente desde a cloaca. A contribuição relativa de cada uma dessas vias é muito difícil de ser acessada. A localização dos microorganismos seja na albumina (clara) ou membranas da casca dependerá se o infundíbulo ou o útero estão infectados, respectivamente. Bactérias, viroses ou bacteriófagos, cujo habitat natural

são as partes mais caudais do trato digestivo, podem contaminar o ovo via ascendente desde a cloaca. Os organismos depositados na superfície da casca, seja no intervalo entre a saída da glândula da casca até a postura, seja no ninho após a postura, são internalizados no ovo a medida que o conteúdo deste esfria e se contrai, absorvendo a umidade depositada na superfície externa da casca.

A infecção do ovário ou oviduto via cavidade peritoneal é muito improvável, uma vez que em aves saudáveis ou em aves infectadas em estágio iniciais de infecção, poucos organismos infectantes estarão presentes. Esta situação pode mudar durante estágios mais adiantados da doença, mas normalmente, à esta altura do processo, a ave já cessa a postura de ovos.

A localização dos microorganismos no trato reprodutivo e sua sobrevivência no ovo em formação pressupõem a posse de características que permitam a sua sobrevivência no ambiente relativamente hostil do sangue e tecidos, trato digestivo, albumina e casca do ovo. Sua sobrevivência no sangue envolve mecanismos anti-opsônicos e anti-fagocíticos, dissimulação e variação antigênica e resistência ao soro. Cada um destes mecanismos por si só pode ser multifatorial. Resistência ao soro, por exemplo, é mediada não somente por antígeno lipopolissacarídeos e capsulares, os quais são geralmente mediados cromossomalmente em bactérias, como também por genes mediados por plasmídeos presentes em algumas bactérias. As condições de meio ambiente do trato digestivo tais como valores extremos de pH, presença de ácidos e sais biliares e a presença de ácidos graxos voláteis são hostis para muitas bactérias. No meio ambiente interno do ovo, a albumina, mas não a gema, não possui qualquer conteúdo em ferro. Poucos organismos podem sobreviver e crescer dentro da albumina e, mesmo assim, isto dependerá de sua exata localização no ovo. Já, para sobreviver na superfície da casca, os microorganismos tem que ser resistentes à dessecação.

Na prática, o ovo apresenta uma série de barreiras à penetração bacteriana e, embora alguns microorganismos possam penetrar a casca com sucesso, sua sobrevivência e crescimento dentro do ovo podem ser impedidos ou atrasados. Muitos estudos demonstram claramente que existe uma variação razoável entre microorganismos em sua habilidade para vencer os mecanismos de defesa do ovo e crescer dentro do mesmo. Portanto, a penetração do ovo via casca pode ocorrer acompanhada por nenhum crescimento do microorganismo e nenhum dano ao ovo. Nesta linha de raciocínio, é importante frisar que, no caso de ovos férteis, mesmo a recuperação de bactérias desde o conteúdo de ovos que falharam em eclodir não necessariamente implica que o organismo recuperado foi o responsável pelo não desenvolvimento do embrião uma vez que o embrião pode ter morrido por várias outras razões antes da penetração e multiplicação do microorganismo.

Existem oito principais fatores que influenciam a contaminação do ovo via trans-casca:

- Diferencial de temperatura.
- Umidade.
- Presença de contaminantes.
- Tipo de flora contaminante.
- Porosidade da casca.
- Cutícula da casca.
- Membranas da casca.
- Mecanismos químicos de defesa.

## Diferencial de temperatura

Devido à sua natureza porosa, os ovos são particularmente vulneráveis ao processo de contaminação microbiana trans-casca. Desde o momento da postura, a medida que o ovo esfria (sua temperatura é maior do que a do meio ambiente já que a temperatura corporal normal de uma galinha é de 42°C) e seu conteúdo contrai-se, cria-se uma pressão negativa ao longo da abertura dos poros que pode resultar na sucção de material contaminante desde a superfície do ovo. Este fenômeno é largamente aceito como o principal fator causador da contaminação microbiana de ovos.

## Umidade

Água, tanto na forma líquida quanto na forma gasosa, parece ser essencial para a penetração de microorganismos na estrutura calcítica da casca do ovo. O enchimento dos poros com água contaminada é muitas vezes considerado como o estágio inicial da infecção do conteúdo do ovo.

“Ovo suado” é um termo comumente utilizado para indicar a condensação de gotas de água na superfície do ovo que se forma quando o ovo é retirado de um local refrigerado e armazenado à temperatura ambiente. A ocorrência deste acúmulo de água na casca é conhecida como um fator pré-disponível à penetração bacteriana e, muitas vezes, pode permitir o desenvolvimento de fungos. No entanto, já está bem estabelecido que a penetração bacteriana através da casca será aumentada quando, além da presença de umidade, o ovo é submetido a diferenciais de temperatura que causam a contração de seu conteúdo e a sucção da água presente nos poros. Além da água em estado líquido agir como um veículo para a penetração das bactérias, tem sido demonstrado que há uma correlação positiva significativa entre a quantidade de vapor de água presente na atmosfera no momento da postura e a taxa de contaminação dos ovos.

## Presença de contaminantes

A presença de contaminação microbiana é um pré-requisito essencial para que a penetração no ovo ocorra. Como a maioria dos ovos não contém nenhum organismo viável antes da postura, a primeira oportunidade real de contaminação ocorre no momento da postura. O nível de contaminação da superfície da casca do ovo pode variar de  $10^3$  a  $10^5$  cfu para ovos em boas condições de higiene até  $10^7$  a  $10^8$  cfu para ovos em más condições de higiene. Isto confirma que a taxa de contaminação de ovos está diretamente relacionada com a limpeza do ambiente e a qualidade do manejo no sistema de produção onde eles são postos. A [Tabela 10](#) exemplifica este conceito quando a taxa de contaminação de ovos de granjas de avós (melhor higiene, manejo e biossegurança em geral) é comparada com aquela de granjas de matrizes.

**Tabela 10** - Incidência de contaminação bacteriana em ovos produzidos em granjas de avós e matrizes (Bruce, Johnson, 1978).

Origem dos Ovos	Número de Ovos Não Eclodidos Examinados	Nível de Contaminação dos Ovos Não Eclodidos
Granja de Matrizes	2002	14,8%
Granja de Avós	540	5,9%
Total	2542	12,7%

Tem sido demonstrado que a medida que o lote de aves envelhece a incidência de ovos que não eclodem aumenta. Três possíveis razões têm sido postuladas para explicar este fenômeno:

- Os mecanismos de defesa do ovo deterioram com o envelhecimento do lote.
- O meio ambiente da granja torna-se mais contaminado.
- O trato reprodutivo das fêmeas torna-se mais contaminado com a idade e produz maior número de ovos contaminados

Investigações científicas têm indicado que a terceira causa indicada acima é pouco provável. No entanto, demonstrou-se que a medida que o lote envelhece ocorre uma deterioração da deposição da cutícula sobre o ovo.

### Tipo de flora contaminante

A importância do tipo de flora microbiana pela qual os ovos são desafiados merece atenção já que nem todos os microorganismos são capazes de penetrar as estruturas externas do ovo e sobreviver às condições hostis proporcionadas pela albumina.

A **Tabela 11** mostra uma comparação entre a microflora presente na superfície de ovos normais e no interior de ovos deteriorados (podres).

Tipo de Microorganismo	Frequência de Ocorrência*	
	Superfície do Ovo Normal	Interior do Ovo Deteriorado
<i>Micrococcus</i>	+++	+
<i>Achromobacter</i>	++	+
<i>Aerobacter</i>	++	n.e. **
<i>Alcaligenes</i>	++	+++
<i>Arthrobacter</i>	++	+
<i>Bacillus</i>	++	+
<i>Cytophaga</i>	++	+
<i>Escherichia</i>	++	+++
<i>Flavobacterium</i>	++	+
<i>Pseudomonas</i>	++	+++
<i>Estafilococcus</i>	++	n.e.
<i>Aeromonas</i>	+	++
<i>Proteus</i>	+	+++
<i>Sarcina</i>	+	n.e.
<i>Serratia</i>	+	n.e.
<i>Streptococcus</i>	+	+

\* Quanto mais sinais "+", maior a incidência de determinado microorganismo.  
 \*\* n.e. = não encontrada.

Com relação ao tipo de flora presente em ovos, tem-se notado que, embora a flora encontrada na superfície de ovos normais possa variar bastante quantitativa e qualitativamente em diferentes regiões geográficas, aquela encontrada em ovos deteriorados tende a ser similar, independente da área geográfica ou tipo de criação. Isto indica que os mecanismos de defesa intrínsecos do ovo influenciam a seleção daquelas bactérias presentes em ovos deteriorados.

Além de poder causar sérios problemas de eclo- dibilidade, a contaminação de ovos por microorga- nismos pode causar sérios problemas de saúde pública quando contaminados por bactérias de importância zoonótica, tais como *Salmonellas enteritidis* e *typhimurium* (as duas principais), *Campylobacter jejuni* e *Yersinia enterocolitica*, entre outros.

### Porosidade da casca

Os poros do ovo são essenciais para o desen- volvimento do embrião em função de sua atuação na troca de gases da respiração e condução de vapor de água. Uma vez que os poros são considerados a via mais importante de penetração dos microorga- nismos, sua estrutura pode influenciar a facilidade com que estas bactérias podem penetrar no ovo.

A casca do ovo é permeada por uma quantidade de poros que varia de 7 a 17mil (diâmetro médio de 11 a 12 $\mu$ m), com o maior número deles ocorrendo no pólo mais largo, menos pontudo, do ovo. Esta área é considerada com a mais provável de ser penetrada por agentes contaminantes. Além de possuir o maior número de poros, as membranas internas e externas da casca não estão em íntimo contato neste pólo mais largo do ovo, formando uma câmara de ar. Considera-se que a câmara de ar responde mais rapidamente à mudanças de temperatura do que o resto do conteúdo do ovo. Nem todos os poros projetam-se por toda a extensão da casca, embora a razão disto não seja conhecida. Com o aumento da idade do lote o número de poros em cada ovo aumenta. Portanto, de acordo com as medidas dos poros pode-se notar que bactérias podem passar livremente pelos mesmos e, além disso, tem sido observado que mesmos fungos, os quais são consideravelmente maiores que as bactérias, podem passar através dos poros do ovo.

Apesar do fato de que os poros possam, sob o ponto de vista de barreira física, ser considerados como falhas estruturais do ovo, existem ainda muitas dúvidas quanto ao fato de que eles representam a única e mais importante porta de entrada de microorganismos. Recentes estudos têm demonstrado uma correlação positiva entre defeitos de casca específicos e penetração bacteriana (Nascimento, 1992). Especificamente, estes defeitos se constituem como formas aberrantes de cristais tais como aragonita, calcita cúbica e corpos arredon- dados tipo “B” que são caracteristicamente encon- trados em ovos de aves jovens ou estressadas.

### Cutícula da casca

Em qualquer análise das taxas de penetração de bactérias em ovos é muito importante levar em conta a presença da cutícula. Esta é a camada estrutural mais externa do ovo e é composta por glicoproteínas. Normal- mente, esta cutícula esten- de-se para dentro dos poros para formar um tampão, o qual é bastante efetivo na prevenção da entrada de microorganismos. Embora a cutícula seja permeável à gases (principalmente via pequenas rachaduras em sua superfície), a simples presença de uma cutícula madura confere à casca do ovo uma efetiva barreira contra a absorção de água. Estudos utilizando micro- grafia eletrônica de varredura têm demonstrado o fato de que

a cutícula forma uma cobertura externa no ovo, geralmente cobrindo os orifícios dos canais dos poros e, deste modo, protegendo o ovo contra uma entrada de água excessiva e inundação do interior do ovo.

A espessura da cutícula varia de 0,5 a 12,8 $\mu$ m (média de 10 $\mu$ m) e um peso expressado como aproximadamente 0,2% do peso do ovo. A cutícula de ovos marrons é mais espessa do que a de ovos brancos e, a medida que o lote envelhece, a cutícula torna-se mais fina.

A estrutura física da cutícula muda imediatamente após a postura do ovo e pode ter um papel importante na susceptibilidade do ovo à invasão por microorganismos. Em um ovo recém posto, a cutícula parece úmida e após aproximadamente 3 minutos assume uma aparência seca. Áreas do ovo nas quais a cutícula está ainda úmida apresentam a maior taxa de penetração de microorganismos. Estudos sobre a incidência de contaminação bacteriana de ovos não eclodidos têm demonstrado claramente que as taxas de contaminação são muito maiores (40%) naqueles ovos que apresentam uma cutícula de má qualidade estrutural quando comparadas com as taxas observadas (26%) em ovos com cutículas de boa qualidade estrutural. É importante notar que a deposição da cutícula sobre o ovo é raramente uniforme e, freqüentemente, grandes áreas porosas da casca estão desprovidas de cutícula. Em poedeiras comerciais tem-se estimado que aproximadamente 3,5% dos ovos são postos sem cutícula e que aproximadamente 8% não apresentam cutícula em um de seus pólos.

A observação de que a deposição de cutícula diminui a medida que o lote envelhece tem sido confirmada em lotes de poedeiras comerciais e de matrizes pesadas e pode explicar a maior incidência de contaminação bacteriana em ovos postos por aves mais velhas. Vários outros fatores podem influenciar negativamente a qualidade estrutural da cutícula do ovo:

- Fumigação dos ovos.
- Temperatura de armazenamento.
- Linhagem genética.
- Variação individual entre aves em um mesmo lote.
- Lavagem dos ovos.
- Postura na cama do aviário.

A bactéria *Pseudomonas* tem a capacidade de digerir a cutícula do ovo. No entanto, esta atividade só é efetiva quando os níveis de umidade se aproximam de 100%. Outros organismos como *Alcaligenes bookeri* e *Streptomyces* spp são capazes de digerir a cutícula. Todos estes fatores contribuem significativamente para aumentar a possibilidade de transmissão bacteriana transcasca.

O fator crucial que determina se um ovo está ou não sujeito a sofrer invasão bacteriana através da casca não é o número de poros existentes no ovo, mas sim o número de poros não cobertos pela cutícula, através dos quais as bactérias podem, dependendo das condições, passarem a casca e se internalizar no ovo.

A importância da espessura da casca no processo de contaminação bacteriana não é muito clara. No entanto, independente da espessura da casca, qualquer tipo de rachadura ou fratura da casca do ovo aumentará significativamente as chances de passagem de microorganismos para dentro do



ovo.

## Membranas da casca

Cobrindo a parte interna da matriz da casca estão as membranas da casca. Estas compreendem três distintas camadas: as membranas externa e internas, as quais consistem de uma rede de fibras orientadas ao acaso e, uma terceira camada homogênea chamada de membrana limitante. Além do papel de proteção física da albumina contra a invasão bacteriana, as membranas estão envolvidas na difusão de gases respiratórios desde a membrana corioalantóide e no movimento de cálcio através da casca.

Das membranas da casca, a membrana interna é a mais importante no que concerne a barreira física contra a contaminação bacteriana por causa de sua composição estrutural. Membranas de ovos armazenados por longo tempo possuem menor resistência às bactérias. Este fato, provavelmente, é devido ao aumento do pH interno do ovo durante o armazenamento que pode resultar em uma hidrólise alcalina das proteínas da albumina localizadas no interstício das membranas e conseqüentemente maiores chances de uma rápida entrada de bactérias para o interior do ovo.

Estudos de microscopia eletrônica têm demonstrado que as membranas se tornam mais permeáveis após uma contaminação bacteriana indicando que algum tipo de atividade enzimática pode também estar envolvida no processo de penetração.

## Mecanismos químicos de defesa

Uma vez que os microorganismos tenham penetrado no tegumento do ovo, a viscosidade da albumina assegura que eles permaneçam localizados e, em ovos frescos, o trabalho combinado da chalaza e do saco albuminoso previnem o contato dos contaminantes com a gema.

A presença de ovotransferrina (conalbumina) na albumina assegura uma ação quelatante do ferro, constituindo-se em dos principais mecanismos de defesa contra o crescimento bacteriano. A habilidade das membranas em armazenar certas quantidades de ferro pode ser um problema, pois o excesso de ferro pode inativar grande quantidade de ovotransferrina e assim, auxiliar a penetração bacteriana.

A albumina possui um pH relativamente alto (9.5), o qual pode por si só ter um efeito deletério no crescimento bacteriano. Outras substâncias encontradas na albumina incluem a avidina, a qual combina-se com a biotina, e uma proteína a qual combina-se a riboflavina, deste modo, tornam estes elementos não disponíveis para o crescimento bacteriano. A lisozima presente na albumina hidrolisa os peptídeoglicans presentes na parede da célula bacteriana através da quebra da ligação existente entre o ácido murâmico e a glicosamina. Organismos Gram-negativos são geralmente considerados como resistentes à ação da lisozima, devido à presença de uma camada de lipoproteína na parede celular. E esta pode ser uma das principais razões pelas quais as bactérias Gram-negativas são abundantes em ovos deteriorados.

## **Fatores que afetam o desempenho reprodutivo**

Muitos fatores podem afetar o desempenho reprodutivo das aves domésticas de importância econômica para o homem. De um modo geral estes fatores ou situações clínicas ou nutricionais podem ser divididos como sendo de etiologia infecciosa e não infecciosa. A seguir são discutidos brevemente os principais fatores não infecciosos.

## Aporte de nutrientes

Conhecer o requerimento de nutrientes, tanto em quantidade quanto de qualidade, é um aspecto essencial para um desempenho reprodutivo normal de reprodutores fêmeas e machos. A informação acumulada ao longo dos anos após a realização de um grande número de experimentos e observações científicas tem sido compilada e transformada em recomendações técnicas específicas para cada nutriente. Estes requerimentos são sempre expressos como porcentagem da dieta ou como grama ou miligrama por quilograma da dieta. Embora esta informação seja crítica para o fabricante das dietas, já que ele deve suprir os nutrientes em uma quantidade específica da dieta, esta não é a melhor maneira de se analisar requerimentos nutricionais. As aves, como todos os animais, requerem quantidades absolutas de todos os nutrientes todos os dias. Se um desempenho reprodutivo ideal é esperado, é essencial que o consumo de alimento seja medido continuamente e a ingestão absoluta de nutrientes básicos calculada constantemente.

Energia, cálcio e proteína (ou aminoácidos) são os nutrientes mais críticos para os reprodutores. O aporte energético é o mais crítico de todos os nutrientes e, sem dúvida nenhuma, um ótimo balanço entre a real ingestão e a necessidade das aves quase sempre significa a diferença entre um bom e mau desempenho reprodutivo. Por causa das altas necessidades de manutenção, devido a um maior tamanho corporal, os requerimentos de reprodutoras pesadas, hoje em dia, são proporcionalmente muito maiores do aqueles de reprodutoras leves produtoras de ovos comerciais, embora o pico de produção de ovos de reprodutoras pesadas seja menor. Como fator complicador de um programa de nutrição para reprodutoras adultas existe a influência da temperatura ambiental pelo seu efeito muito forte na necessidade de aporte energético para manutenção. Isto traz um grande complicador quando é necessário formular dietas para aves criadas em climas quentes. Como já é bem determinado hoje situações de estresse calórico na verdade aumentam as necessidades de energia das aves. Ou seja, em regiões de clima quente, os técnicos devem estimular o consumo energético das aves em uma situação em que elas naturalmente diminuiriam o consumo de energia.

O ponto de partida para técnicos formulando dietas para reprodutoras deve ser a tabela de requerimentos nutricionais suprida por cada empresa de melhoramento genético para utilização com seus produtos (reprodutoras avós ou matrizes). Estas recomendações específicas, que de modo geral visam maximizar o potencial reprodutivo e vida útil das reprodutoras cada linhagem, devem ser discutidas (e se necessário modificadas) entre os técnicos da empresas de melhoramento genético e técnicos do sistema de produção específico onde as aves serão criadas. As razões para a realização de possíveis modificações nos requerimentos nutricionais devem-se a um número de fatores relacionados com os lotes de aves a serem criadas tais como: idade, potencial genético, sexo, nível de saúde, estágio de produção. E outros relacionados com o meio ambiente criatório das aves tais como: clima regional (temperatura e umidade) e tipo de instalações e equipamentos utilizados.

Os requerimentos nutricionais do macho têm recebido pouca atenção em comparação aos das

fêmeas, sendo muito comum os machos serem alimentados com dietas que são formuladas para fêmeas. Alguns estudos têm demonstrado que os processos metabólicos utilizados pelos machos para a excreção do excesso de aminoácidos presentes em dietas formuladas para maximizar produção de ovos pelas fêmeas, causam um grande aumento na concentração plasmática de ácido úrico. Este excesso de ácido úrico, por sua vez, desabilita muitas aves pela formação de gota crônica nas articulações. Pesquisas têm demonstrado que a proporção de machos que ejacula em resposta à massagem abdominal é maximizada quando estes machos ingerem em torno de 10g de proteína por dia. Esta quantidade é aproximadamente a metade do que uma ave ingeriria ao ser alimentada com dietas formuladas para fêmeas em postura. Apesar destes efeitos deletérios da ingestão de excesso de proteína na concentração plasmática de ácido úrico e na diminuição no número de machos com esperma-togênese ativa, as características do sêmen daqueles machos ativos não são afetadas pelo excesso de proteína. No entanto, em função do fato de que machos que consomem menos proteína ejaculam mais freqüentemente, a produção de sêmen durante sua vida produtiva excede em muito àquela de machos consumindo maiores quantidades de proteína.

### **Tetania hipocalcêmica**

Uma condição intimamente associada ao processo reprodutivo, que vem crescendo rapidamente em importância em países com avicultura industrial avançada, e que afeta drasticamente o desempenho reprodutivo do rebanho via alta mortalidade de matrizes, é a tetania hipocalcêmica. A tetania hipocalcêmica refere-se à paralisia e morte causada por uma diminuição do nível de cálcio na corrente sangüínea em reprodutoras pesadas. Uma condição similar é observada em poedeiras leves sendo chamada de “fadiga de gaiola” bem como aquela observada em vacas leiteiras e chamada de “febre do leite”.

As aves afetadas começam a apresentar dispnéia e mais tarde tornam-se letárgicas e imóveis antes de morrerem. O aparecimento da doença é geralmente aguda, não se notando qualquer mudança na produtividade do lote até o início da sintomatologia.

Esta condição normalmente é observada em fêmeas jovens entre 25 e 30 semanas de idade. Durante este período, a produção de ovos por ave ao dia aumenta rapidamente e, neste caso, é seguida por um aumento súbito na taxa de mortalidade semanal. Esta pode passar de um normal de 0,2 a 0,3% para até 1 a 2% por semana. Após atingir o pico de produção, a sintomatologia diminui gradualmente.

Durante as primeiras horas do dia (logo após as luzes são acesas no aviário) que geralmente os sintomas clínicos são observados a medida que as aves estão tentando completar a formação da casca do ovo presente no útero. Se as reservas de cálcio forem insuficientes, uma queda nos níveis de cálcio circulante no sangue eventualmente causará paralisia e morte da ave por falha cardíaca e respiratória. Na realização da necropsia serão observados sinais de asfixia (cristas cianóticas, congestão pulmonar e de outros órgãos e coloração escura dos músculos cardíaco e esquelético). Normalmente, não será observada qualquer outra lesão patológica significativa. A ave apresentará um ovário plenamente funcional e a presença de um ovo no útero com a casca parcialmente formada. Isto indica que a ave utilizou todo o cálcio disponível no sangue na tentativa de completar a formação da casca do ovo apesar do risco à sua própria vida. A hipocalcemia tetânica é mais comum em lotes desuniformes, os quais são alimentados com dietas com altos níveis de cálcio nas semanas anteriores ao início da produção de ovos e que são

estimulados a entrar em produção rapidamente via aumentos no fotoperíodo e na quantidade de alimento oferecida por dia. Lotes que são alimentados com dietas pré-postura e postura contendo níveis de cálcio de 1,5, 2 e 3%, respectivamente, durante o período de 20 a 22 semanas de idade e que iniciam a postura na primavera ou verão, tendem a apresentar maior incidência de hipocalcemia tetânica.

O consenso entre nutricionistas e veterinários de aves é que a alimentação de aves jovens, que estão próximas, mas ainda não entraram em produção, com dietas muito altas em cálcio poderá influenciar negativamente os sistemas metabólicos necessários para a absorção e transporte ativo do cálcio requerido para a formação da casca. Além disso, acredita-se que a presença de níveis excessivos de cálcio antes do início da produção de ovos pode causar uma resposta fisiológica direcionada à eliminação deste excesso. E, uma vez então iniciada a produção de ovos, muitas aves são incapazes de reverter este processo o que resultará em uma falta aguda de cálcio exatamente quando as aves precisam mais, isto é, durante a formação da casca do ovo.

### Prevenção da tetania hipocalcêmica

- Uma vez que esta condição é essencialmente causada por uma falta de cálcio disponível para as funções fisiológicas normais, seria normal pensar em aumentar os níveis de cálcio na dieta para uma preparação para o início da postura. No entanto, como já mencionado, deve-se ter extrema cautela para a tomada de decisão de quando começar a administrar às aves uma dieta alta em cálcio. Estudos ainda estão sendo realizados para se determinar o melhor momento para a troca da dieta pré-postura (1 a 1,5% cálcio) pela dieta de postura (3% cálcio). Experiências de campo têm mostrado que o risco de ocorrência de hipocalcemia tetânica pode ser bastante minimizado quando o lote de fêmeas é mantido em dieta de pré-postura até que a produção de ovos por fêmea ao dia atinja 5%.
- O lote deve ser manejado para atingir o máximo de uniformidade corporal possível. Isto deverá auxiliar a uniformidade da maturidade sexual entre a grande maioria das aves e, deste modo, a demanda por cálcio deverá ser similar entre elas.
- O tamanho das partículas da fonte de cálcio sendo usada na ração também é um aspecto importante. Pequenas partículas tal como as encontradas em pó de calcário calcítico ( $\text{CaCO}_3$  – carbonato de cálcio) passarão muito rapidamente pelo trato digestivo e a ave pode não conseguir extrair o suficiente para suas necessidades. Partículas maiores de cálcio do mesmo composto (calcário calcítico moído grosso ou mesmo farinha de ostras mais grossa) serão retidas por mais tempo na moela das aves. Isto permitirá uma liberação e gradual do cálcio que entrará no trato digestivo para absorção e aumentará o tempo durante o qual a ave está recebendo cálcio oriundo da dieta. Infelizmente, fontes de cálcio em pequenas partículas são as preferidas quando as dietas de reprodutoras são peletizadas para evitar danos aos equipamentos.
- Mudando-se a hora de alimentação do lote para o meio da tarde (e mantendo ainda tempo suficiente para limpeza) asseguraria que as aves teriam suficiente cálcio quando elas necessitam mais, ou seja, à noite durante a formação da casca do ovo. No entanto, esta mudança no manejo da alimentação criaria alguns outros problemas de manejo em geral que poderiam ser causadores de problemas de produção. Como medida preventiva e muito mais prática, tem sido recomendada a suplementação para as aves com farinha de ostras (colocadas em bandejas na cama) durante a tarde. Esta suplementação deve começar

paralelamente ao início da produção de ovos.

- A temperatura ambiental é outro fator importante. Alguns fatores relacionados com altas temperaturas podem contribuir para a ocorrência de mudanças no metabolismo do cálcio:
  - a) as aves tenderão a beber mais água quando a temperatura estiver acima de sua zona de conforto. Deste modo, o alimento passará mais rápido através do trato digestivo diminuindo assim o tempo disponível para a extração do cálcio da dieta.
  - b) Aves em estresse calórico normalmente diminuem seu consumo de alimento diminuindo assim ainda mais a quantidade de cálcio absorvível no trato digestivo.
  - c) Em altas temperaturas as aves normalmente apresentam taquipnéia numa tentativa de aumentar a dissipação de calor produzido em seu organismo. Isto diminui os níveis de dióxido de carbono no sangue. Este, por sua vez, é o provedor de íons bicarbonato os quais, juntamente com o cálcio, são necessários para a formação da casca do ovo.

### Diagnóstico e tratamento

É muito importante observar o lote de aves durante as primeiras horas da manhã (normalmente ao serem alimentadas) para obter-se uma indicação clara de sua condição clínica. Em lotes que apresentam sintomas e lesões de tetania hipocalcêmica é comum encontrar, horas após o arraçamento, aves que quando examinadas parecem ter sido agredidas e mortas por outras aves.

A taxa de mortalidade e outros sinais podem ser drasticamente diminuídos quando as aves são tratadas com 5g de farinha de ostras por fêmea por três dias consecutivos mais suplementação com vitamina D via água de bebida. É muito importante que a farinha de ostras seja bem distribuída sobre o alimento das aves.

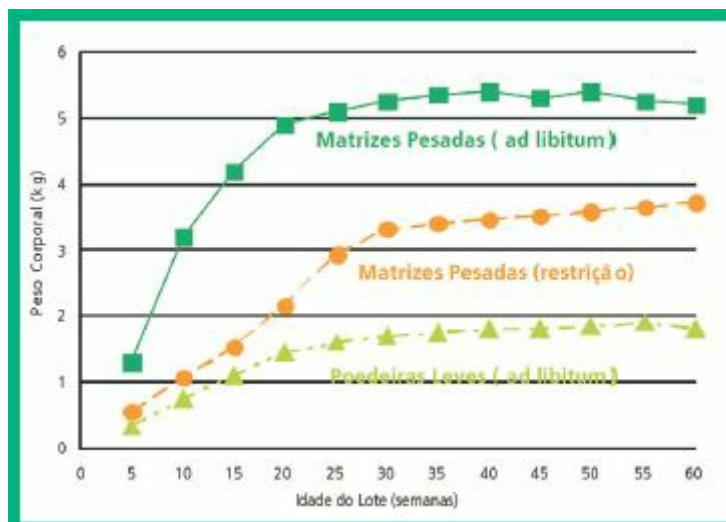
Após três dias de tratamento é necessário suspender o mesmo por três dias antes de ser repetido. Casos severos podem requerer tratamento contínuo (três dias sim, três dias não) por duas a três semanas. Para repetição ou não do tratamento é necessária uma análise detalhada da taxa de mortalidade semanal e da presença de lesões compatíveis com esta condição.

### Condição corporal

Matrizes pesadas pertencem a um tipo de aves comerciais das quais extremos fisiológicos são esperados e procurados. No caso de matrizes leves (poedeiras de ovos comerciais) espera-se que ponham aproximadamente 300 ovos por ano, o que, sendo estas aves de pequeno tamanho corporal, não é uma expectativa muito exigente. Por outro lado, espera-se que os frangos para abate de alta conformação muscular (progênie de matrizes pesadas) cresçam o mais rapidamente possível. Destes, não é esperado que nenhum processo reprodutivo ocorra já que são abatidos muito antes da maturidade sexual. Reprodutores pesados (machos e fêmeas) devem ser alimentados e manejados de maneira que seu potencial reprodutivo (produção de sêmen, produção de ovos, fertilidade e eclodibilidade) seja maximizado, enquanto ao mesmo tempo sua progênie deve apresentar o máximo desempenho para as características zootécnicas de importância na indústria de carne de aves (rápida taxa de crescimento, alta eficiência alimentar, alta deposição de músculo nas coxas, sobrecoxas e peito).

Existe uma grande correlação negativa entre peso corporal e eficiência reprodutiva em aves domésticas. Esta grande correlação é facilmente demonstrável quando se compara o tipo de aves

comerciais de importância econômica existentes hoje, ou seja, matrizes pesadas para a produção de frangos de corte e matrizes leves ou poedeiras comerciais para a produção de ovos de mesa. Estes dois tipos de aves representam extremos opostos em termos de peso corporal e eficiência reprodutiva. São facilmente observáveis as diferenças extremas em termos de curva de peso quando se compara poedeiras leves com matrizes pesadas alimentadas à vontade (ad libitum; [Figura 15](#)). Nas últimas quatro décadas, melhorias genéticas muito significativas foram realizadas nas linhagens comerciais de matrizes no que se refere ao desempenho de crescimento. Isto fez com que o desafio de manter a produção de ovos incubáveis destas aves em níveis economicamente factíveis se tornasse uma tarefa extremamente difícil. Deste modo, matrizes pesadas não somente devem ter alto potencial genético para uma taxa de crescimento rápida e eficiente, bem como devem ser capazes de reproduzir de maneira apropriada.



**Figura 15** - Curvas de peso corporal típicas para poedeiras leves brancas alimentadas ad libitum (triângulo; adaptado de Cotta, 1997), matrizes pesadas em restrição alimentar de acordo com padrões da linhagem (círculo; Cobb, 2005) e matrizes pesadas alimentadas ad libitum (quadrado; adaptado de Yu *et al.*, 1992b).

Teoricamente e, sob o ponto de vista do produtor de ovos incubáveis, esta situação só tende a se tornar pior, a medida que os geneticistas continuam a selecionar as linhagens de matrizes pesadas para um crescimento cada vez mais rápido e eficiente e maior apetite.

Os protocolos de manejo de reprodutoras pesadas são continuamente revisados e atualizados com o objetivo de maximizar a produção de ovos. Estes protocolos têm como alvo diminuir os efeitos da correlação negativa peso corporal versus produção de ovos e fazer com que as matrizes pesadas se comportem tanto quanto possível como uma poedeira leve.

A correlação negativa entre peso corporal e eficiência reprodutiva é exacerbada quando matrizes pesadas são alimentadas à vontade. Estas aves alcançarão a maturidade sexual com pesos corporais acima de 5kg ([Figura 15](#)) e começarão a pôr ovos mais cedo (21 a 22 semanas de idade). Por meio de um programa de restrição alimentar antes da maturidade sexual (o qual é específico para cada linhagem genética e deve ser fornecido ao produtor no momento do alojamento do lote) este peso à maturidade sexual é reduzido para aproximadamente 3kg ([Figura 15](#)) e o início de produção de ovos ocorre mais tarde (24 a 25 semanas de idade).

A ineficiência reprodutiva de matrizes pesadas alimentadas à vontade se traduz por menor produção de ovos, má qualidade da casca do ovo, maior número de ovos de duas gemas, mortalidade relacionada com obesidade (prolapso do trato reprodutivo ocasionado pelo grande número de ovos de duas gemas ou excesso de gordura intrabdominal, fígado gorduroso), infertilidade e perdas embrionárias ([Tabela 12](#)). O excesso de energia que é consumido pelas aves com alimentação à vontade é depositado como gordura abdominal, lipídeos hepáticos e excesso de desenvolvimento de folículos ovarianos. Deste modo, as fêmeas se tornam obesas e sua taxa de reprodução declina em torno de 30% ([Tabela 12](#)).

**Tabela 12** - Influência da condição corporal (ditada pelo manejo da alimentação) no desempenho reprodutivo de matrizes pesadas (adaptado de Robinson et al., 1993\* [alimentação ad libitum de 22 a 64 semanas de idade somente] e Yu et al., 1992a,b\*\* [alimentação ad libitum toda a vida das aves]).

	Tipo de Alimentação	
	Ad Libitum	Restrita
Produção Total de Ovos**	122	177
Produção Total de Ovos*	136	176
Pico de Postura (%)**	65	84
Postura Errática (%)***	41	13
Idade ao Primeiro Ovo (dias)**	156	174
Peso Corporal às 62 Semanas de Idade (kg)**	4,92	3,43
Peso Corporal às 62 Semanas de Idade (kg)*	4,31	3,66
Conteúdo de Gordura na Carcaça às 62 semanas de idade (%)*	34	27
Duração da Sequência de Postura mais Longa (dias)*	15	24
Ovos Defeituosos (%)**	33	5
Ovos de Duas Gemas (%)**	18	2
Fertilidade (%)**	78	92
Eclodibilidade (%)**	80	94

\* Postura ocorrendo fora do período normal (primeiras 10 horas após as luzes serem acesas).

Os exatos mecanismos fisiológicos responsáveis pelo relacionamento entre condição corporal e desempenho reprodutivo são ainda desconhecidos. Algumas observações científicas têm indicado que as concentrações plasmáticas de LH são menores em aves alimentadas à vontade durante a recria. Embora com menores níveis circulantes de gonadotropinas, fêmeas alimentadas à vontade apresentam um número de folículos hierárquicos maiores do que aquelas aves em alimentação restrita. Em contraste, fêmeas que apresentam maiores níveis de LH durante a recria são reputadas como reprodutoras de maior prolificidade. Em parte, estes resultados contraditórios podem estar relacionados com a composição corporal das aves. Vários pesquisadores têm defendido a tese de que tanto o conteúdo de tecido magro quanto o conteúdo de gordura jogam importante papel para a estimulação do início da postura. Matrizes pesadas que são alimentadas à vontade são dependentes de uma idade crítica para iniciar a reprodução. Já aquelas fêmeas com alimentação restrita, as quais iniciam a reproduzir mais tarde, são dependentes de um peso corporal e conteúdo de gordura na carcaça críticos para iniciar a reprodução.

A interação entre peso corporal e desempenho reprodutivo é bem menos definida para machos. Alguns dos problemas de infertilidade em machos relacionados com alto peso corporal estão claramente identificados e são muito mais de natureza física do que fisiológica (obesidade causando problemas de pés e pernas e conseqüentemente dificultando locomoção e atividade de monta). Machos muito grandes têm problemas de ordem anatômica para alcançar contato entre cloacas no momento da monta. A freqüência de montas não é afetada pela obesidade.

Sob o ponto de vista fisiológico pouca informação existe quanto ao efeito do peso corporal no desempenho reprodutivo de machos. Machos alimentados à vontade das 22 a 30 semanas de idade

mostram uma tendência a um maior peso testicular e a um maior número de aves com produção ativa de sêmen às 30 semanas de idade quando comparados com machos em restrição alimentar. No entanto, ambas características se mostram invertidas entre ambos os grupos em estágios mais tardios da vida produtiva, indicando que se uma alimentação à vontade por curto espaço de tempo pode melhorar um pouco a produção de sêmen, os efeitos da obesidade em longo prazo serão negativos.

O maior tamanho corporal e o enorme apetite de reprodutores de corte machos têm levado ao desenvolvimento de complexos sistemas de manejo que tem por objetivo atingir um balanceamento entre as forças opostas da agressividade, dimorfismo sexual, fome e comportamento sexual. Quando a alimentação é restrita e tanto machos quanto fêmeas têm acesso igual ao alimento oferecido, os machos famintos dominam as posições junto ao comedouro, consomem muito mais do que a quantidade alocada para eles e terminam tendo seu desempenho reprodutivo diminuído pelos efeitos da obesidade. Por esta razão, sistemas de alimentação separados para machos e fêmeas durante a fase de produção têm sido desenhados e são hoje utilizados em praticamente 100% dos sistemas de produção de frangos de corte da moderna avicultura industrial. Também durante a recria, machos e fêmeas são criados separadamente, o que elimina o problema de competição pelo alimento. A alimentação separada, e consequentemente melhor controle do peso corporal de machos e fêmeas de linhagens de corte, constitui uma das maiores realizações no campo do desenvolvimento de técnicas de manejo que visam incrementar o desempenho reprodutivo de reprodutores de linhagens de corte para a produção de frangos de abate.

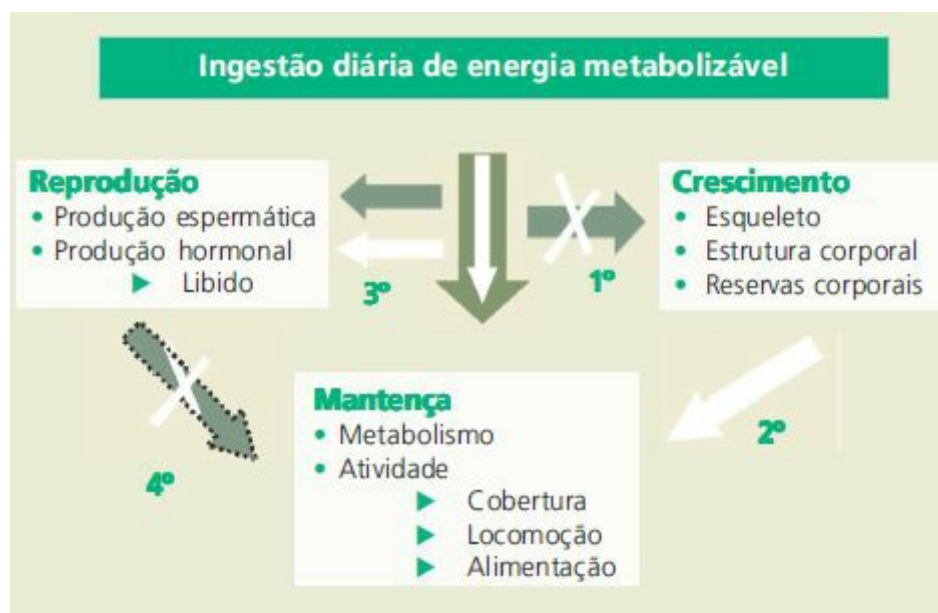
É bastante conhecido o fato de que a medida que o peso corporal aumenta existe uma necessidade de um aumento na alocação da energia metabolizável (EM) diária. Um aumento gradual de peso corporal é uma boa indicação de que os machos estão sendo mantidos em um balanço nutricional positivo apropriado. Uma perda de peso corporal (crescimento negativo) pode representar uma deficiência EM enquanto um grande aumento de peso corporal pode significar um excesso na alocação de EM. Para que este conceito seja bem entendido é necessário entender-se a partição da energia diária ingerida. A EM ingerida diariamente é utilizada primariamente para a manutenção do metabolismo básico e certas atividades (alimentação, atividade sexual). Uma quantidade menor, mas criticamente importante, da ingestão diária de EM vai para a manutenção do crescimento corporal e processos da reprodução. Na Figura 16 estão representados os principais aspectos de um exemplo de como o peso corporal de um macho poderia ser aumentado devido à uma diminuição na alocação da quantidade diária de alimento.

Assumindo um macho com 4,8kg de peso corporal às 40 semanas de idade, o qual não tem qualquer acesso ao comedouro das fêmeas, cuja quantidade diária de alimento é de 130g (370 kcal de EM). Supondo-se que a quantidade diária de alimento seja diminuída para 125g (325 kcal de EM) porque foi detectado que o macho estava acima do peso padrão recomendado para sua linhagem. Este entrara então em crescimento negativo por que mobilizara reservas corporais para compensar pela diminuição de alimento e conseguir manter seu processo reprodutivo. Em determinado momento, as reservas corporais serão usadas completamente e a reprodução será afetada negativamente, resultando em parada da atividade sexual devido a redução na produção de testosterona. Ao ocorrer estes processos o peso corporal deste macho começara a aumentar novamente, mesmo com uma menor alocação de alimento diário, porque o consumo de energia via



atividade sexual foi interrompido. Associada a esta diminuição na produção de testosterona observa-se o aparecimento de muda que freqüentemente ocorre entre 40 e 50 semanas de idade. Ao examinar estes machos encontra-se uma redução na quantidade e firmeza do músculo do peito. Isto ocorre porque os machos têm pouca gordura corporal e o músculo branco do peito (glicolítico) constitui uma importante reserva de energia que pode ser utilizada durante períodos de deficiência nutricional. É importante estar atento para o fato de que as fêmeas podem estar roubando um pouco do alimento dos machos e consequentemente auxiliando neste processo. Pequenos aumentos semanais na alocação de alimento diário para os machos ajuda a prevenir este problema. O programa de alimentação e ganho de peso corporal de cada linhagem genética deve ser seguido à risca.

Quando a ingestão de EM é adequada (flechas negras), esta EM flui primariamente para atender os processos de manutenção e também para reprodução e crescimento, resultando em um crescimento lento, função reprodutiva adequada e queima de energia via atividade sexual. Quando a ingestão de EM é inadequada (flechas brancas), a EM disponível para manutenção é reduzida de tal modo que o crescimento é sacrificado (10). As reservas corporais são convertidas em energia (20) por mecanismos tais como a glicogênese que permitira alguma função reprodutiva (30) ainda continue. Quando as reservas corporais forem exauridas ocorrerá então uma ainda maior redução na atividade reprodutiva (30) de modo que a libido é diminuída e a atividade sexual cessa quase que completamente (40). Esta redução no gasto de energia via atividade reprodutiva leva a um paradoxal aumento de peso corporal.



**Figura 16** - Ilustração de um cenário de uma possível partição da ingestão diária de Energia Metabolizável (EM) por um macho de matrizes pesadas em situações de manejo de suficiente (flechas negras) e deficiente (flechas brancas) alocação diária de EM (veja texto para descrição).

## Uniformidade

A uniformidade de tamanho corporal é provavelmente o fator individual mais importante o qual possa limitar o desempenho reprodutivo de um lote de matrizes pesadas (altos picos de produção).

O termo uniformidade é normalmente utilizado com referência ao número de aves em um lote com

peso corporal similar. A uniformidade de um lote medida em termos de peso corporal absoluto não é o que realmente importa. A uniformidade de pesos corporais é fácil de ser medida. Na verdade, uniformidade de um lote deveria expressar condição corporal ou estágio metabólico, ou ainda, maturação reprodutiva. No entanto, não existe qualquer método que seja de rápida execução e repetível sempre que necessário, para medir a uniformidade de condição corporal em aves em recria. Em condições ideais, a mensuração de condição corporal deveria incluir medidas essenciais tais como:

- Crescimento do ovário.
- Crescimento do oviduto.
- Conteúdo de gordura no fígado.
- Estrutura dos ossos pélvicos.
- Nível de deposição de músculos na carcaça.
- Níveis circulantes de hormônios esteróides.

Obviamente, estas mensurações são inviáveis na prática tanto pela complexidade das técnicas em si como pela necessidade de utilização de técnicas invasivas para a coleta de amostras. As razões para a utilização de medidas do peso corporal como indicativo da condição corporal das aves é o fato de que o peso corporal é facilmente mensurável e, além disso, apresenta boa correlação com idade à maturidade sexual.

A maioria dos técnicos de campo afirma que é necessário que a ave atinja um limite mínimo de peso corporal para atingir a maturidade sexual. Esta afirmação é correta e tem sido ilustrada em experimentos realizados recentemente. Um lote de matrizes pesadas recriadas dentro de uma variação normal de peso às 20 semanas de idade foi dividido em três grupos de aves com pesos corporais e conteúdo de lipídeos na carcaça diferentes e foram monitorados para o início de sua atividade reprodutiva (**Tabela 13**).

<b>Tabela 13</b> - Efeito do peso corporal (PC) e conteúdo de lipídeos na carcaça no tempo necessário até a postura do primeiro ovo após a foto-estimulação (adaptado de Robinson, 1998).			
<b>Grupos</b>	<b>Peso Corporal (g)</b>	<b>% de Lipídeos na Carcaça</b>	<b>Dias até Primeiro Ovo Pós Foto-Estimulação</b>
PC baixo	1639	6,3	51,4
PC padrão	1995	8,9	38,4
PC alto	2394	10,1	26,9

As aves de menor peso corporal são atrasadas em maturidade sexual, enquanto aquelas mais pesadas mostram uma bem mais rápida maturação sexual. Em geral, neste estudo, observa-se uma variação de 24,5 dias desde a fotoestimulação das aves até a postura do primeiro ovo. Este tipo de variação pode causar sérios problemas de produtividade do lote tais como uma entrada em produção desuniforme e baixo pico de produção. Uma entrada em produção desuniforme significa que as aves, individualmente, alcançarão sua seqüência de postura mais longa em diferentes momentos. Deste modo, cada ave apresentará o seu pico de produção em idades cronológicas

diferentes daquelas de suas companheiras de lote.

Portanto, durante a recria do lote, as aves devem seguir o padrão de peso recomendado pelo manual de sua linhagem com a menor variação possível. Estes padrões de peso podem variar significativamente entre linhagens e devem ser fornecidos ao produtor quando do alojamento do lote.

## Idade do lote

A taxa de produção de ovos é reduzida a medida que as aves envelhecem (**Figuras 1 e 8**). Pesquisas conduzidas nos últimos 25 anos têm indicado que esta diminuição no desempenho reprodutivo das fêmeas é devido à:

- Aumentada incidência de atresia folicular.
- Redução na taxa de maturação folicular.
- Alterações na sensibilidade do hipotálamo à retroalimentação hormonal causada pelos níveis de esteróides.
- Diminuição no comprimento das seqüências de postura e conseqüente aumento no número de primeiro ovo de cada seqüência os quais são menos viáveis que os subseqüentes ovos da mesma seqüência.

Ja, a fertilidade do lote declina com a idade em função de problemas com os machos (**veja item Ovário**). Quando a inseminação artificial é usada, a fertilidade mantém-se alta mesmo em lotes com idade avançada. A freqüência de coberturas e a libido dos machos também declinam com a idade.

Os primeiros ovos produzidos por matrizes pesadas são pequenos e não eclodem muito bem. Os pintos de um dia produzidos por estas aves são pequenos e podem apresentar alta mortalidade inicial. Tem sido sugerido que pelo menos dois a três dias são necessários após uma fêmea atinge sua maturidade sexual para ele possa produzir ovos com todos os componentes essenciais para a nutrição do pinto.

Problemas de eclodibilidade com ovos oriundos de matrizes jovens podem ter alta relação com mortalidade embrionaria na primeira e última semana de incubação. Perdas nestas fases da incubação não são normalmente relacionadas com problemas de nutrição. No entanto, embora a mortalidade na segunda semana de incubação, a qual é normalmente relacionada com problemas nutricionais, não seja muito afetada em embriões oriundos de matrizes jovens, é reconhecido que algum componente nutricional esta envolvido na mortalidade embrionaria, em ovos incubaveis oriundos de fêmeas jovens. Algumas evidências, embora não definitivas, para o envolvimento da nutrição nas características reprodutivas de aves jovens são:

- Deficiências vitamínicas têm sido implicadas como causa de mortalidade embrionaria em ovos de matrizes jovens.
- Baixos níveis de biotina em ovos têm sido demonstrados como fator negativo para a viabilidade e crescimento inicial dos pintos. O conteúdo de biotina dos ovos aumenta com tempo e estima-se que este conteúdo somente atinge níveis normais após as aves terem posto 10 a 12 ovos.

- Um baixo nível de ingestão de energia tem efeito negativo na eclodibilidade de matrizes jovens.
- Tem sido demonstrada redução na taxa de mobilização de lipídeos desde a gema para o interior do saco da gema e do fígado de embriões oriundos de aves jovens quando comparados com embriões produzidos por aves mais velhas.
- Em ovos de matrizes jovens o conteúdo de fosfolipídeos e colesterol é menor do que o encontrado em ovos de aves velhas.

A diminuição de fertilidade e a eclodibilidade aumenta a medida que se aproxima o fim do ciclo de reprodução de um lote de reprodutoras. A exata razão pela qual isto ocorre permanece ainda desconhecida. Na maioria dos estudos o efeito da idade da ave nunca pode ser separado dos efeitos de outros fatores que mudam com a medida que a ave envelhece, tais como tamanho do ovo, qualidade e porosidade da casca do ovo. Outras possíveis causas desta diminuição do desempenho reprodutivo com a idade são a reduzida habilidade das aves em armazenar espermatozoides nos túbulos armazenadores localizados no oviduto, bem como o fato de que o oviduto passa a produzir anticorpos contra os espermatozoides.

### Programa de estímulo luminoso (ou Programa de Luz)

O objetivo principal de um programa de luz ao qual o lote é submetido é controlar e estimular a maturação sexual (desenvolvimento de ovário, oviduto e testículos) para que esta ocorra na época desejada e assegure a manutenção do desempenho reprodutivo das aves. A maioria das espécies aviárias são reprodutores sazonais e seu ciclo reprodutivo é controlado por mudanças no comprimento do dia (número de horas de luz em cada período de 24 horas = fotoperíodo).

Através de efeito direto no hipotálamo, onde a energia da luz é convertida em transmissões neurais, o estímulo luminoso é responsável pelo controle da produção hormonal (LHRH, LH e FSH) e conseqüentemente, responsável pela ovulação na fêmea e espermatogênese no macho. Este processo não ocorre até que o hipotálamo da ave esteja funcionalmente maduro, ou seja, capaz de responder ao estímulo luminoso e aos mecanismos de retroalimentação hormonal. Esta maturação hipotalâmica, em combinação com outros estímulos metabólicos, é crítica para que as aves jovens alcancem sua maturidade sexual após o estímulo luminoso iniciado entre 18 e 23 semanas de idade. Em função do fato de que a duração do fotoperíodo e a intensidade da luz são bastante variáveis entre diferentes regiões geográficas, torna-se necessário manipular o estímulo luminoso ao qual as aves serão submetidas para assegurar um estímulo efetivo que propicie a máxima produtividade e longevidade do lote.

As aves não são, na realidade, estimuladas constantemente durante toda a duração do fotoperíodo, mas sim, durante apenas dois momentos muito importantes deste período. As aves são sensibilizadas inicialmente no momento em que as luzes são acesas e 11 a 13 horas mais tarde. Este último período é chamado de fase fotosensitiva e, essencialmente, vai determinar se a ave perceberá o dia como um dia longo ou curto. Um dia curto não é estimulatório, enquanto que um dia longo irá iniciar e manter o fluxo hormonal que controla a ovulação e a espermatogênese. Portanto, se as aves perceberem estímulo luminoso durante a fase fotosensitiva, a qual acontece de 11 a 13 horas após o início do dia natural (amanhecer) ou após as luzes serem acesas, o ovário torna-se funcional. Este padrão de amanhecer natural e anoitecer natural ou luzes são acesas e luzes são apagadas controla o ritmo circadiano (a cada 24 horas) das aves, o qual é

essencialmente um relógio biológico inerente à ave. Em criações comerciais, normalmente a duração do fotoperíodo ao qual as aves são submetidas é controlado e manipulado artificialmente de modo que a fase fotosensitiva é relativa e não fixada pela hora dos relógios. A **Tabela 14** apresenta o relacionamento de diferentes fotoperíodos com a fase fotossensitiva da ave e, deste modo, indicando se o fotoperíodo será ou não estimulatório para a reprodução.

<b>Tabela 14</b> - Exemplos de fotoperíodos e como eles se relacionam com o período fotosensitivo das aves.				
Hora do Dia	Comprimento	Periodo	Estimulatório	
Luzes sao Acesas	Luzes sao Apagadas	do Dia	Fotosensitivo para Reprodução	
06:00h	14:00h	8h	Nao	17-19:00h
06:00h	16:00h	10h	Nao	17-19:00h
06:00h	18:00h	12h	Sim	17-19:00h
08:00h	18:00h	10h	Nao	19-21:00h
08:00h	21:00h	13h	Sim	19-21:00h
05:00h	19:00h	14h	Sim	16-18:00h

Se as luzes estiverem acesas durante a fase fotossensitiva, então o estímulo luminoso será estimulatório para a reprodução. Embora seja muito comum que se tenha iluminação contínua desde o momento do amanhecer artificial (luzes são acesas) até o anoitecer artificial (luzes são apagadas), isto não é essencial. Após a estimulação inicial ao amanhecer o dia pode ser interrompido por períodos de escuro. Programas deste tipo são comumente usados para poedeiras leves alojadas em galpões totalmente fechados (controle total da iluminação). Este conceito não tem sido ainda testado em matrizes pesadas. Talvez seja uma situação muito extrema para se

manter uma ótima atividade sexual (coberturas) no entre machos e fêmeas. No entanto, é uma linha de pesquisa que vale a pena ser testada uma vez que a economia com eletricidade e alimento são significativas.

Sob o ponto de vista prático, o fotoperíodo estimulatório mínimo é de 12 horas. Existem pouquíssimos benefícios e aumentar-se este fotoperíodo para mais de 16 a 17 horas. Portanto, se as aves em recria estão em situação ideal de condição corporal para a idade, então, teoricamente, o ideal seria submetê-las a um mais forte estímulo luminoso inicial. Se ao contrário as aves estão desuniformes e em má condição corporal a fotoestimulação deve ser atrasada.

Outro fator muito importante que deve ser considerado para a decisão de quando fornecer estímulo luminoso para as aves em final de recria é a qualidade dos pintos de um dia oriundos destas matrizes jovens. Quanto mais cedo se estimula as aves, maior será o número de ovos férteis pequenos que serão postos. Estes ovos produzirão pintos pequenos, com poucas reservas nutricionais, altamente propensos a problemas clínicos de desuniformidade em desempenho de crescimento e mais suscetíveis à desafios por patógenos existentes no sistema de produção onde estão sendo criados ou à desafios causados por pela utilização de uma nutrição marginal (níveis de nutrientes no limite mínimo ou abaixo deste). Na prática, normalmente estes fatores estão atuando conjuntamente e então causando grandes prejuízos econômicos, principalmente à indústria de frangos para abate em frigoríficos.

É absolutamente essencial que os produtores sigam as recomendações das empresas de genética produtoras das linhagens de aves comerciais quanto ao melhor programa de luz a ser aplicado aos seus respectivos produtos. Estes programas irão variar de acordo com o tipo de instalações e região geográfica onde as aves serão alojadas bem como com potencial reprodutivo da linhagem em questão. Tentativas de desenvolvimento (sem metodologia e embasamento científico) de programas de luz alternativos podem resultar em desempenhos reprodutivos catastróficos.

A maioria dos lotes de matrizes pesadas, hoje em dia, é criada em galpões abertos com cortinas de modo que o padrão natural de dia e noite influencia tanto a taxa e a persistência de produção de ovos e espermatozoides. O padrão luz e escuro tem duas grandes influências em reprodutores. A primeira é na idade à maturidade sexual e, a segunda, na duração do período de reprodução. De um modo geral, aceita-se que aves imaturas não podem ser expostas a um aumento do fotoperíodo enquanto após a maturidade sexual, as aves não podem ser expostas à uma diminuição deste mesmo fotoperíodo. Estes são os dois objetivos principais de qualquer programa de iluminação e são alcançados via a utilização de instalações (galpões) com ambiente controlado, que podem ser totalmente fechadas ou apenas sombreadas (normalmente com a utilização de cortinas ou redes de sombrite) e pela suplementação com luz artificial.

A medida que o lote envelhece as aves vão se tornando refratárias ao estímulo luminoso. Uma ave na fase de fotorefratoriedade é aquela em que o estímulo luminoso não mais consegue estimular uma produção hormonal apropriada (LHRH e gonadotropinas) durante a fase fotosensitiva. Isto leva a um declínio gradual na produção de ovos a medida que a refratariedade aumenta. Um aparecimento precoce de aves fotorefratárias, embora mais comum em perus, também pode ocorrer em matrizes pesadas. Algumas observações de campo indicam que esta condição pode ser mais comum em linhagens de alta conformação as quais produzem frangos com alto potencial genético para a deposição de carne. Aves refratárias cessarão a postura e não reiniciarão até que

ocorra um processo de involução reprodutiva, perda de peso corporal e exposição à fotoperíodos curtos por 10 a 12 semanas. Este processo parece reorganizar o sistema hormonal da reprodução para níveis normais. Acredita-se que os mesmos sinais que estimulam o início da postura também, eventualmente, estimulam o início do período de refratariedade. Uma diferença principal é que comprimento do fotoperíodo necessário para estimular a reprodução é mais curto do que aquele necessário para estimular a refratariedade. No caso de linhagens genéticas as quais sejam conhecidas como mais suscetíveis à refratariedade, o uso de um programa de luz mais marginal (11 a 12 horas de luz) pode ser benéfico em limitar o aparecimento de fotorefratariedade.

Alguns resultados de pesquisa com poedeiras leves têm indicado que a utilização de luzes de alta intensidade (46fc ou 495lux) pode acelerar o processo de fotorefratariedade. Esta alta intensidade de luz induz as aves a alcançarem o pico de produção muito rapidamente, mas a persistência de produção de ovos diminui bem mais rapidamente do que naquelas aves submetidas à uma intensidade 10 vezes mais baixa (4,6fc ou 49,5lux). Uma área onde a refratariedade pode ocorrer é durante o processo de atresia folicular precoce. Uma ave refrataria não teria suporte hormonal suficiente para manter uma hierarquia folicular. Novos programas de luz sendo testados nos quais se utiliza um fotoperíodo crescente durante a fase de produção tem tido sucesso na prevenção de fotorefratariedade em lotes de perus. Pesquisas semelhantes estão neste momento sendo conduzidas com matrizes pesadas.

A intensidade da luz utilizada em programas de iluminação para aves comerciais é um aspecto muito importante para o sucesso destes programas. O papel chave da intensidade da luz está relacionado com a percepção de dia ou noite pela ave. Aves domésticas parecem necessitar de uma diferença mínima de 10 vezes na intensidade da luz entre o dia e a noite para perceber esta mudança apropriadamente. Como 0,04fc (0,43lux) é assumido como não distinguível do escuro total, parece razoável assumir-se que um mínimo de 0,5fc (5,4lux) é necessário para que as aves distingam entre noite e dia e gerem uma resposta estimulatória à reprodução apropriada. Uma vez que as aves sejam capazes de distinguir entre noite e dia, a diferença de intensidade da luz provida pela iluminação natural comparada com iluminação artificial não é considerada como um aspecto crítico. No entanto, o fato de se reduzir as diferenças de intensidade de luz do fotoperíodo via utilização de fontes de luz mais brilhantes tem sido relatado como benéfico para a indústria avícola.

Enquanto as linhagens de poedeiras leves parecem ser praticamente insensíveis à muitos dos efeitos da iluminação, os efeitos da intensidade da luz podem ser significativos para matrizes pesadas. As modernas linhagens de poedeiras leves são tidas como mais tolerantes às diferenças de intensidade de luz. Talvez por seu potencial genético de manter a postura a qualquer custo. Entretanto, matrizes pesadas parecem ser mais sensíveis àqueles fatores que afetam negativamente a produção de ovos. Recentes estudos demonstram que embora aves jovens estimuladas com dois diferentes níveis de intensidade de luz (0,9fc e 9,2fc ou 9,7lux e 99lux) alcançassem a maturidade sexual em tempos similares e com também similares condições corporais, àquelas aves estimuladas com maior intensidade de luz iniciaram produção 2,5 dias mais cedo e apresentavam uma média 0,5 folículos grandes a mais no ovário. Os efeitos negativos de uma insuficiente intensidade de luz no desenvolvimento folicular têm sido determinados como persistentes durante a fase de produção das aves ([Tabela 15](#)).

Tabela 15 - Características do ovário e de produção em aves estimuladas com diferentes intensidades de luz

(Cortesia de Dr. Frank Robinson, Universidade de Alberta, Canada, 1999).

Intensidade da Luz Ovario (g) Amarelos Grandes Ave/Dia Seqüência de Postura (dias) semanas de idade

Intensidade da Luz	Peso do Ovario (g)	No de Foliculos Amarelos	Produção de Ovos Totais (%)	Comprimento da Ovos Totais (mm)
1,1 lux	30,9 b*	6,79 b	82,5% b	28,4
5,4 lux	32,5 ab	7,44 ab	85,9% a	43,6
49,5 lux	36,1 a	8,34 a	86,8% a	53,5
499 lux	31,5 b	7,59 ab	85,2% ab	49,1

1,1 lux      30,9 b\*      6,79 b      82,5% b      28,4  
b                      142 b

5,4 lux      32,5 ab      7,44 ab      85,9% a      43,6  
ab                      148 a

49,5 lux      36,1 a      8,34 a      86,8% a      53,5  
a                      150 a

499 lux      31,5 b      7,59 ab      85,2% ab      49,1  
a                      146 a

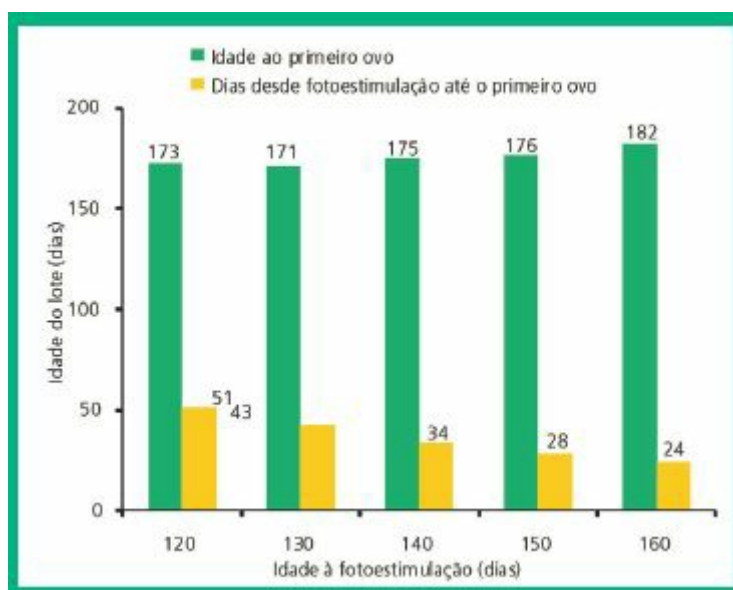
\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma colunas são estatisticamente diferentes.

A idade mais apropriada para a fotoestimulação de aves em final de recria tem sido já há muitos anos uma preocupação em qualquer sistema de produção de aves em todo o mundo. Recentes estudos têm demonstrado que os dois fatores mais críticos na escolha da idade à fotoestimulação são a condição corporal das aves e a uniformidade do lote. Estes fatores podem ser ajustados simplesmente por meio de mudanças na idade do lote à fotoestimulação. Existem indicações científicas de uma vantagem significativa quando se atrasa o momento da fotoestimulação, isto é, ela é feita a idades mais velhas do lote de aves jovens. Robinson *et al.* (1996) fotoestimularam matrizes pesadas jovens aos 120, 130, 140, 150 ou 160 dias de idade e, embora a diferença de 40 dias na idade à fotoestimulação houve somente 9 dias de diferença na idade ao primeiro ovo (**Figura 17**). A medida que a idade à fotoestimulação aumentou o intervalo entre a estimulação e a maturidade sexual diminuiu. Isto se deve provavelmente ao fato de que a gordura corporal das aves aumentou com a idade independente da fotoestimulação e aquelas aves que estavam magras tiveram sua puberdade atrasada. Atrasar a idade à fotoestimulação causa as aves a entrarem em produção mais rápido e mais uniformemente sem qualquer prejuízo à produção de ovos. Outros



possíveis e importantes aspectos positivos que favorecem o atraso para a fotoestimulação são:

- Maior tamanho de ovo no início de produção.
- Maior uniformidade no tamanho de ovos ao início de produção.
- Melhor qualidade de pintos de um dia produzidos por matrizes jovens.



**Figura 17** - Efeito da idade à fotoestimulação na idade ao primeiro ovo e no número de dias desde a fotoestimulação até o primeiro ovo.

Outra das importantes vantagens em atrasar a fotoestimulação é que isto oferece uma boa chance de melhorar a uniformidade de condição corporal das aves. Aquelas aves mais maduras são impedidas de entrarem em produção e as mais atrasadas continuam seu desenvolvimento, deste modo, um número maior de aves começam a produzir ovos ao mesmo tempo. Uma rápida entrada em produção implica em uma alta uniformidade de condição corporal. Estes lotes têm maiores chances de serem mais produtivos bem como são mais fáceis de serem manejados já que a necessidade de alimentação das aves é praticamente a mesma. Recentes resultados de pesquisa (Noddegaard *et al.*, 2000) indicam que a fotoestimulação inicial das fêmeas de um lote em final de recria pode ser atrasada até a idade de 313 dias sem prejuízo à resposta hormonal ou desempenho reprodutivo das aves. No entanto, este mesmo estudo indica que os machos podem não responder apropriadamente a um atraso tão longo para a fotoestimulação.

Uma gama de perguntas ainda permanece sobre a estimulação à reprodução em aves e necessitam pesquisas científicas bem desenhadas para serem respondidas e permitir aos produtores maximizar o potencial reprodutivo de suas aves. Entre estas dúvidas estão:

- Existe qualquer mudança no período aberto de liberação de LH a medida que as aves envelhecem?
- Existe qualquer diferença entre genótipos no que concerne ao período de tempo disponível para ovulação ocorrer?
- Comprimento de onda da luz afeta o estímulo à reprodução?
- Comprimento de onda da luz afeta a taxa de maturação folicular (tamanho da seqüência) e consequentemente a produção total de ovos?
- A intensidade de luz afeta o declínio em desempenho reprodutivo relacionado com a idade

(fotorefratariedade)? Se isto ocorre, existe uma mínima e máxima intensidade de luz a ser utilizada?

- A fotorefratariedade é responsável pelas taxas de maturação folicular mais vagarosas associadas com a idade do lote?
- É possível estimular-se matrizes pesadas durante a fase de produção via aumentos no fotoperíodo como um meio de diminuir a fotorefratariedade?
- Se o fato de re-fotoestimular as aves pode realmente melhorar a taxa de maturação folicular, existe uma idade ótima para se fazer este manejo?
- Existem realmente diferenças em termos de desempenho reprodutivo em geral das aves entre programas de luz em um único passo (8 horas de luz por 16 horas escuro para 15 horas de luz por 9 horas escuro) quando comparado com um foto período gradual?

## Glossário

Com intuito de padronização de definições, apresenta-se um pequeno glossário com a terminologia mais comumente utilizada em discussões na área de reprodução e estímulo de luz na criação de aves domésticas.

**Ciclo circadiano** → Um ciclo biológico que ocorre a cada período de 24 horas. Em galinhas, o período aberto de liberação de LH é definido pela hora percebida pela ave como anoitecer (ou quando as luzes são apagadas).

**Ciclo ovulatório** → Período de 24 a 28 horas caracterizado pela secreção hormonal pré-ovulatória, ovulação, formação do ovo e postura.

**Dia de Pausa** → Dia em que não ocorre a postura de um ovo e que é o separador entre as seqüências de postura. As aves utilizam este dia para realinhar o processo de maturação folicular com o período circadiano aberto de secreção de LH.

**Fase fotosensitiva** → É o período que ocorre entre 11 e 13 horas após o amanhecer para as aves (natural ou quando as luzes são acesas). A ave necessita detectar luz suficiente neste período para que a reprodução seja estimulada.

**fc (“footcandle”)** → Unidade de medida de iluminação normalmente usada em situações quando as unidades métricas internacionais não são utilizadas (pés em vez de centímetros). Um fc é a iluminação existente em uma superfície de um pé quadrado de área na qual é uniformemente distribuído o fluxo de um lúmen. É igual a um lúmen por pé quadrado de área. Equivale a 10,76lux.

**Folículo** → Estrutura do ovário que contém uma gema de um ovo em potencial. Os folículos podem ser de pequeno tamanho ou estar em crescimento no ovário. Normalmente, os grandes folículos com gema amarela estão organizados em uma hierarquia de acordo com seu tamanho (diâmetro). São chamados de folículos hierárquicos.

**Fotorefratário** → Termo utilizado para indicar uma condição na qual o fotoperíodo existente não provê estímulo adequado para manter o processo reprodutivo funcionando. Aves fotorefratárias param de pôr ovos e normalmente não recomeçarão a postura até que elas passem por um período

de involução reprodutiva e re- desenvolvimento.

**Fotoperíodo** → É o número de horas de luz e de escuro que as aves são expostas durante um dia. Durante a recria um fotoperíodo típico seria de 8 horas de luz e 16 horas de escuro (8L:16E) e durante a fase de produção um fotoperíodo típico seria de 15 horas de luz e 9 horas de escuro (15L:9E).

**Fotoestimulação** → É o processo de prover um estímulo de luz apropriado às aves para sinalizar a entrada à puberdade. Normalmente, é realizada através do processo de mudar as aves de um fotoperíodo de 8 horas de luz para um de pelo menos 11 horas de luz. Este processo somente será efetivo se as aves em recria estiverem acima dos limites mínimos de idade e peso ou condição corporal.

**Hipotálamo** → Uma pequena área localizada na base do cérebro que contém grupos de células especializadas produtoras de “mensageiros internos” (hormônios) que controlam um vasto número de processos fisiológicos do organismo, incluindo a reprodução.

**Intensidade de luz** → É o quão brilhante a luz é percebida ao nível dos olhos das aves. Não está relacionada com comprimento de onda ou cor da luz.

**Lúmen** → Unidade de fluxo luminoso do sistema métrico internacional

**Lux** → Unidade de medida de iluminação usada quando se utiliza as unidades métricas internacionais (centímetro, metro). Um lux é a iluminação existente em uma superfície de um metro quadrado de área na qual é uniformemente distribuído o fluxo de um lúmen. É igual a um lúmen por metro quadrado. Equivale a 0,0929fc.

**Maturidade sexual** → É momento da postura do primeiro ovo na vida da ave, quando então o ciclo normal de postura é iniciado. Sob o ponto de vista de lote de matrizes a maturidade sexual pode ser definida como dia médio ao primeiro ovo ou idade à 5% de produção ou ainda idade à 50% de produção.

**Ovário** → Órgão produtor de oócitos (óvulos imaturos) da galinha. Somente o ovário esquerdo desenvolve-se nas fêmeas das aves domésticas. Embora, eventualmente o ovário direito possa também desenvolver-se e ser funcional.

**Oviduto** → Órgão tubular no qual ocorre a fertilização do óvulo e a formação do ovo. É único e corresponde ao ovário esquerdo das fêmeas das aves domésticas. É composto, no sentido crânio-caudal, pelo infundíbulo, magno, istmo, glândula da casca ou útero e vagina.

**Ovulação** → É o processo de liberação de um óvulo contido em um folículo pré-ovulatório maduro (F1) para dentro do infundíbulo (oviduto) em resposta à uma secreção adequada de LH a qual, por sua vez, está na dependência de uma adequada secreção de progesterona pelo um folículo pré-ovulatório maduro (F1). Ocorre durante o período aberto de secreção de LH.

**Ovulação interna** → Uma aberração do processo de ovulação na qual um folículo pré-ovulatório maduro (F1) libera o óvulo que não é coletado pelo infundíbulo e termina se localizando na cavidade abdominal. Este óvulo nunca se torna um ovo com casca.

**Período aberto de secreção de LH** → Um período de aproximadamente 6 a 8 horas de duração durante o qual ocorre a secreção pré-ovulatória de LH. Este período é paralelo e o fator que limita o período de postura durante o dia.

**Postura** → Também às vezes chamada de oviposição ou ovopostura. É o processo de expulsão de um ovo completamente formado através da vagina e cloaca nas fêmeas das espécies aviárias.

**Postura interna** → É uma aberração na formação do ovo na qual um ovo (membranoso ou com casca parcial ou completa) não é expelido pela vagina em um processo normal de postura. Ao contrário, o ovo é transportado de uma maneira inversa através do oviduto saindo pelo infundíbulo e sendo depositado na cavidade abdominal da ave. Estes ovos podem permanecer na cavidade abdominal por um longo período de tempo.

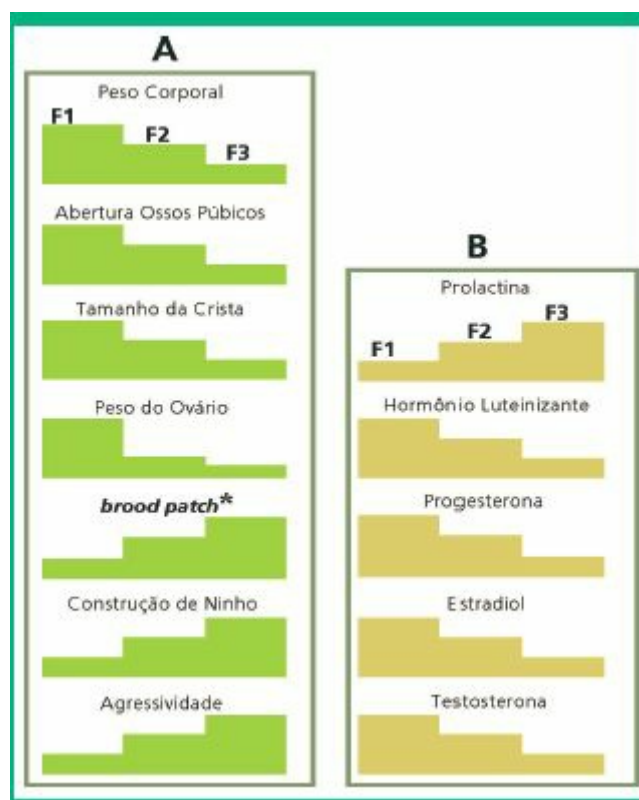
**Seqüência de postura** → Um período de dias sucessivos de postura de um ovo por dia. Geralmente, os ovos são postos um pouco mais tarde a cada dia durante uma seqüência porque o tempo de maturação folicular é geralmente maior do que um período de 24 horas. O último ovo de uma seqüência é posto em torno de 8 a 10 horas após a hora de postura do primeiro ovo da seqüência. As seqüências de postura são separadas por dias de pausa de postura. O tempo de duração (dias) das seqüências de postura tem alta correlação com a produção total de ovos.

**Seqüência principal** → É a seqüência de postura mais longa (número de dias sucessivos com a postura de um ovo por dia) que a ave apresenta. Normalmente ocorre ao redor da época de pico de produção.

### **Comportamento de incubação (choco)**

O choco (ou comportamento de incubação) é um fenômeno único e instintivo encontrado nas fêmeas de espécies aviárias. Ele é composto basicamente por dois estágios diferentes: a incubação natural dos ovos postos em uma seqüência de postura e o cuidado com os pintos após o nascimento. Ou seja, o choco é um instinto natural da galinha que a induz a parar a postura de ovos, sentar sobre os ovos no ninho e incubá-los.

Este comportamento está relacionado com mudanças fisiológicas dramáticas que são observadas nas fêmeas que estão em choco. A **Figura 18** ilustra as principais mudanças observadas nas aves desde durante o período de desenvolvimento do comportamento de incubação.



**Figura 18** - Mudanças relativas, maior (colunas mais altas) ou menor (colunas mais baixas), morfológicas/ comportamentais/fisiológicas (A) e hormonais (B) que ocorrem com a fêmea durante a passagem da fase de postura para o comportamento de choco (**fase F1** = em postura; **fase F2** = período de transição; e **fase F3** = comportamento de choco). \* área altamente vascularizada e sem penas na região do peito da ave que facilita a transferência de calor para os ovos sendo incubados.

Os sinais mais facilmente observáveis de choco são:

- Longos períodos dentro do ninho.
- Interrupção da postura de ovos.
- Redução na ingestão de alimento.
- Redução no peso corporal.
- Aparecimento de uma area altamente vascularizada e sem penas na região do peito da ave para facilitar a transferência de calor para os ovos sendo incubados (“*brood patch*”).

Este comportamento é comumente expresso por galinhas da raça bantam. No entanto, como o comportamento de incubação é uma característica herdável, após muitos e muitos anos de seleção genética para maior produção de ovos e/ou menor incidência de choco, sobre muitas gerações, este comportamento foi virtualmente eliminado das linhagens de poedeiras leves e muito reduzido em matrizes pesadas. Entretanto, a produção de perus é seriamente afetada por este fenômeno. Como a produção de carne é o único produto final da indústria de perus, as empresas de genética não tem posto muito ênfase em características reprodutivas. Na verdade, com o advento do processamento da carne de perus, a empresas de melhoramento genético desta espécie tem colocado um esforço maior na seleção para maior taxa de crescimento, maior deposição de músculos e menor conversão alimentar. Portanto, o relativamente pequeno desempenho reprodutivo das fêmeas de perus, parcialmente atribuído à incidência do comportamento de choco, permanece ainda um problema que causa sérias perdas econômicas à indústria de perus (aproximadamente US\$ 100 milhões por ano nos Estados Unidos apenas). As fêmeas de perus

tipicamente começam a expressar comportamento de choco logo após o pico de produção (terceira semana de produção). Em certas situações uma taxa de até 65% das fêmeas, em lote de perus, podem apresentar o choco se medidas preventivas não forem tomadas.

Os dados e observações científicas disponíveis indicam claramente que o comportamento de incubação em fêmeas das espécies avícolas domésticas é muito complexo, sendo uma combinação de muitos fatores hormonais, ambientais, sociais e nutricionais. O modo como estes fatores interagem para causar o aparecimento do choco em galinhas e fêmeas de perus não é ainda totalmente conhecido.

Existem basicamente três fatores principais envolvidos com o aparecimento do comportamento de choco nas fêmeas das espécies aviárias de importância comercial:

**Fatores hormonais.**

**Fatores ambientais, sociais e de manejo.**

**Fatores nutricionais.**

### **Fatores hormonais**

O início do aparecimento do comportamento de choco é muito bem correlacionado com uma diminuição nos níveis do hormônio liberador das gonadotropinas (GnRH), gonadotropinas (LH e FSH) e esteróides ovarianos e um grande aumento nos níveis de prolactina (**Figura 18**). O aparecimento do choco é também correlacionado com interrupção da ovulação e regressão ovariana.

Os altos níveis de prolactina encontrados em aves com comportamento de choco é o fator responsável pela redução nos níveis de gonadotropinas (LH principalmente) e pela regressão ovariana observados em nestas aves. No entanto, a diminuição nos níveis de LH é somente parcialmente controlada por altos níveis de prolactina.

A administração exógena de prolactina em aves em fase de postura induz interrupção da ovulação, regressão ovariana e comportamento de incubação. A prolactina age no sistema nervoso central para induzir o comportamento de incubação. A taxa de atividade de construção de ninho triplica em 24 horas naquelas aves injetadas com altas doses de prolactina e dentro de 3 a 4 dias a ave já apresenta comportamento completo de incubação. A prolactina age em conjunto com esteróides ovarianos ao início da indução do comportamento de incubação e depois que os níveis deste hormônio aumentam significativamente, ele se torna o fator principal para a manutenção do choco.

A secreção de prolactina está sob o controle do hormônio VIP (polipeptídeo intestinal vasoativo) e os níveis de LH sob o controle do LHRH-I (ou GnRH-I). Acredita-se que a produção e secreção de ambos hormônios liberadores, VIP e LHRH-I, no caso do comportamento de incubação, sejam afetadas por estímulos ambientais e sociais e, deste modo, iniciando a cascata de eventos hormonais que culminam com o aparecimento do choco.

### **Fatores ambientais, sociais e de manejo**

O tipo e qualidade do meio ambiente no qual as são criadas bem como as condições sociais sob

as quais as aves são criadas tem um efeito significativo na incidência de comportamento de choco. Fêmeas de perus criadas no chão apresentam taxas maiores de incidência de choco daquelas criadas em gaiolas. Também quando as fêmeas são mantidas em grupo a expressão de choco é bem maior do que naquelas mantidas individualmente. Este fato é associado com um maior ou menor nível de prolactina circulante na corrente sanguínea. O choco também pode ser induzido quando fêmeas são transferidas para boxes que contenham ninhos com ovos.

### Uniformidade do lote

Existe grande correlação negativa entre uniformidade do lote ao final da recria e incidência de choco. Aqueles lotes que se apresentarem desuniformes apresentarão as maiores taxas de choco. Aves nos extremos da população (grupo das leves e grupo das pesadas) são as candidatas preferenciais ao choco, principalmente por sua maior susceptibilidade à falta ou excesso de alimento e/ou estímulos de luz.

No entanto, é interessante notar que lotes com alta uniformidade também são susceptíveis ao aparecimento do choco. Estas aves iniciarão a produção de uma maneira rápida e concomitante e poderá surgir a ocasião onde parte da população se encontrara em situação de sub-alimentação e então, sob alto risco de desenvolvimento do comportamento de choco. Nesta situação de ocorrência de choco em lotes muito uniformes, um estímulo extra de alimento entre 5 e 35% de produção poderá ser de grande valia na prevenção do aparecimento do comportamento de incubação.

### Estresse calórico

Altas temperaturas ambientais é também um fator pré-disponente do choco importante. Aves em choco apresentam temperaturas corporais maiores do que o normal, portanto, ventilação deficiente e altas temperaturas dentro do ninho estimulam as aves a entrar em choco. Altas temperaturas podem também ocasionar um aumento nos requerimentos de cálcio pelas aves e, uma deficiência de cálcio, leva as aves a apresentarem comportamento de incubação.

### Estímulo de luz

O programa de luz utilizado e a intensidade da luz podem ter influência significativa na incidência de choco. A incidência de choco será bem maior em lote onde o programa de luz não estiver sincronizado com a condição corporal e manejo da alimentação. Em galpões totalmente fechados (estímulo de luz 100% controlado) a incidência de choco é menor. Em certas latitudes do planeta a incidência de comportamento de incubação nas fêmeas das espécies aviárias domésticas é maior do que em outras regiões, sugerindo que os padrões de iluminação natural nestas áreas pode estar influenciando tal comportamento nas aves. Quanto mais cedo for realizado o estímulo luminoso ao final da recria maior será a incidência de choco. Em galpões abertos, lotes de matrizes submetidas a um menor nível de intensidade na iluminação artificial (menor que 40lux) são mais susceptíveis a apresentar choco.

Níveis circulantes do hormônio VIP, o qual estimula a secreção de prolactina, mudam em resposta à mudanças no comprimento do fotoperíodo. Em perus, os níveis de secreção de prolactina indicam que este hormônio é preferencialmente secretado durante a fase de escuro do fotoperíodo.

## Manejo

A utilização de uma relação macho:fêmea muito grande durante o acasalamento aumenta o aparecimento de fêmeas em choco por causa do forte estresse causado nas fêmeas pelo excessivo número de machos presente. Isto normalmente ocorre naqueles sistemas de produção cujos criadores tem por habito utilizar um número inicial de machos maior do que o recomendado. Este fator afeta principalmente aquelas fêmeas que alcançam a maturidade sexual precocemente quando comparadas com a média do lote.

Uma maior taxa de choco em um lote em produção tera efeitos negativos diretos sobre a produtividade do lote. Os machos parecerão poucos ativos quanto ao comportamento de monta, quando na verdade o problema esta nas fêmeas que estão pouco receptivas.

Outros aspectos importantes para no aparecimento do choco são a pratica de uma coleta de ovos pouco freqüente e menor disponibilidade de ninhos. Linhagens anãs apresentam uma maior pré-disposição ao choco o que pode estar em parte relacionado com sua relutância em utilizar as bocas de ninho da parte superior.

Fatores sociais estão também envolvidos no término do comportamento de incubação. O choco natural nas galinhas termina quando o processo de incubação termina e os ovos eclodem. Neste momento, os níveis de prolactina caem rapidamente e aqueles de LH aumentam. Um dos mais importantes fatores que iniciam o fim do choco é a falta do contato físico da galinha com os ovos e/ou pintinhos. Isto tem sido demonstrado claramente através da mensuração dos níveis hormonais circulantes na fêmea. Quando os pintos são colocados em contato íntimo com as fêmeas seus níveis hormonais tornaram-se similares àqueles encontrados em aves em choco. O brood patch provavelmente auxilia na transferência do estímulo tátil causado por contato com os ovos ou pintinhos.

## **Nutrição**

Um dos mais notaveis efeitos do choco nas aves é a redução da ingestão de alimento e perda de peso das fêmeas. Em fêmeas de perus a redução na ingestão de alimento chega em torno de 90% da ingestão de fêmeas em postura. Este fato tem levado à especulação de que talvez o choco possa ser controlado através da manipulação da nutrição destas fêmeas. Embora alguns estudos indiquem que existe uma certa relação entre a composição da dieta das aves e uma redução nos índices de incidência de choco, medidas de ingestão de nutrientes realizadas em fêmeas de perus têm mostrado que nem a atenção dada ao ninho nem os níveis circulantes de prolactina são afetados por uma ingestão forçada de alimento quando as fêmeas estão incubando os ovos. Estas observações indicam que a prolactina parece não ser um fator controlador da ingestão de nutrientes pelas aves em choco, ou seja, sugerindo que outros mecanismos devem controlar este aspecto do comportamento de incubação.

Aquelas aves submetidas à situação de sub- alimentação quando o lote atinge o pico de produção são candidatas preferenciais a apresentarem choco. Esta situação ocorre quando o programa de alimentação não atende, com a velocidade necessaria, os requerimentos nutricionais de todas as aves do lote. Um incremento de alimento muito lento após os 5% de produção podera induzir ao choco, principalmente em lotes mais desuni- formes, pois as aves que alcançaram a maturidade



sexual mais precocemente poderão entrar em deficiência nutricional. Algumas observações de campo indicam que o nível da reserva de calcio parece ser um dos fatores que influenciam a entrada em choco pois aqueles lotes que iniciam a ingerir a ração de produção muito tarde parecem apresentar maiores índices de fêmeas em choco.

## **Estratégias para a redução dos efeitos do choco**

Produtores da indústria de perus têm desenvolvido técnicas de manejo com o objetivo de diminuir os efeitos do choco na produção de ovos das fêmeas de perus. No entanto, estas técnicas são muito trabalhosas e não eliminam completamente o problema. Portanto, muita pesquisa tem sido realizada na tentativa de se encontrar soluções mais definitivas. Tratamentos imunológicos estão sendo desenvolvidos e prometem uma redução dramática na incidência de choco no futuro próximo.

### Manejo do lote

Os procedimentos utilizados nas granjas comerciais de perus são desenhados para interromperem os estímulos do meio ambiente que permitem que o choco ocorra. As fêmeas são monitoradas para comportamento de incubação a partir da terceira semana de produção e o principal indicador utilizado é o tempo gasto dentro no ninho, especialmente em horas fora do período normal de postura, ou seja, no período da tarde. Estas aves são identificadas por observação contínua e ninhos alçapão também podem ser usados para verificar-se a frequência de visitas ao ninho e se ocorre ou não postura de ovos. Fêmeas suspeitas são removidas do lote para boxe individual com piso de areia ou telado de arame. É essencial que o novo ambiente não contenha nada que possa ser utilizado para a construção de um ninho. O comportamento de incubação é inibido nestas aves via estes procedimentos de manejo. Outros procedimentos que também tem surtido efeito positivo são transferir semanalmente as fêmeas em grupo para boxes onde os ninhos estão em diferente localização para diminuir a familiaridade do ambiente ou assegurar que os ninhos estejam sempre bem iluminados para desencorajar o uso prolongado.

### Seleção genética

A seleção genética baseada em maior produção de ovos tem tido muito sucesso em virtualmente eliminar a choco nas linhagens modernas de poedeiras leves e de diminuir significativamente a incidência em matrizes pesadas. Experimentalmente, esta mesma estratégia tem sido utilizada na seleção de perus. Em um experimento onde mais de 30 gerações foram selecionadas para maior produção de ovos, a incidência de choco foi diminuída em comparação com o grupo controle sem seleção para produção de ovos. No entanto, como peso corporal é negativamente correlacionado com produção de ovos, seleção para produção de ovos em perus fez com que grande parte do ganho genético para desempenho de crescimento adquirido, em prévia seleção, fosse perdido. Esta estratégia em perus poderia somente ser bem sucedida se linhas genéticas dedicadas de baixa incidência de choco fossem identificadas e utilizadas com bisavós. Desta maneira, o potencial genético para ganho de peso poderia ser retido e expressado pelas demais gerações.

### Manipulação hormonal

O fato já bem estabelecido de que altos níveis circulantes de prolactina estão intimamente

correlacionados com o aparecimento do comportamento de incubação tem levado ao desenvolvimento de tratamentos os quais tem por objetivo diminuir ou eliminar o choco através da diminuição dos níveis circulantes de prolactina. Experimentos com agentes direcionados à interrupção do metabolismo de produção da prolactina tem tido sucesso em controlar os níveis deste hormônio, mas não foram capazes de restaurar a atividade ovariana nas aves.

O controle imunológico do choco e da restauração da função reprodutiva tem se mostrado muito mais promissores e podem levar ao desenvolvimento de tratamentos comerciais efetivos em um futuro próximo.

Trabalhos experimentais iniciais com galinhas bantam, aves com alta incidência de choco, demonstraram que a imunização passiva contra o hormônio VIP (vasoactive intestinal polypeptide/ polipeptídeo intestinal vasoativo, que é o fator liberador de produção e secreção de prolactina) causou uma redução nos níveis circulantes de prolactina. A imunização passiva envolve a administração via injetável de antisoro (soro com altos níveis de anticorpos contra a substância em questão, o VIP, produzido em outra espécie animal) na corrente sanguínea das galinhas. Uma vez que a galinha injetada não irá produzir anticorpos ela mesma, o efeito somente durará em quanto durarem os anticorpos injetados. Estes anticorpos passivos podem durar de semanas a meses, mas de qualquer modo um período de tempo muito menor do que vida produtiva da galinha.

Ja um procedimento muito mais efetivo tem sido a imunização ativa das galinhas. Isto significa enganar o sistema imune das aves e fazer com que ele produza anticorpos ativamente contra uma proteína produzida pela própria ave. Este método tem sido usado para controlar os níveis de prolactina em galinhas bantams. Para fazer isto, os cientistas fundiram uma proteína de fusão com a molécula da prolactina aviária mais uma cadeia curta de aminoácidos obtida de proteína bacteriana. O fragmento da proteína bacteriana é o gatilho que inicia a resposta imune. Quando esta proteína recombinante foi usada para imunizar as galinhas bantams, elas produziram anticorpos ativamente contra a prolactina, não entraram em choco e mantiveram o nível de produção de ovos. E o comportamento de incubação foi inibido mesmo as aves sendo submetidas a estímulos ambientais desenhados para induzir o choco (iluminação, ninhos com ovos, alojamento em cama no chão). Eventualmente, estas aves apresentaram choco quando os níveis de anticorpos contra a prolactina reduziram-se a níveis abaixo de uma concentração mínima necessária.

Na indústria de perus, o objetivo comercial é imunizar ativamente as fêmeas em produção. A imunização passiva contra a prolactina pode efetivamente suprimir o choco nas fêmeas desta espécie. No entanto, a grande promessa vem da utilização da imunização ativa a qual eventualmente poderia resultar em imunidade efetiva e supressão de choco por toda a vida da ave com um único tratamento.

Estudos que testaram a imunização ativa de fêmeas de perus contra o hormônio VIP resultaram em:

- Redução dos níveis de prolactina.
- Redução na incidência de choco e, mais importante de tudo.
- Significativo aumento na produção de ovos.

Um dos problemas com esta estratégia é que o choco eventualmente retorna quando os níveis de

an- tiorpos diminuem. Os esforços agora estão dire- cionados no desenvolvimento de protocolos de imuni- zação que produzam uma imunidade mais duradoura (maior produção e duração de anticor- pos). O alvo é controlar os níveis de prolactina nas fêmeas de perus de uma maneira efetiva e por toda a vida da ave.

### Recomendações gerais para prevenção do choco em matrizes pesadas:

- Assegurar uma boa uniformidade do lote durante a recria e que esteja disponível espaço de comedouro suficiente durante toda a recria. Siga o manual da linhagem.
- Evitar super estimulação luminosa ao final da recria. Se o lote estiver muito desuniforme o programa de luz deve ser repensado. Siga o manual da linhagem.
- Introduzir ração de produção no momento correto e não manter a ração pré-postura por um tempo muito longo. A ração de produção deve ser em momentos diferentes de acordo com o potencial genético para maturação sexual (mais ou menos precoce) da linhagem genética sendo usada. Siga o manual da linhagem.
- Não permitir que ocorra sub-alimentação entre 5 e 55% de produção. Cuidado com machos ingerindo (roubando) o alimento das fêmeas.
- Não exagerar na relação macho:fêmea durante o acasalamento. Siguir o manual da linhagem.
- Em climas quentes, assegurar ventilação adequada e não permitir que o ambiente interno dos ninhos ou os próprios ninhos se torne muito quente.
- Assegurar que a relação número de fêmeas por ninho esta correta. Siga manual da linhagem.
- Coletar ovos pelo menos 5 a 6 vezes ao dia.

### Estresse calórico

Temperaturas elevadas, especialmente quando combinadas com umidade elevada podem reduzir drasticamente o desempenho de fêmeas em produção. Um ganho de peso inapropriado durante a recria, o qual pode ser resultado de um estresse calórico, podera ter importantes implicações no futuro desempenho reprodutivo da fêmea. Um estresse calórico durante a fase de postura causa aumento na mortalidade semanal, redução na ingestão de alimento, diminuição da produção de ovos e uma redução na qualidade da casca do ovo.

Além disso, ha possibilidade de aumento nas taxa de infertilidade, mortalidade embrionaria, baixa qualidade e viabilidade dos pintos.

Aves são homeotérmicas, ou seja, necessitam manterem sua temperatura corporal interna constante para manterem-se vivas. A temperatura corporal de uma matriz em produção é de aproximadamente 41°C, embora possa subir ligeiramente durante o dia e diminuir ligeiramente durante a noite. Uma elevação na temperatura corporal de 3 a 5°C é geralmente letal.

A energia do alimento ingerido pela ave é liberada na forma de calor, através de complexas reações bioquímicas relacionadas com a manutenção de tecidos corporais, atividade física, crescimento e produção de ovos. Um pouco do calor produzido sera necessario para manter uma temperatura corporal constante, porém, é essencial que qualquer excedente seja perdido para o ambiente. Quando a temperatura ambiental estiver relativamente fresca (temperatura interna do galpão até um maximo de cerca de 25°C) a ave consegue manter sua homeotermia através dos processos radiação, convecção e condução. Parte do calor é perdida pela evaporação da água,

através da pele.

Se as temperaturas continuam a subir, a capacidade de perder calor corporal por condução, convecção e radiação decresce e a ave começa a ofegar. A respiração ofegante permite uma perda de calor por evaporação de água, através do sistema respiratório. Um resfriamento evaporativo é a forma principal de regulagem da temperatura corporal em situações de estresse calórico. A capacidade da ave de perder calor, desta forma pode ser severamente limitada se o ar inalado estiver úmido demais. Assim, a combinação de temperatura e umidade elevadas é muito mais estressante para a ave do que alta temperatura isoladamente. Isto deve ser mantido em mente, ao se usar tecnologia de resfriamento evaporativo, para refrescar os galpões, em climas quentes. Nesta situação, deve ser tomado o cuidado para não permitir que a umidade relativa suba acima de 70%, porque a ave torna-se progressivamente mais estressada à medida que a resposta de resfriamento via aumento da taxa respiratória perde eficiência.

Uma ave exposta a uma temperatura ambiente acima de 27°C iniciará a ofegar permitindo evaporação de água a partir dos sacos aéreos e, em seguida, dos pulmões. Quando os pulmões se envolvem no processo, a crescente perda de dióxido de carbono sanguíneo leva a mudanças no equilíbrio ácido-básico e uma elevação no pH sanguíneo.

Em temperaturas ambientes de 32°C ou acima, uma ingestão reduzida de alimentos começa a ter um efeito adverso na produção. Em temperaturas ambientes de 38°C ou acima as aves começam a deitar no chão ficam prostradas, com dispnéia e ocorre um aumento na taxa de mortalidade principalmente das aves mais pesadas e obesas. Aves pequenas e jovens correm menos riscos. A mortalidade aumentará rapidamente, uma vez que a temperatura do galpão exceda 40°C.

Em resumo, o estresse calórico pode envolver algumas ou todas das seguintes alterações:

- Diminuição da ingestão de alimentos.
- Aumento do consumo de água.
- Atividade diminuída.
- Mudança na postura corporal.
- Vasodilatação periférica.
- Vibração do esôfago.
- Ofegação (taquipnéia ou dispnéia).
- Redução no peso dos ovos.
- Redução na produção de ovos.
- Redução na qualidade da casca do ovo.
- Redução da fertilidade.
- Aumento na mortalidade embrionária.
- Redução na eclosão.
- Piora na qualidade de pintos.
- Suscetibilidade a doenças aumentada.
- Mudanças no equilíbrio ácido-básico e pH sanguíneo.
- Prostração.
- Elevação da temperatura corporal.
- Alta taxa de mortalidade.

Conseguir uma boa produção durante os períodos de clima quente, requer a adoção de práticas de manejo cuidadosamente planejadas e implantadas antes do estabelecimento da situação de estresse calórico. Isto pode envolver simples abordagens, tais como a redução da densidade animal em 10%, aumento do número de bebedouros em 25%, colocação de poleiros para que as aves possam subir aproveitar melhor o ar circulante no galpão.

É importante procurar sempre atingir as metas de peso corporal correto e uniformidade. Aves com excesso de peso têm muito mais dificuldade na dissipação do calor corporal.

O desenho e distribuição dos ninhos devem permitir um fluxo máximo de ar no galpão.

O crescimento de fungos no alimento pode ser um problema em épocas de clima quente, particularmente quando acompanhadas por alta umidade. As medidas de controle incluem menor tempo de armazenamento de alimentos, inspeções regulares do sistema de alimentação para assegurar que restos de ração não estejam se sobrepondo e rancificando, esvaziamento e limpeza dos silos a intervalo regulares (mensais) e tratamento da ração com anti-fúngicos.

Uma das principais preocupações durante o período de clima quente é a de se evitar redução no consumo de alimentos. É recomendável utilizar-se abordagens ou estratégias que ajudem as aves a perderem calor e, assim, estimular a ingestão de alimentos. Ajustes nutricionais podem auxiliar, mas não podem corrigir totalmente os efeitos prejudiciais das altas temperaturas. Uma mudança na dieta pode se transformar em um estresse adicional e pode exacerbar os efeitos do estresse calórico e só devem ser utilizadas com um máximo cuidado e planejamento técnico. Uma recomendação prática é para aumentar a inclusão de suplemento vitamínico-mineral na ração em torno de 10 a 15%, para assegurar uma ingestão adequada de vitaminas e minerais nestas condições de menor ingestão de alimento.

As aves criadas corretamente sob iluminação controlada, isto é, em galpões fechados ou escurecidos, as quais iniciem a postura na idade desejada, sofrem menos o estresse calórico do que as aves que ainda não estão sexualmente maduras recriadas em galpões abertos. Um peso corporal ligeiramente menor é recomendável para aves em produção sob condições de estresse calórico.

O consumo de água aumenta durante o período de clima quente. Um suprimento contínuo de água fresca é essencial em épocas de estresse calórico para repor a água perdida através do aumento da taxa respiratória. Um monitoramento regular deve ocorrer para assegurar que todos os bebedouros estejam funcionando apropriadamente. Uma limpeza regular por descarga (pelo menos duas vezes ao dia) do sistema de bebedouros, ajudará a manter a temperatura da água baixa e, assim, estimulará as aves a beber. Bem como também ajudará a remover depósitos de alimentos de dentro dos bebedouros, que poderiam dar origem à fermentação de fungos, proliferação de bactérias e crescimento de algas em situações de temperaturas altas. O número de bebedouros deveria ser aumentado para aumentar a chance de que as aves bebam mais água. É preferível utilizar-se bebedouros que permitam as aves a molhar barbelas e cristas ao beber. Outra prática recomendável é a adição de gelo à água para estimular o consumo. Todo cuidado deve ser tomado se as aves estiverem sendo medicadas via água para que não ocorra uma superdosagem pelo excesso de ingestão de água durante este período.

Aumento de temperatura ambiental, como visto durante o verão, pode ter efeitos negativos sérios nas taxas de fertilização de varias espécies animais, incluindo as aves domésticas. As células básicas envolvidas na produção e formação de espermato-zóides são bastante termosensitivas. Observações de campo têm demonstrado que machos jovens (18 semanas de idade) são susceptíveis ao estresse calórico. Machos mais velhos são menos susceptíveis e também se recuperam mais rapidamente. Temperaturas de verão muito altas podem impactar na taxa de fertilidade de um sistema de produção por varios meses. Nestas situações, os únicos remédios são a adoção de praticas de resfriamento ambiental e substituição de parte dos machos do plantel.

## O macho

### Fertilidade

A fertilidade do macho é melhor avaliada através da coleta manual de sêmen e subsequente avaliação laboratorial e inseminação artificial. De um modo geral considera-se que os problemas de fertilidade do macho se devem basicamente a dois fatores principais:

- Comportamento (frequência e qualidade) da cópula ou monta.
- Aporte nutricional diario ou obesidade.

Quando os machos encontram-se em um peso ideal e estão sendo alimentados com dietas de qualidade e na quantidade apropriada, a frequência de cópulas efetivas é o mais importante fator determinante da taxa de fertilidade destes machos. Machos pertencentes às modernas linhagens genéticas de matrizes pesadas são conhecidos por expressar um comportamento sexual (ou comportamento de côrte à fêmea) muito menor do que aquele demonstrado por machos de 15 a 20 anos atras ou quando comparados com os machos das linhagens de poedeiras leves de hoje e dia. Existem evidências de um relacionamento negativo entre o comportamento de côrte e a agressividade dos machos. Este aspecto é especialmente relevante com relação aos machos com alto potencial de deposição de músculos das modernas linhagens comerciais de corte. Sem a realização do comportamento normal de côrte, o que ocorre é que os machos simplesmente montam as fêmeas, permanecem em cima delas agarrando-se em suas cristas ou pescoços sem que na realidade ocorra um acoplamento das cloacas. Deste modo, este processo não é efetivo sobre o ponto de vista reprodutivo. Observações experimentais indicam que os machos podem realizar até em torno de 20 destas montas falsas”por dia. Acredita-se que tal atividade de monta é devida ao fato de os machos estarem estabelecendo sua dominância sobre os outros machos dentro da hierarquia do lote. Sabe-se que o número de machos que estão produzindo esperma ativamente em um dado lote é bastante menor do que o número estimado pela avaliação visual das aves (condição corporal e características fenotípicas). Algumas estimativas experimentais indicam que não mais do que 60% dos machos de um lote são os responsaveis pela taxa de fertilidade do lote. Infelizmente, estes machos não podem ser selecionado por uma simples inspeção visual porque aquelas aves em ambos extremos hierarquia social podem ser ineficientes sob o ponto de vista reprodutivo. Os machos menores são ineficientes por sua inabilidade de segurar as fêmeas e os machos maiores, embora possam ser muito ativos, podem ser ineficientes devido à uma técnica de monta inapropriada. Os machos “médios” de um dado lote são provavelmente os responsaveis pela mantença da fertilidade do lote. Dependendo de seu desenvolvimento corporal e programa de luz implantado, alguns machos são capazes de produzir esperma ja às 12 semanas de idade. No entanto, este sêmen produzido precocemente é raramente viavel e uma efetiva maturidade sexual

somente ocorreria ao redor das 18 semanas de idade.

A composição da dieta dos machos e o nível de alimentação podem ter um efeito dramático e absoluto na taxa de fertilidade ([veja também itens Aporte de nutrientes e Condição corporal](#)). Tanto a super quanto a subalimentação irão causar reduções na produção de sêmen. Existem evidências muito boas mostrando que a taxa de produção espermática de um macho será maximizada quando as aves ingerirem dietas com níveis de proteína (ou de aminoácidos) muito menores que aqueles utilizados para as fêmeas. Tais dietas podem conter níveis de proteína tão baixos quanto 9 a 10%, embora normalmente elas contenham em torno de 12 a

13% de proteína. A obesidade em machos é negativamente correlacionada com produção de sêmen e, mais importante, com uma fraca atividade sexual (frequência de coberturas). Esta obesidade é geralmente causada por uma superalimentação ou, mais especificamente, pode estar relacionada a um excesso de ingestão de proteína ou energia. Dietas de alta proteína (maior ou igual 16% de proteína bruta) geralmente irão causar um excesso de desenvolvimento muscular, especialmente naqueles machos de linhagens com alto potencial genético para deposição de carne. Este efeito por si só já causa problemas para atingir um controle de peso corporal apropriado nos machos. Esta maior deposição de músculo é sempre acompanhada também por uma maior deposição de gordura corporal. Se os machos forem sub-alimentados, a produção de sêmen se reduzirá rapidamente a não ser que eles procurem fontes alternativas de nutrientes tais como ovos ou o alimento das fêmeas.

Com advento das linhagens genéticas comerciais de alta conformação (alta deposição de músculo do peito), existe hoje uma certa preocupação com a ocorrência de efeitos negativos no comportamento sexual e fertilidade destes machos devido a um maior comportamento agressivo destas aves. De certa forma, este problema pode ser diminuído com o alojamento de um menor número machos, o que certamente tem sido uma tendência na indústria da avicultura de corte nos últimos anos. Relações macho:fêmeas de 1:8 a 1:10 são hoje bem mais comuns do que a relação 1:12 ou 13 ou maiores utilizadas normalmente vários anos atrás.

Existem algumas observações de campo que indicam que é possível controlar em parte a agressividade dos machos das novas linhagens genéticas de corte através da administração de maiores quantidades de uma dieta volumosa e menos densa nutricionalmente. No entanto, é necessário muito cuidado ao utilizar-se tal prática para não incorrer no erro de sub-alimentar os machos (níveis de nutrientes). Resultados experimentais mostram que a mudança no nível utilizado na dieta do aminoácido triptofano (aumentar 0,2 para 0,75%) pode ter um efeito calmante tanto em machos quanto naquelas fêmeas que por alguma razão apresentam-se muito agitadas. O triptofano é um dos precursores metabólicos dos neurotransmissores cerebrais (serotonina) que afetam o comportamento das aves. A adição deste aminoácido parece ser o melhor método para diminuir-se o comportamento agressivo dos machos durante o período de alimentação pela manhã. No entanto, em função do alto custo do triptofano, sua utilização como modulador de comportamental em aves é não é viável hoje.

Muitos técnicos e produtores consideram que, baseados no atual comportamento agressivo observado em machos de linhagens modernas, eles apresentam maior libido do que machos criados no passado. Isto é um engano, pois como considerado acima, este comportamento, embora possa propiciar uma maior frequência de montas por dia, faz com que os machos realizem montas

totalmente não efetivas, pois não ocorre a junção entre as cloacas e a deposição do sêmen na cloaca da fêmea. Além disto, certos machos gastam muito tempo e energia de seu dia em atividades agressivas (de briga) direcionadas a outros machos ou mesmo às fêmeas.

## Manejo

Certos aspectos do manejo do macho são cruciais para o alcance de taxas de fertilidade e produtividade aceitáveis em um lote de reprodutores. É absolutamente essencial que, mesmo com relação a princípios básicos de manejo recomendados para machos, técnicos e produtores estejam também muito atentos para as características específicas de manejo requeridas por diferentes linhagens genéticas. Por isto, nunca se deve assumir que determinada prática de manejo deva sempre ser aplicada da mesma maneira para machos de diferentes linhagens. As práticas de manejo da criação e da alimentação têm que seguir as recomendações específicas do manual de manejo da linhagem sendo utilizada. Estas recomendações são desenvolvidas por técnicos que acompanham o desenvolvimento das linhagens e, portanto contém detalhes e minúcias específicas para cada linhagem cujo objetivo é maximizar o potencial reprodutivo de machos e fêmeas.

Quando o planejamento e o desenho do programa de manejo estiverem sendo realizados, nunca se deve esquecer que enquanto uma fêmea pode ser responsável pela produção de aproximadamente 145 pintos de um dia, um macho pode ser responsável pela produção de até 1.900 pintos de um dia.

- Para que seja capaz de fertilizar os óvulos das fêmeas, os machos necessitam alcançar uma maturidade sexual fisiológica. Uma vez isto ocorra, este macho devera também apresentar libido, mobilidade e força física suficientes para que possa efetuar a monta e sujeitar a fêmea enquanto realiza a cópula. Existem muito fatores que podem influenciar a habilidade dos machos para desenvolver as características físicas necessarias as quais podem influenciar na taxa de fertilização.
- Programa nutricional dos machos deve ser desenhado para atingir suas necessidades e não as das fêmeas e vice-versa. Machos e fêmeas diferem grandemente em peso corporal e devem ser criados e alimentados separadamente durante a criação bem como também alimentados separadamente durante a fase de produção após o acasalamento.
- Para que os machos atinjam a maturidade sexual de uma maneira uniforme e à uma idade e peso corporal apropriados eles devem aumentar de peso semanalmente de uma maneira consistente e dentro da curva de peso desenhada para sua linhagem. Estes aumentos de pesos semanais são pequenos e, portanto, devem ser medidos ao mais acuradamente possível.
- A precisão com a qual é medido o ganho de peso dos machos sera muito importante para atingirem a uniformidade de condição corporal desejado. Portanto, é essenciais a utilização de equipamentos adequados (balanças com sensibilidade adequada) e amostragens estatisticamente significativas e realizada corretamente.
- Processo de computar a quantidade necessaria de alimento para que os machos atinjam ou continuem dentro do peso corporal semanal desejado, é tão importante e sofisticado quanto o processo de pesagem destas aves. Este calculo deve ser baseado na quantidade requerida de calorias para as gramas de aumento de peso necessario para a semana. Para que estes calculos seja efetivos são necessarios dados de pesos corporais e um inventario de machos confiáveis.



- Uma vez alcancem a maturidade sexual, é crucial manter os machos dentro do peso recomendado. Obesidade causara perdas significativas em libido e capacidade de realizar uma monta efetiva.
- Um adequado espaços de comedouros deve ser assegurado de modo que todos os machos possam alimentar-se simultaneamente. De outro modo, machos dominantes se tornarão obesos e perderão libido enquanto aqueles machos mais passivos perderão peso e também terão sua libido diminuída.
- Um macho sexualmente maduro tem que ter a mobilidade necessaria para realizar sua atividade sexual de maneira apropriada. Portanto, as condições de pernas e pés destas aves devem ser as melhores possíveis. Mas condições de cama (alta umidade) ou do ripado (muito estreito, muito aspero, quebrados) podem ter impacto muito severo no aparelho locomotor dos machos e levar as aves a condições clínicas que inviabilizam a atividade sexual.
- A apreensão da fêmea pelo macho é um aspecto chave para uma cópula efetiva. O macho sujeita a fêmea pela crista com seu bico. Portanto, é essencial que a parte superior e inferior do bico não estejam afiadas (causa ferimentos à cabeça da fêmea) e estejam em perfeito alinhamento. Um aspecto muito importante da pratica de manejo de acerto na debicagem dos machos é nunca segura-los pelas pernas, e sim pelas asas, quando o manejo for realizado.
- A relação macho:fêmea durante a fase de produção pode ter sério impacto na taxa de fertilidade. Uma relação de um macho para cada 8 a 10 fêmeas produz bons resultados enquanto uma relação de 1:12-13 causara muita competição territorial, agressões, estresses e pouco tempo gasto em atividade sexual.
- Uma boa visão dos machos é obviamente essencial para sua atividade sexual. Uma enfermidade viral chamada encéfalomielite aviaria pode resultar no aparecimento de catarata nos olhos das aves portanto, deve-se assegurar que todo os machos sejam vacinados via punção da asa na idade apropriada.

### **Substituição de machos (spiking)**

A substituição de parte dos machos de um lote de reprodutores em produção é uma medida adotada com o objetivo de retirar parte dos machos velhos, não ativos e menos férteis de um lote de reprodutores em produção e, conseqüentemente, melhorar a fertilidade geral do lote. Esta pratica também é utilizada quando determina-se erros de manejo são cometidos e a qualidade dos machos do lote é comprometida e era muito mais comum antes da adoção da pratica de manejo de alimentação separada para machos e fêmeas durante a produção. A medida que os machos envelhecem sua atividade sexual diminui, na maioria das vezes devido a um aumento de peso corporal excessivo. Embora com o advento da alimentação separada por sexo durante a produção o problema de fertilidade em machos mais velhos tenha diminuído bastante, sendo mesmo não detectavel em certos sistemas de produção com bom manejo, nutrição e instalações, o conceito ainda existe de que a fertilidade após as 45 semanas de idade é bem mais baixa do que poderia ser. Se a substituição de machos for para ser adotada é necessario haver um pré-planejamento com relação à fonte dos machos jovens a serem incorporados nos lotes mais velhos. Um dos problemas com a produção de lotes de machos para serem usados como substitutos é a dificuldade de manejar grandes grupos de macho ja maduros sem haver uma alta incidência de brigas e comportamento agressivo.

As razões mais importantes para a substituição dos machos de um lote devem ser uma menor fertilidade dos machos existentes e o fato de que o lote tenha ainda pelo menos mais 10 semanas de produção antes de ser descartado. Os custos associados com esta prática são os custos normais de criação dos machos substitutos e aqueles envolvidos com a manutenção dos machos até o momento de sua introdução em um lote mais velho em produção. Estimativas de relação custo:benefício indicam que para que este manejo seja economicamente viável é necessário que, para cada 4% de machos sendo substituídos, seja alcançado um aumento de 1% na taxa de fertilidade por um período de pelo menos 15 semanas. Portanto, para obter-se um aumento médio de 7 a 10% na taxa de fertilidade, que são figuras consideradas normais quando se utiliza a substituição de machos, uma porção não maior do que 30 a 35% dos machos velhos deve ser substituída.

Uma importante decisão no momento de realização da substituição é quais machos devem ser eliminados e substituídos. A simples adição de 10 a 30% de novos machos pode causar uma situação social caótica no lote de modo que o número total original de machos no momento da substituição deve sempre ser mantido. Certamente, aqueles machos mais pesados aqueles mais leves devem ser eliminados bem como todos aqueles que apresentarem qualquer defeito físico que possa interferir com sua atividade sexual. Regras mais gerais de seleção, tais como cor de crista e barbela, empenamento em geral, condição da pele e vivacidade e esperteza quando aproximados para serem apanhados, devem também ser aplicadas aos machos que ficarão no lote. A eliminação de machos pode ser socialmente bastante estressante para as fêmeas e, deve preferencialmente ser realizado ao anoitecer com a ajuda de lanternas ou através da utilização de um sistema de luzes azuis as quais tem um efeito calmante sobre as aves.

Talvez um dos mais importantes aspectos a serem levados em conta quando da utilização da prática de substituição de machos em lotes mais velhos, é o que diz respeito à saúde das aves. Tanto a saúde do lote que terá seus machos substituídos quanto aquela do lote de machos substitutos deverão ser conhecidas em detalhe e serem de preferência idênticas no que diz respeito à ausência ou presença de patógenos importantes na indústria avícola.

As perdas decorrentes de um problema de saúde ocasionado pela utilização incorreta deste manejo ou simplesmente por que o aspecto saúde animal foi completamente ignorado no planejamento deste manejo, poderão ser muitas vezes maiores e mais duradouras do que os possíveis ganhos advindos de uma melhora na taxa de fertilidade após a substituição dos machos.

Três exemplos de várias das possíveis situações epidemiológicas causadas pela prática de substituição de machos podem, facilmente, ser listados e encontradas na indústria avícola:

**a)** O lote de machos substitutos é portador de determinados patógenos nunca detectados e que não existem no lote que irá receber estes machos. O lote receptor é contaminado e apresenta doença clínica com perdas econômicas significativas. Ao expressar doença clínica o lote receptor põe em risco todo o sistema de produção através dos riscos de transmissão dos patógenos via aerossóis, vetores, etc.

**b)** O lote receptor é portador de determinados patógenos importantes mais que não estão causando perdas porque existe um equilíbrio entre a pressão de infecção no lote e a imunidade de rebanho daquele lote ou do sistema de produção como um todo. O lote de machos substitutos é

livre destes patógenos e se infecta ao ser introduzido e apresenta doença clínica é a pressão de infecção aumenta e quebra o equilíbrio que havia no lote receptor cujas aves então passam também a expressar doença clínica e ter perdas econômicas significativas é ao expressar doença clínica o lote receptor põe em risco todo o sistema de produção através dos riscos de transmissão dos patógenos via aerossóis, vetores, etc.

**c)** O lote de machos substitutos é portador de determinados patógenos nunca detectados e que não existem no lote que irá receber estes machos. Além disto, estes patógenos normalmente não causam sintomatologia clínica evidente e são também transmitidos verticalmente (Salmonelas enteritidis e typhimurium) o lote receptor é infectado e não apresenta sintomatologia clínica e produção de progênie contaminada a qual pode tanto apresentar sintomatologia clínica com perdas econômicas ou pode colocar em risco a saúde pública por ser portadora de um agente de uma zoonose.

Vários outros possíveis cenários epidemiológicos poderiam ser elaborados com base na mistura de aves adultas criadas separadamente. O aspecto chave aqui a ser sempre lembrado é somente misturar aves com níveis de saúde, se possível, idênticos.

## Bibliografia

Acha PN, Szyfres B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2nd ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 1986 (Publicación Científica, 503).

AGRI-FACTS. **Water analysis interpretation: practical information**. Alberta, CA: Alberta's Agriculture Industry, Agriculture food and Rural Development; 2007. Available from: [Http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/agdex718](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/agdex718).

Bacha WJ Jr, Wood LM. Color atlas of veterinary histology. Philadelphia: Lea & Febiger; 1990.

Bahr JM, Johnson PA. Reproduction in poultry. In: Cupps PT, editor. Reproduction in Domestic Animals. 4th ed. New York: Academic Press; 1991.

Bakst MR, Bahr JM. Poultry. In: Hafez ESE, editor. Reproduction in domestic animals. 6th ed. Philadelphia, PA: Lea & Fabiger; 1990.

Bakst MR, Cecil HC, editors. Techniques for semen evaluation, semen storage and fertility determination. Savoy: **Poultry Science Association**; 1997.

Bakst MR, Wishart GJ. editors. Título do artigo. Proceedings of the First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry; 1995; Savoy, IL.USA; 1995.

Basenko EY, Peebles ED, Branton SL, Whitmarsh SK, Gerard PD. Effects of S6-Strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation at Ten, Twenty-two, or Forty Five weeks of age on the performance characteristics of Commercial egg laying hens. **Poultry Science** 2005; 84:1663-1670.

Berrang ME, Cox NA, Frank JF, Buhr RJ. Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatching egg: a review. Journal of Applied Poultry Research 1999;

Board RG, Fuller RI, editors. *Microbiology of the egg*. London: Chapman & Hall, London; 1994.

Boltz DA, Nakai M, Bahr JM. Avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster. *Avian Diseases* 2004; 48:909-915.

Boltz DA, Zimmerman CR, Nakai M, Bunick D, Scherba G, Bahr JM. Epididymal stone formation and decreased sperm production in roosters vaccinated with a killed strain of avian infectious bronchitis virus. *Avian Diseases* 2006; 50(4):594-598.

Bruce J, Johnson EL. The bacterial flora of unhatched eggs. *British Poultry Science* 1978; 19:681-689.

Buhr RJ, Musgrove MT, Richardson LJ, Cox NA, Wilson JL, Bailey JS, Cosby DE and Bourassa DV. Recovery of *Campylobacter jejuni* in feces and semen of caged broiler breeder roosters following three routes of inoculation. *Avian Diseases* 2005; 49:577-581.

Calnek EW, Barnes JH, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, editors. *Diseases of poultry*. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997.

Charlton BR, Bermudez AJ, Boulianne M, Eckroade RJ, Jeffrey J, Newman LJ, Sander JE, Wakenell PS. *Whitman and Bickford's avian disease manual*. 4th ed. Philadelphia: American Association of Avian Pathologists; University of Pennsylvania; 1996.

Charlton BR, Bermudez AJ *et al.* editors. *Avian disease manual*. 5th ed. Kennett Square, PA: American Association of Avian Pathologists, 2000.

Chen Jui-Pin & Wang Ching-Ho. Clinical epidemiologic and experimental evidence for the transmission of newcastle disease virus through eggs. *Avian Diseases* 2002; 46:461-465.

Chouldat D, Dambrine G, Delemotte B, Couldert F. Occupational exposure to poultry and prevalence of antibodies against Marek's disease virus and avian leukosis retroviruses. *Occupational and Environmental Medicine* 1996; 53 403-410.

Cobb. Cobb 500 breeder management supplement. Arkansas: Cobb-Vantress; Siloam Springs; 2005.

Colin P, Clement G, editors. *Titulo do trabalho. Proceedings of the International Symposium on Salmonella and Salmonellosis*; 2002; Ploufragan. FRA.

Cook JKA. Recovery of infectious bronchitis virus from eggs and chicks produced by experimentally inoculated hens. *Journal of Comparative Pathology* 1971; 81: 203-211.

Cotta T. *Reprodução da galinha e produção de Ovos*. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 1997.

Cox Jr NA, Bailey JS, Richardson LJ, Buhr RJ, Cosby DE, Wilson JL, Hiatt KL, Siragusa GR,

Bourassa DV. Presence of naturally occurring *Campylobacter* and *Salmonella* in the mature and immature ovarian follicles of late-life broiler breeder hens. **Avian Diseases** 2005b; 49:285-287.

Cox Jr NA, Richardson LJ, Buhr RJ, Northcutt JK, Fairchild BD, Mauldin JM, Bailey JS. Presence of various naturally occurring bacteria in unabsorbed yolks of six week old commercial broilers [abstract]. **Poultry Science** Association Meeting 2005a; 84 Supl.1:15.

DeWitt JJ. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian Pathology* 2000; 29:71-94.

El Halawani ME, Rozenboin I. The ontogene and control of incubation behavior in turkeys. **Poultry Science** 1993; 72:906-911.

Eleazer TH. *Campylobacter* can be egg transmitted. *Poultry Digest* 2000; 59(2):4.

Empel PCM van, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. **Avian Pathology** 1999; 20:217-228.

Empel PCM van. *Ornithobacterium rhinotracheale* [thesis]. Utrecht: University of Utrecht; 1998.

Etches RJ. Reproduction in poultry. Wallingford: CAB International; 1996.

Fasenko G. Getting to know the reproductive tract. Proceedings of the Broiler Breeder and Hatchery Management Conference; 1993;

Statesville, NC USA: North Carolina State University and North Carolina Cooperative Extension Service;1993.

Fletcher O, Shlosberg A. Diagnosing toxicity diseases of poultry. *Egg Industry* 1987; 14-20.

Goerzen PR, Julsrud WL, Robinson FE. Duration of fertility in ad libitum and feed-restricted caged broiler breeders. **Poultry Science** Journal 1996; 75:962-965.

Guarda F, Mandelli G. Trattato di anatomia patologica veterinaria. Torino: UTET; 1989.

Hafez HM. Poultry meat and food safety: pre - and post-harvest approaches to reduce foodborne pathogens. *World's Poultry Science* Journal 1999; 55:269-280.

Hampson DJ, McLaren AJ. Experimental infection of laying hens with *Serpulina intermedia* causes reduced egg production and increased faecal water contend. **Avian Pathology** 1999; 28: 113-117.

Handlinger JH, Willians W. An egg drop associated with splenomegaly in broiler breeders. **Avian Diseases** 1998; 32:773-778.

Hester PY, Newton NF, Klingensmith PM. Plasma, follicular, and uterine levels of prostaglandins in chickens laying soft – shelled and shell-less eggs. **Poultry Science** 1991; 70(7) :1585-1593.

Hunton P, editor. Poultry production. Amsterdam: Elsevier; 1995 (World Animal Science Series, 9).

- Hunton P. Understanding the architecture of the egg shell. *World's Poultry Science Journal* 1995; 51:141-147.
- Jansen J, Kirby JD, Hess RA, Rhoads M, Bunick D, Bailey KL, Parsons CM, Wang H, Bahr JM. Identification of epididymal stones in diverse rooster populations. *Poultry Science* 2000; 79:568-574.
- Johnson AL. Reproduction in the female. In: Whittow, GC, editor. *Sturkie's avian physiology*. 5th ed. London: Academic Press; 2000.
- Johnson AL. The avian ovarian hierarchy: a balance between follicle differentiation and atresia. *Poultry and Avian Biology reviews* 1996; 7(2/3):99-110.
- Johnson ES. Poultry oncogenic retroviruses and humans. *Cancer Detection and Prevention* 1994; 18:9-30.
- Jordan FT, Pattison MW. *Poultry diseases*. 5th ed. United Kingdom: W.B. Saunders Company; 2002.
- Kirby JD, Froman DP. Reproduction in male birds. In: Whittow GC, editor. *Sturkie's avian physiology*. 5th ed. London: Academic Press; 2000.
- Leeson S, Diaz G, Summers JD. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. Guelph: University Books; 1995. Leeson S, Summers JD. *Broiler breeder production*. Guelph: University Books; 2000.
- Leeson S, Summers JD. *Commercial poultry nutrition*. Guelph: University Books; 1997.
- Lewis K. Broiler breeder (pullet) uniformity, its importance and how to control it. *Proceedings of the Broiler Breeder and Hatchery Management Conference*; 1993; Statesville, NC, USA; 1993.
- Macari M, Furlan RL, Gonzáles E. *Fisiologia da reprodução de aves*. Campinas: FACTA; 1994.
- Mahecha GAB, Oliveira CA, Balzuweit K, Hess RA. Epididymal lithiasis in roosters and efferent ductule and testicular damage. *Reproduction* 1002; 124: 821-834.
- Mauldin JM. *Quality control procedures for the hatchery*. Athens: University of Georgia; 1993.
- McFerran JB, McNulty MS, editors. *Virus infections of vertebrates; virus infections of birds*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV; 1993.
- McGovern RH, Renema RA, Robinson FE. Increased feed allocation does not stimulate increased ovarian development or increased egg output in 54-week-old broiler breeder hens. *Canadian Journal of Animal Science* 1997; 77:177- 179.
- Nascimento BV. The ease of translocation of *Salmonella enteritidis* through the egg shell wall: an immunocytochemical study [thesis]. Glasgow: University of Gasgow; 1992.

Nilipour AH. Fine-tuning the sexual maturity of breeders. *World Poultry* 1996; 12(2):36-37.

Nøddegaard F, Talbot RT, Sharp PJ. Effect of delayed step-up lighting on plasma luteinizing hormone and reproductive function in broiler breeders. *Poultry Science* 2000; 79:778-783.

North MO, Bell DD. *Commercial chicken production manual*. 4th ed. New York: Chapman and Hall; 1990.

Peaker M. *Avian physiology*. Symposia Zoological Society of London 1975; 35.

Pearson AD, Greenwood MH, Feltham RK, Healing TD, Donaldson J, Jones DM, Colwell RR. Microbial ecology of *Campylobacter jejuni* in a United Kingdom Chickens supply chain: intermittent common source, vertical transmission, and amplification by flock propagation. *Applied Environmental Microbiology* 1996; 62:4614-4620.

Quelle Stratégie adopter a l'entree en ponte. *L'Aviculteur* 1994; 63:553.

Randall CJ, Reece RL. *Color atlas of avian histopathology*. 2nd ed. London: Mosby-Wolfe; 1996.

Randall CL. *Diseases and Disorders of the domestic: fowl and turkey*. 2nd ed. London; Mosby-Wolfe; 1991.

Renema RA, Robinson FE, Newcombe M, McKay RI. Effects on body weight and feed allocation during sexual maturation in broiler breeder hens. 1. Growth and carcass characteristics. *Poultry Science* 1999; 78: 619-628.

Renema RA, Robinson FE, Proudman JA, Newcombe M, McKay RI. Effects of body weight and feed allocation during sexual maturation in broiler breeder hens. 2. Ovarian morphology and plasma hormone profiles. ***Poultry Science*** 1999; 78:629-639.

Riddel A. *Avian histopathology*, 2nd ed. Pennsylvania: New Bolton Center; 1997.

Robinson FE, Renema RA, Bouvier L, Feddes JJR, Wilson JL, Newcombe M, McKay RI. Effects of photostimulatory lighting and feed allocation in female broiler breeders 1: reproductive development; *Canadian Journal of Animal Science* 1998; 78:603-613.

Robinson FE, Renema RA, Bouvier L, Feddes JJR, Zuidhof MJ, Wilson JL, Newcombe M, McKay RI. Effects of photostimulatory lighting and feed allocation in female broiler breeders. 2: egg and chick production characteristics: *Canadian Journal of Animal Science* 1998; 78:615-623.

Robinson FE, Wautier TA, Hardin TR, Robinson NA, Wilson JL, Newcombe M, McKay RI. Effects on age at photostimulation on reproductive efficiency and carcass characteristics. 1 Broiler breeder hens. *Canadian Journal of Animal Science* 1996; 76:275-282.

Robinson FE. The period from housing broiler breeders to peak egg production paying attention to details. *Zootecnica International* 1998; 41-43.

Robinson FE, Wilson JL. Reproductive failure in overweight male and female broiler breeders.

Animal Feed Science Technology 1996; 58:143-150.

Robinson FE, Wilson JL, Yu MW, Fassenko GM, Hardin RT. The relationship between body weight and reproductive efficiency in meat-type chickens. **Poultry Science** 1993; 72:912-922.

Rosales AG. Problemas del aparato reproductor en reproductoras pesadas asociados al manejo. Memorias de I Simposium Avícola, Sección Nacional de Progenitores de la Asociación Nacional de Avicultores; 1994; Zacatecas. México; 1994.

Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of poultry. 11th ed. Iowa: Iowa State University Press; 2003.

Sesti, LAC. Biosseguridade em granjas de reprodutores. In: Macari M, Mendes A, editores. Manejo de matrizes de corte. Campinas (SP): FACTA; 2005. p.243-322.

Sesti LAC. Biosseguridade em um Programa de Melhoramento Genético de Aves. Anais do 2º Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM; 2000; set. 14-15; Santa Maria, RS. Brasil; 2000.

Sesti LAC. Programas de Biosseguridade na Produção de Aves e Suínos: filosofia similaridade e diferenças. VI Semana de Ciências Agrárias- II Simpósio de Nutrição e Manejo de Aves e Suínos do Triângulo; 1999; Uberlândia, MG, Brasil. p.15-30.

Sesti, LAC. Órgãos reprodutivos e reprodução das aves domésticas. In: Macari M, Gonzáles E, editores. Manejo da Incubação. Campinas (SP): FACTA; 2003. p.3-33.

Sesti LAC, Ito NK. Fisiopatologia do sistema reprodutor. In: Berchieri A, Macari M, editores Doenças das aves. Campinas: FACTA; 2000. p.243-322.

Sesti LAC, Soares RB. A Situação de Leucose Mielóide no Mundo. II Encontro de Avicultura de Corte da Região de Descalvado; 1998; Descalvado, SP. Brasil

Sharp PJ. Immunological control of broodines. World's **Poultry Science** Journal 1997; 53:24-31.

Sturkie PD. Fisiologia aviar. Zaragoza: Editorial Acribia; 1968.

Villareal L, Brandão P, Chacón J, Assayag MS, Maiorka P, Roffi P, Saindenberg A, Jones D, Ferreira AP. Orchitis in roosters with reduced fertility associated with avian infectious bronchitis virus and avian pneumovirus infections. **Avian Diseases** 2007; 51:900-904.

Yu MW, Robinson FE, Charles RG, Weingardt R. Effect of feed allowance during rearing and breeding on female broiler breeders. 1 Growth and carcass characteristics. **Poultry Science** 1992 b; 71:1739-1749, 1992b.

Yu MW, Robinson FE, Charles RG, Weingardt R. Effect of feed allowance during rearing and breeding on female broiler breeders. 2; Ovarian morphology and production. **Poultry Science** 1992a; 71:1750-1761.



## Fisiopatologia do sistema circulatório

<b>Introdução</b>	<b>381</b>
<b>Sinais clínicos</b>	<b>382</b>
<b>Afecções do miocárdio</b>	<b>382</b>
<i>Miocardite</i>	382
<i>Dilatação e Hipertrofia cardíacas</i>	382
<b>Afecções do pericárdio</b>	<b>383</b>
<i>Hidropericárdio</i>	383
<i>Pericardite</i>	383
<b>Afecções do endocárdio</b>	<b>384</b>
<b>Afecções do sistema vascular</b>	<b>384</b>
<b>Neoplasias do sistema circulatório</b>	<b>384</b>
<b>Hemorragia</b>	<b>385</b>
<b>Diagnóstico de enfermidades do sistema circulatório</b>	<b>385</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>385</b>

## Fisiopatologia do sistema circulatório

**Marcelo Vasconcelos Meireles**

### Introdução

O sistema circulatório tem como funções principais suprir o organismo com nutrientes, remover produtos resultantes do metabolismo, carrear hormônios e controlar a temperatura corporal.

O coração, principal órgão do sistema circulatório, situa-se na depressão cranial do esterno, dentro do pericárdio, na parte anterior da cavidade corporal, ventral aos pulmões, em um ângulo de aproximadamente 45 graus na horizontal.

O pericárdio está em contato direto com a cobertura peritoneal do fígado, sendo composto por uma bolsa de células epiteliais escamosas na qual o coração está invaginado. A camada visceral adere-se à superfície externa do miocárdio e a camada parietal está livre. Entre as duas camadas existe um fino filme de líquido pericárdico.

A diferença mais evidente do coração de aves em relação ao de mamíferos está relacionada à estrutura da válvula atrioventricular direita, que nas aves é composta por uma espessa prega muscular ligada ao septo interventricular, completamente diferente da válvula fibrosa do coração de mamíferos. Além disso, sua força de contração se origina da musculatura do ventrículo.

Durante o crescimento os vários órgãos do corpo podem ser divididos em dois grupos principais, os que consomem energia e os que suprem energia, de acordo com sua função no metabolismo energético. O intestino, o coração, o fígado e os pulmões são órgãos que suprem energia, sendo responsáveis por sua disponibilidade para processos de crescimento.

A seleção genética direcionada para ganho de peso e melhor conversão alimentar causou desbalanceamento entre produção e suprimento de energia para manutenção, o que levou a alteração na homeostase e a doenças em órgãos que são responsáveis pelo fornecimento de energia para produção e manutenção das aves, como o coração.

O crescimento rápido e alto peso corporal, com conseqüente aumento de demanda de oxigênio para os tecidos, tem resultado em aumento na incidência de doenças metabólicas, algumas afetando o sistema cardiovascular, como a síndrome da morte súbita e a síndrome ascítica. Aves selecionadas para crescimento rápido têm alta susceptibilidade para desenvolver hipoxemia e doença cardíaca. A hipoxemia tem origem principalmente na alta demanda de oxigênio devido a aumento da taxa metabólica e, em menor escala, por problemas de ventilação ou difusão de oxigênio.

Frangos de corte apresentam, no pulmão, áreas de hematose inferiores quando comparadas a outras linhagens de galinha doméstica. Há ainda redução do tamanho relativo do coração e dos

pulmões, dos volumes cardíaco e pulmonar e da área da cavidade torácica, predispondo os animais à síndrome ascítica.

Lesões relacionadas ao sistema circulatório, como hipertrofia do ventrículo direito, ascite e hidropericárdio são, após aquelas relacionadas às enfermidades infecciosas, as mais freqüentes em aves que vem a óbito durante o transporte para o abate.

Além das enfermidades de origem metabólica, vários outros agentes etiológicos são responsáveis por enfermidades do sistema circulatório, sejam de origem nutricional, tóxica ou infecciosa.

## Sinais clínicos

Os sinais clínicos resultantes de enfermidades do sistema circulatório geralmente são inespecíficos.

A insuficiência cardíaca em aves é caracterizada por dificuldade respiratória, cianose de crista e barbela e, em casos avançados, por aumento de volume abdominal, caracterizando um quadro de ascite.

Em casos agudos de cardiopatias pode ocorrer morte sem presença anterior de sinais clínicos, como na síndrome da morte súbita. Na qual a ave, aparentemente normal, apresenta contrações musculares, batimento das asas, incoordenação e morte com os membros anteriores distendidos e, geralmente, com o dorso voltado para baixo. Na ruptura da aorta em perus, também, verifica-se morte aguda, em decorrência de choque hipovolêmico.

Em outros distúrbios do sistema circulatório, como pericardite e miocardite, não existem sinais clínicos específicos, estando os mesmos relacionados à etiologia dessas afecções.

## Afecções do miocárdio

As afecções mais frequentes do miocárdio podem se originar de distúrbios metabólicos, de infecções bacterianas ou virais ou ainda, de etiologia de origem tóxica.

### Miocardite

A miocardite causada por *Salmonella Pullorum* é uma das lesões mais conhecidas do miocárdio das aves. Na pulorose são encontradas lesões nodulares na musculatura cardíaca, de coloração branca a amarelada e tamanho variável que se caracterizam, microscopicamente, por separação de fibras musculares, necrose de células musculares cardíacas, infiltração de macrófagos, linfócitos, plasmócitos e heterófilos.

*Pasteurella multocida* é responsável por quadro de miocardite com presença de edema, fibrina e histiócitos no miocárdio, além de áreas focais de necrose, vasculite e proliferação bacteriana local.

Miocardite semelhante à causada por *P. multocida* pode ser encontrada nas infecções por

*Erysipelothrix rhusiopathiae*, em que se verifica a presença de miocardite fibrinopurulenta e petéquias na gordura cardíaca, e nas infecções por *Escherichia coli*, caracterizadas por áreas de necrose, infiltração de células polimorfonucleares e mononucleares, fibrose, colônias bacterianas, congestão, edema e hemorragia no miocárdio.

A transmissão vertical do vírus do subgrupo J da leucose aviária, em frangos de corte, pode estar associada à dilatação dos ventrículos direito e esquerdo e desenvolvimento de ascite.

A miocardite de etiologia viral mais comum é a causada por Reovirus. Microscopicamente, pode ser observada infiltração de heterófilos e células mononucleares no miocárdio.

Algumas cepas dos vírus da doença de Newcastle e da influenza aviária se multiplicam em altos títulos no miocárdio, causando necrose severa e infiltração de células inflamatórias.

A ingestão de fumonisina B1 e de moniliformina resulta em quadro de miocardite caracterizado por vacuolização multifocal de fibras cardíacas, fragmentação e necrose de miofibrilas, infiltração de leucócitos, hemorragia e fibroplasia.

## Dilatação e Hipertrofia cardíacas

A dilatação e hipertrofia cardíacas resultam de aumento do trabalho cardíaco, seja fisiológico ou patológico, que pode ser de natureza aguda, via de regra levando à dilatação, ou crônica, originando hipertrofia. A aparência macroscópica varia de acordo com o lado cardíaco afetado. Na hipertrofia do ventrículo direito o coração se apresenta mais largo em sua base. Já quando o processo atinge o ventrículo esquerdo o coração está mais alongado, enquanto na hipertrofia bilateral apresenta aparência arredondada.

Existem várias causas de cardiopatias que levam ao desenvolvimento de dilatação e hipertrofia cardíacas.

A doença do coração redondo, também, conhecida como cardiomiopatia espontânea dos perus, é uma afecção que afeta essa espécie, com maior frequência em aves entre uma a quatro semanas de idade. Sua etiologia é desconhecida, mas alguns fatores como genética e manejo, bem como causas infecciosas e metabólicas, podem estar envolvidos. O coração apresenta-se com dilatação ventricular bilateral, sendo frequente o hidropericárdio.

A intoxicação por furazolidona causa dilatação ventricular bilateral, com a parede dos ventrículos apresentando-se mais finas, aumento no diâmetro ventricular, hidropericárdio e ascite, caracterizados por acúmulo de transudato amarelo na cavidade peritoneal e saco pericárdico.

Hipertrofia ou dilatação do ventrículo direito são verificadas ainda na intoxicação por cloreto de sódio, que se caracteriza por aumento de volume sanguíneo, hidropericárdio e ascite, devido à insuficiência cardíaca direita resultante de hipertensão pulmonar.

Outro exemplo de cardiomiopatia de origem tóxica ocorre na ingestão de *Crotalaria* spp., quando se observa morte súbita, ascite e hidropericárdio.

Morte súbita, com presença de hemorragia perirrenal e baixa mortalidade, é observada em perus

que apresentam melhor desenvolvimento no lote, principalmente em machos entre 8 e 18 semanas de idade. Nessa afecção ocorre hemorragia perirrenal sem presença de ruptura da aorta ou da artéria renal. Há hipertrofia cardíaca no ventrículo esquerdo, conferindo ao coração aumento de volume, mas com preservação do aspecto cônico.

A síndrome ascítica de origem metabólica, ou síndrome da hipertensão pulmonar, tem como causa primária a hipertensão pulmonar, que leva à hipertrofia e dilatação do ventrículo e átrio direitos e insuficiência da válvula atrioventricular direita, resultando em insuficiência cardíaca congestiva, hidropericárdio e ascite. Normalmente ocorre hipertrofia seguida de dilatação do ventrículo direito, mas em alguns casos verifica-se somente hipertrofia ventricular direita, hipertensão pulmonar e morte resultante de edema pulmonar.

Lesões pulmonares primárias, como as encontradas na aspergilose pulmonar, também, podem levar ao desenvolvimento de hipertensão pulmonar, hipertrofia e dilatação cardíacas, insuficiência cardíaca congestiva e ascite.

## Afecções do pericárdio

### Hidropericárdio

Essa lesão é caracterizada por excesso de fluido localizado dentro do saco pericárdico.

Na hepatite por corpo de inclusão-síndrome do hidropericárdio (IBH-HPS) o saco pericárdico encontra-se distendido por líquido claro, verificando-se edema intersticial no miocárdio e presença de exsudato seroso a fibrinoso no epicárdio. Ocasionalmente, podem ocorrer alterações eosinofílicas nas fibras do miocárdio e hemorragia. Essa enfermidade é resultante de infecção por Adenovirus e caracteriza-se por alta mortalidade, que varia de 20 a 70%, principalmente em aves jovens.

Em algumas infecções bacterianas, como pulorose e erisipela, eventualmente encontra-se fluido opaco dentro do saco pericárdico, associado a outras lesões características dessas enfermidades.

A ingestão de fumonisina B1 e de moniliformina, além de causar lesões em outros órgãos, pode determinar quadro de hidropericárdio.

Em casos de insuficiência cardíaca congestiva, independente da etiologia, pode haver desenvolvimento de hidropericárdio.

### Pericardite

Uma das etiologias mais importantes de pericardite em aves domésticas, a infecção por *Escherichia coli*, leva inicialmente à opacidade do pericárdio, seguida de espessamento e acúmulo de exsudato fibrinoso a fibrino-purulento que recobre todo o saco pericárdico.

Presença de pericardite com espessamento e exsudato fibrinoso a fibrino-purulento ocorre ainda nas infecções por *Salmonella* Enteritidis, *S. Pullorum* e *Salmonella* Typhimurium.

A cólera aviária e as infecções por *Pasteurella gallinarum* e *Pasteurella anatispestifer* resultam em septicemia nas aves, com presença de petéquias no epicárdio e gordura cardíaca, além de pericardite fibrinonecrótica caracterizada por espessamento, opacidade e presença de exsudato fibrinoso no pericárdio.

Outras infecções bacterianas e virais, como as causadas por *Streptococcus faecium*, *Chlamydia psittaci*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* e *Reovirus*, também, resultam em desenvolvimento de pericardite em aves.

A gota úrica é uma afecção comumente observada em aves após ingestão prolongada de alimentos com alto teor protéico, ou naqueles com insuficiência renal terminal. No sistema circulatório a lesão observada é a deposição de sais de urato no pericárdio, conferindo a esta membrana aparência esbranquiçada e espessamento.

A intoxicação por monensina pode causar hemorragia no epicárdio e congestão cardíaca, além da presença de placas de fibrina, de aparência opaca, no epicárdio e hemorragia na gordura coronariana. À microscopia se observa congestão intravascular, infiltração focal ou multifocal de heterófilos, espessamento focal do epicárdio, hemorragia subepicardial e congestão na parede ventricular.

As afecções do pericárdio que resultam em efusão local de exsudato, depósitos de fibrina no pericárdio visceral e aderências entre as camadas visceral e parietal podem interferir na função cardíaca e predispor as aves à arritmia, morte súbita, insuficiência cardíaca aguda ou crônica e desenvolvimento de síndrome ascítica.

## Afecções do endocárdio

Em diversas infecções bacterianas se observa endocardite valvular caracterizada por proliferação de tecido de coloração branca a amarelada nas válvulas atrioventricular direita, mitral e aórtica. Essa lesão é encontrada com mais frequência em infecções por *Streptococcus* spp., incluindo *Streptococcus gallinaceus*, mas já foi observada em infecções por outras bactérias, como *Enterococcus hirae*, *E. rhusiopathiae* e *P. gallinarum*.

## Afecções do sistema vascular

As alterações patológicas mais importantes dos vasos sanguíneos geralmente têm etiologia infecciosa e são observadas somente durante o exame histopatológico.

Vasculite leve a severa é observada em infecções por *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma meleagridis* e *Mycoplasma iowa*, variando de necrose fibrinóide com inflamação leve a infiltração severa de linfócitos e plasmócitos no espaço perivascular, às vezes com presença de trombose.

A doença de Newcastle, aspergilose aviária, influenza aviária e doença de Marek causam necrose do endotélio, hiperemia, edema, degeneração hidrópica da camada média, hialinização de capilares e arteríolas, presença de fibrina na parede dos vasos e trombose hialina.

Lesão degenerativa semelhante à aterosclerose humana já foi relatada em infecções por alguns isolados do vírus da doença de Marek e se caracterizam por placas ateroscleróticas em artérias como as coronárias, aorta e seus principais ramos. Microscopicamente se observa espessamento oclusivo da camada íntima e fibrose envolvendo as alterações ateroscleróticas.

Em perus e, raramente, em outras espécies de aves, há descrições de enfermidade caracterizada por ruptura da aorta que resulta em hemorragia severa e morte aguda por choque hipovolêmico. Na necropsia são observadas ruptura da aorta, próxima ao coração, e grande quantidade de sangue na cavidade celomática. A etiologia dessa enfermidade provavelmente está relacionada à deficiência de cobre.

## Neoplasias do sistema circulatório

Neoplasias primárias do sistema circulatório são raras em aves. O coração pode ser afetado por algumas doenças neoplásicas, como a doença de Marek, leucose linfóide aviária, reticuloendelirose e doença linfoproliferativa dos perus. Na Geralmente, na macroscopia, caracterizam-se pela presença de nódulos de tamanho variado, de coloração branca a branco-amarelada e de consistência macia, no miocárdio. No coração ocasionalmente são encontrados sarcomas histiocíticos, fibrossarcoma e rabiomiossarcoma.

Hemangiomas e hemangiossarcomas surgem na pele ou superfície visceral causando hemorragias. Essas neoplasias têm como agente etiológico o Retrovírus, agente etiológico de neoplasias do grupo leucose-sarcoma.

## Hemorragia

Existem inúmeras causas de lesões hemorrágicas em aves, de etiologia infecciosa, tóxica ou nutricional.

O vírus da anemia infecciosa causa hemorragia subcutânea, muscular e na mucosa do proventrículo, acompanhada de anemia e pancitopenia.

Na influenza aviária ocorrem hemorragias em vários órgãos, decorrentes, provavelmente, de coagulação intravascular disseminada com conseqüente utilização excessiva e em curto período de tempo, de fatores da cascata da coagulação.

Hemorragias em musculatura peitoral e em músculos dos membros posteriores são encontradas na infecção por cepas virulentas do vírus da doença de Gumboro.

Na intoxicação por sulfaquinoxalina são comuns a presença de sangue na cavidade oral, ingluvío e parte distal do trato intestinal. Também há hemorragia no epicárdio, rim, oviduto, cloaca, esôfago, intestino delgado e adrenal. A medula óssea encontra-se mais pálida que o normal. O exame histopatológico demonstra depleção dos precursores granulocíticos e eritrocíticos da medula, depleção linfóide, hemossiderose e trombos fibrinosos.

A ingestão de agentes anticoagulantes provoca hemorragia difusa, com presença de sangue não

coagulado na cavidade celomática, no cerebelo, hemorragia subcutânea nas asas e hemorragia muscular.

Algumas micotoxicoses, como aflatoxicose e ocratoxicose, interferem com a atividade de alguns fatores da coagulação. Como consequência, há ocorrência de hemorragia, especialmente no fígado e musculatura de membros posteriores.

Hemorragias podem estar presentes ainda na deficiência de vitamina K, por interferência na síntese de fatores da coagulação sanguínea.

## Diagnóstico de enfermidades do sistema circulatório

Como nenhuma enfermidade do sistema circulatório apresenta sinais clínicos, lesões macroscópicas ou microscópicas patognomônicas, para sua confirmação é necessária a realização de anamnese detalhada, análise criteriosa de sintomas clínicos, lesões macroscópicas e microscópicas e resultados de exames laboratoriais.

Para definição de diagnóstico definitivo diversos exames auxiliares são utilizados, entre os quais o isolamento ou identificação de bactérias e vírus por meio de cultivo, imunohistoquímica ou testes envolvendo biologia molecular; exames sorológicos, exame histopatológico e análise de ração ou de seus ingredientes.

## Bibliografia

Abe T, Nakamura K, Tojo H, Mase M, Shibahara T, Yamaguchi S, Yuasa N. Histology, immunohistochemistry, and ultrastructure of hydropericardium syndrome in adult broiler breeders and broiler chicks. **Avian Diseases** 1998; 42: 606-12.

Alfonso HA, Sanchez LM, Angeles-Figuerdo M de Los, Gomez BC. Intoxication due to *Crotalaria retusa* and *C. spectabilis* in chickens and geese. *Veterinary and Human Toxicology* 1993; 35:539.

Andreatti Filho RL, Silva EN, Balen L. Efeito da via de inoculação na patogenicidade de amostras patogênica e apatogênica de *Escherichia coli* em galinha. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 1993; 45:475-86.

Balamurugan V, Kataria JM. The hydropericardium syndrome in poultry-a current scenario. *Veterinary Research Communications* 2004; 28:127-48.

Carlton WW, Henderson W. Cardiovascular lesions in experimental copper deficiency in chickens. *Journal of Nutrition* 1963; 81:200-8.

Chadfield MS, Bojesen AM, Christensen JP, Juul-Hansen J, Saxmose, Bisgaard M. Reproduction of sepsis and endocarditis by experimental infection of chickens with *Streptococcus gallinaceus* and *Enterococcus hirae*. **Avian Pathology** 2005; 34:238-47.

Cheville NF, Stone H, Riley J, Ritchie AE. Pathogenesis of virulent Newcastle disease in



chickens. *Journal of American Veterinary Medical Association* 1972; 161:169-79.

Chin RP, Meteyer CU, Yamamoto R, Shivaprasad HL, Klein PN. Isolation of *Mycoplasma synoviae* from the brains of commercial meat turkeys with meningeal vasculitis. **Avian Diseases** 1991; 35:631-7.

Chin RP, Daft BM, Meteyer CU, Yamamoto R. Meningoencephalitis in commercial meat turkeys associated with *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Diseases** 1991; 35:986-93.

DaFalla R, Yagi AI, Adam SEI. Experimental aflatoxicosis in Hybro-type chicks: sequential changes in growth and serum constituents and histopathological changes. *Veterinary and Human Toxicology* 1987; 29:222-6.

Daft BM, Bickford AA, Hammarlund MA. Experimental and field sulfaquinoxaline toxicosis in leghorn chickens. *Avian Diseases* 1989; 33:30-34.

Doerr JA, Huff WE, Hamilton PB, Lillehoj EB. Severe coagulopathy in young chickens produced by ochratoxin A. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1981; 59:157-63.

Doerr JA, Wyatt RD, Hamilton PB. Impairment of coagulation function during aflatoxicosis in young chickens. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1976; 35:437-46.

Fabricant CG, Fabricant J, Litrenta MM, Minick CR. Virus-induced atherosclerosis. *Journal of Experimental Medicine* 1978; 148:335-40.

Freeman BM. *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. v. 5, Academic press; 1984.

Gomis SM, Watts T, Riddell C, Potter AA, Allan BJ. Experimental reproduction of *Escherichia coli* cellulitis and septicemia in broiler chickens. **Avian Diseases** 1997; 41:234-40.

Gorham SL, Kadavil K, Vaughan E, Lambert H, Abel J, Pert B. Gross and microscopic lesions in young chickens experimentally infected with *Salmonella enteritidis*. **Avian Diseases** 1994; 38:816-21.

Goryo M, Sugimura H, Matsumoto S, Umemura T, Itakura C. Isolation of an agent inducing chicken anaemia. *Avian Pathology* 1985; 14:483-96.

Gross WB. Use of corticosterone and ampicillin for treatment of *Streptococcus faecalis* infections in chickens. *American Journal of Veterinary Research* 1991; 52:1288-91.

Hassanzadeh M, Gilanpour H, Charkhkar S, Buyse J, Decuypere E. Anatomical parameters of cardiopulmonary system in three different lines of chickens: further evidence for involvement in ascites syndrome. **Avian Pathology** 2005; 34:188-93.

Hunter B, Wobeser G. Pathology of experimental avian cholera in mallard ducks. **Avian Diseases** 1980; 24:403-14. Javed T, Bunte RM, Dombrink-Kurtzman MA, Richard JL, Bennett GA, Côté LM, Buck WB. Comparative pathologic changes

in broiler chicks on feed amended with *Fusarium proliferatum* culture material or purified fumonisin B1 and moniliformin. *Mycopathologia* 2005; 159:553-64.

Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. *Pathology of Domestic Animals*. v. 3. Academic Press; 1991, 527 p.

Julian RJ. Rapid growth problems: Ascites and skeletal deformities in broilers. ***Poultry Science*** 1998; 77:1773-80.

Julian RJ, Mirsalimi SM, Bagley LG, Squires EJ. Effect of hypoxia and diet on spontaneous turkey cardiomyopathy (round heart disease). ***Avian Diseases*** 1992; 36:1043-47.

Khan MZ, Zaman Q, Islam N, Muhammad G. Furazolidone toxicosis in young broiler chicks: morphometric and pathological observations on heart and testes. *Veterinary and Human Toxicology* 1995; 37:314-8.

Larochelle D, Morin M, Bernier G. Sudden death in turkeys with perirenal hemorrhage; pathological observations and possible pathogenesis of the disease. *Avian Diseases* 1992; 36:114-24.

Lilja C. Postnatal growth and organ development in the goose (*Anser anser*). *Growth* 1981; 45:329-41.

McKenzie BE, Easterday BC, Will JA. Light and electron microscopic changes in the myocardium of influenza-infected- turkeys. *American Journal of Pathology* 1972; 69:239-54.

Mirsalimi SM, O'Brien PJ, Julian RJ. Blood volume increase in salt-induced pulmonary hypertension, heart failure and ascites in broiler and White Leghorn chickens. *Canadian Journal of Veterinary Research* 1993; 57:110-3.

Munger LL, SU JJ, Barnes HJ. Coumafuryl (Fumarin®) toxicity in chicks. ***Avian Diseases*** 1993; 37:622-4.

Muramoto Y, Ozaki H, Takada A, Park C, Sunden Y, Umemura T, Kawaoka Y, Matsuda H, Kida H. Highly pathogenic influenza virus causes coagulopathy in chickens. *Microbiology and Immunology* 2006; 73-81.

Nakamura K, Ibaraki Y, Mitarai Z, Shibahara T. Comparative pathology of heart and liver lesions of broiler chickens that died of ascites, heart failure, and others. *Avian Diseases* 1999; 43:526-32.

Nakamura K, Mase M, Yamaguchi S, Shibahara T, Yuasa N. Pathologic study of specific-pathogen-free chicks and hens inoculated with adenovirus isolated from hydropericardium syndrome. ***Avian Diseases*** 1999; 43:414-23.

Nijdam E, Zailan ARM, Van Eck JHH, Decuypere E, Stegeman JA. Pathological features in dead on arrival broilers with special reference to heart disorders. ***Poultry Science*** 2006; 85:1303-08.

Olkowski AA, Duke T, Wojnarowicz C. The aetiology of hypoxaemia in chickens selected for

rapid growth. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 2005; 141:122-131.

Olkowski AA, Wojnarowicz C, Rathgeber BM, Abbott JA, Classen HL. Lesions of the pericardium and their significance in the aetiology of heart failure in broiler chickens. *Research in Veterinary Science* 2003; 74:203-11.

Padron MN. *Salmonella* Typhimurium outbreak in broiler chicken flocks in Mexico. **Avian Diseases** 1990; 34:221-3. Page LA, Derieux WT, Cutlip RC. An epornitic of fatal chlamydiosis (ornithosis) in South Carolina turkeys. *Journal of American Veterinary Medical Association* 1975; 166:175-8.

Riddell C. *Avian Histopathology*. American Association of Avian Pathologists; 1996, 234 p.

Rosenvald AS, Dickinson EM. A report of swine erysipelas in tyurkeys. *American Journal of Veterinary Research* 1941; 2:202-13.

Salem M, Odor EM, Conrad C. Pullorum disease in delaware roasters. **Avian Diseases** 1992; 36:1076-80. Sandhu TS. Fecal streptococcal infection of commercial white pekin ducklings. **Avian Diseases** 1988; 32:570-3.

Scheele CW. Pathological changes in metabolism of poultry related to increasing production levels. *Veterinary Quaterly* 1997; 19:127-30.

Stedman NL, Brown TP. Cardiomyopathy in broiler chickens congenitally infected with avian leukosis virus subgroup J. *Veterinary Pathology* 2002, 39:161-164.

Swayne DE. Understanding the complex pathobiology of high pathogenicity avian influenza viruses in birds. **Avian Diseases** 2007; 51:242-49.

Tang KN, Fletcher OJ, Villegas P. Comparative study of the pathogenicity of avian reoviruses. **Avian Diseases** 1987; 31: 577-83.

Tiahjowati G, ORR JP, Chirino Trejo M, Milss JH. Experimental reproduction of endocarditis with *Pasteurella gallinarum* in mature leghorn chickens. **Avian Diseases** 1995; 39:489-98.

Wagner DD, Furreow RD, Bradley BD. Subchronic toxicity of monensin in broiler chickens. *Veterinary Pathology* 1983; 20: 353-59.

<b>Introdução</b>	<b>391</b>
<b>Bases gerais do funcionamento do sistema imune</b>	<b>393</b>
<b>Estrutura e organização anátomo-histológica do sistema imune das aves</b>	<b>396</b>
<i>Conceitos gerais</i>	396
<i>Órgãos Linfóides primários</i>	397
<i>Órgãos linfóides secundários</i>	398
<i>Tecido linfóide junto aos órgãos</i>	398
<i>Tecido linfóide associado ao trato intestinal</i>	398
<i>Tecidos linfóide paraocular e paranasal</i>	399
<b>Citocinas: mediadores solúveis do sistema imune</b>	<b>400</b>
<b>Enfermidades indutoras de imunossupressão em aves</b>	<b>401</b>
<b>Reconhecimento de condições e enfermidade comumente associadas com imunossupressão</b>	<b>402</b>
<b>Reconhecimento de enfermidades imunossupressoras</b>	<b>402</b>
<b>Avaliação da imunocompetência em aves</b>	<b>404</b>
<b>Avaliação anátomo-histológica do sistema imune de aves imunossuprimidas</b>	<b>405</b>
<b>Alterações anátomo-histológicas de imunossupressão em aves</b>	<b>405</b>
<i>Alterações no número ou na morfologia de linfócitos presentes em órgãos linfóides primários e secundários</i>	405

<i>Estimativa do número de centros germinativos nos órgãos linfóides de aves imunossuprimidas</i>	405
<i>Alterações anátomo-histológicas no timo de aves imunossuprimidas</i>	406
<i>Alterações anátomo-histológicas na bursa de aves imunossuprimidas</i>	406
<i>Alterações anátomo-histológicas em órgãos linfóides secundários de aves imunossuprimidas</i>	408
<b>Efeitos sobre as células do sistema imune e a produção de citocinas exercido por vírus imunossupressores e micotoxinas</b>	<b>409</b>
<i>Vírus da doença infecciosa da Bursa</i>	409
<i>Vírus da Enterite Hemorrágica dos Perus (VEH)</i>	411
<i>Agentes virais da Síndrome da Mortalidade e Enterite dos Perus (PEMS)</i>	412
<i>Vírus da Anemia Infecciosa das Galinhas (VAIG)</i>	413
<i>Vírus da Doença de Marek</i>	416
<i>Vírus da Reticulo-Entoliose Aviária</i>	419
<i>Reovírus Aviários</i>	420
<i>Micotoxinas</i>	420
<b>Conclusões</b>	<b>422</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>423</b>

Hélio José Montassier

## Introdução

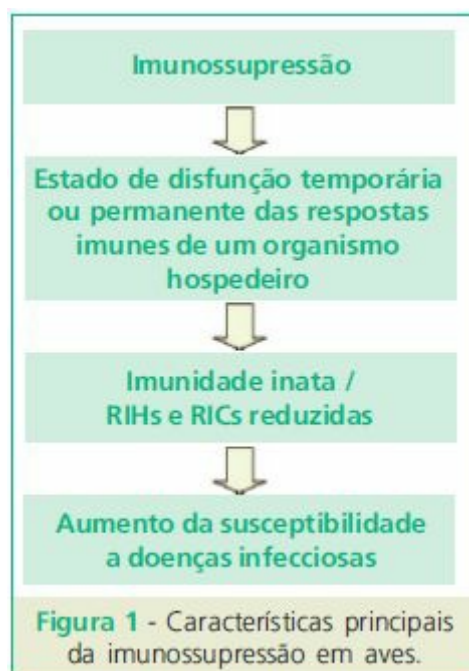
O controle de doenças infecciosas é de capital importância para o manejo adequado das criações avícolas comerciais. Desta forma, pode-se alcançar uma melhor condição sanitária e a maximizar a capacidade de produção das aves submetidas a este sistema de criação. Assim, os produtores e técnicos envolvidos na avicultura moderna têm dedicado uma parcela considerável de tempo e de trabalho para monitorar o estado sanitário e o desempenho das aves destinadas à produção. Nesse contexto, sabe-se que vários aspectos podem interferir nas condições ideais de saúde das aves em produção, tais como as características genéticas desses animais, os programas de prevenção e de vacinação, a utilização ou não de medicamentos, de aditivos em rações e as medidas de biossegurança, que são adotados em uma determinada granja.

Os principais tipos de aves mantidas em criações comerciais, como frangos de corte, galinhas de postura, matrizes e perus, estão sujeitas a constantes situações de desafios, naturais ou, na maioria das vezes, artificialmente induzidos, os quais atuam na estimulação contínua do sistema imune das aves. Em decorrência disso, o organismo hospedeiro de tais aves tem que enfrentar um grande número de diferentes tipos de agentes agressores de natureza infecciosa ou não, por meio do pleno e eficiente funcionamento do sistema imune, cuja organização estrutural é bastante complexa e depende de diversos tipos celulares e de mediadores químicos, que agem em conjunto, a fim de proporcionar os mais efetivos mecanismos de resistência contra tais tipos de desafio.

Em adição às exigências requeridas pelos agentes infecciosos para o constante funcionamento do sistema imune, surgem as enfermidades imunossupressoras, que se constituem um dos problemas mais sérios para a produtividade da avicultura moderna, pois trazem como principal consequência, grandes prejuízos a essa atividade econômica. Nos sistemas de produção intensiva, tal como acontece atualmente na avicultura industrial, as doenças que afetam o sistema imune representam um grande e crescente problema para se alcançar um rendimento ideal na produção desses animais. Por seu caráter insidioso, geralmente, levam à geração de efeitos deletérios, mais perceptíveis a médio e longo prazo, acarretando, não raro, falhas de vacinação, maior taxa de condenação de carcaças e mortalidade, ou baixa taxa de conversão alimentar e de produção de ovos. Além disso, acarretam maiores custos de produção, decorrentes da morbidade mais elevada para outros patógenos, pois são gerados maiores gastos com a aquisição de medicamentos, cujo uso é imprescindível nessas circunstâncias (Fussel, 1998).

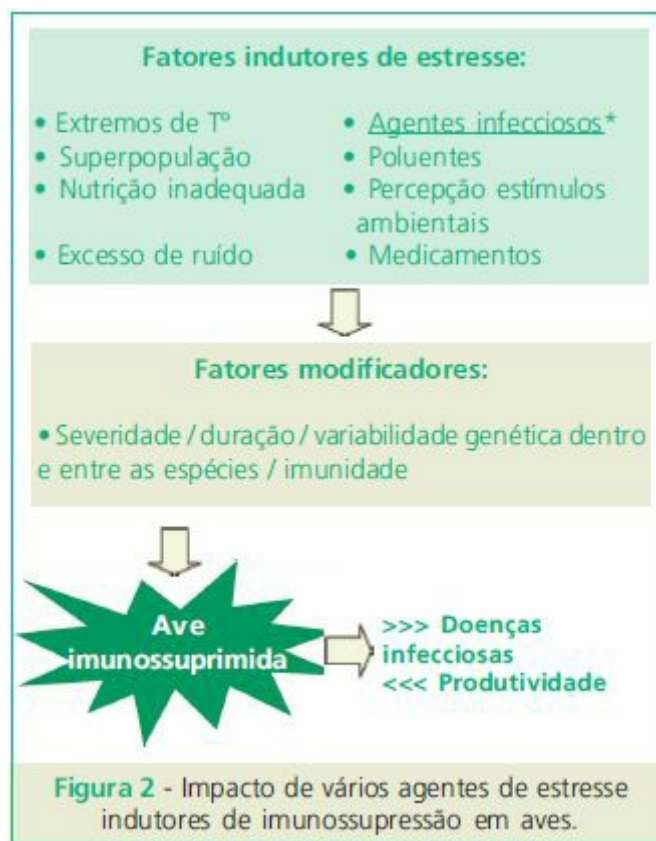
A imunossupressão deve ser conceituada como um estado de disfunção temporária ou permanente das respostas imunes em um organismo hospedeiro, sendo resultante de um ou mais danos sofridos pelo sistema imune desse indivíduo os quais afetam principalmente os seus elementos chave celulares e moleculares. Dessa forma, a consequência mais evidente do estado de

imunossupressão é um aumento da susceptibilidade a doenças infecciosas e parasitárias, em razão do mau funcionamento da imunidade inata ou da adaptativa, o qual compromete os principais mecanismos efetores de resistência do organismo hospedeiro, que atuam como os meios de proteção mais importantes contra uma ampla gama de agentes infecciosos (**Figura 1**).



**Figura 1** - Características principais da imunossupressão em aves.

Nesse contexto, a influência exercida por fatores ambientais e de manejo sobre o funcionamento do sistema imune dos animais vem contribuir para agravar o problema da imunossupressão, especialmente quando se considera que nas condições da maioria dos sistemas produtivos avícolas, são utilizados atributos e cuidados voltados mais a maximizar a produção em detrimento do estado sanitário ideal. No entanto, as práticas modernas de avicultura não devem desconhecer que as condições de manejo, isto é, alimentação, foto- período, vacinações, dentre outras, quando direcionadas somente para obter um máximo de desempenho das aves, mesmo diante de falhas nas vacinações, acabam acarretando perdas relevantes ao final do processo produtivo, como uma maior taxa de condenação de carcaças no processamento ao abate, distanciando-se dos procedimentos ideais e capazes de fornecer os melhores retornos financeiros. Na verdade, as estratégias ideais de manejo devem procurar balancear os atributos de produção com a capacidade de proteção imune das aves contra uma imensa gama de agentes infecciosos, de forma que ao final do ciclo produtivo, seja alcançado o maior número possível de aves com baixa presença de patógenos ou, melhor ainda, isentas desses mesmos microrganismos, exibindo boa performance de ganho de peso e das taxas de conversão alimentar (Dietert *et al.*, 1994), conforme **Figura 2**.



**Figura 2** - Impacto de vários agentes de estresse indutores de imunossupressão em aves.

Vários são os tipos de agentes imunossupressores que afetam mamíferos e aves, destacando-se os vírus, as bactérias, os fungos e os protozoários, as toxinas microbianas, as substâncias químicas, especialmente os pesticidas, os estados de deficiência de certos fatores nutricionais e a participação de indutores de estresse físico e fisiológico.

A imunossupressão pode ser antígeno-específica ou generalizada, comprometendo, nesse último caso, todo o conjunto das respostas imunes inatas e adaptativas do hospedeiro, pois atinge preponderantemente os dois tipos principais de células imuno-competentes. Isto é, os linfócitos T e os linfócitos B. Uma vez que as respostas imunes dependem de uma grande e complexa rede de interações entre células imuno-competentes e auxiliares para se desenvolver, bem como de seus mediadores moleculares (citocinas ou interleucinas), a injúria ou a disfunção de tais populações celulares, chaves para o bom funcionamento do sistema imune, acarretarão um aumento da susceptibilidade ao desenvolvimento de infecções oportunistas, de neoplasias e falhas no desenvolvimento de imunidade após a administração de vacinas.

O ponto principal do presente assunto diz respeito aos mecanismos de imunossupressão induzidos por agentes infecciosos, toxinas microbianas (em especial as micotoxinas), condições inadequadas de alimentação, particularmente quanto à qualidade e à quantidade dos componentes de dietas alimentares e agentes de estresse (**Figura 3**). Esses agentes, embora sejam investigados, ainda não tiveram todos os seus mecanismos de patogenicidade completamente elucidados e entendidos. Poucas são as situações em que se pode delimitar e definir as funções do sistema imune que são realmente afetadas por tais tipos de agentes. No entanto, é importante ser levantados alguns pontos mais relevantes do conhecimento atual e descobrir os caminhos que possam levar a uma caracterização mais pormenorizada dos mecanismos imunossupressores envolvidos em cada caso, a fim de que possam ser desenvolvidas e adotadas medidas mais adequadas e eficientes de diagnóstico, de prevenção, de terapêutica e de manejo para fazer frente



à maioria das enfermidades que produzem estado de imunossupressão em aves domésticas.

Principais agentes imunossupressores	Exemplos
Microrganismos	*Vírus Imunossupressores, Bactérias
Toxinas	Micotoxinas
Substâncias Químicas	Poluentes(*Pesticidas), Fármacos
Fatores Nutricionais	Deficiências de Vitaminas / Minerais
Fatores Físicos	Extremos de T°, Excesso de Ruído
Fatores Fisiológicos	Estresse–Excesso Populacional

**Figura 3 - Agentes infecciosos ou tóxicos imunossupressores para aves.**

## Bases gerais do funcionamento do sistema imune

O funcionamento global do sistema imune e, sobretudo aquilo que concerne à gênese de respostas imunes, depende de fenômenos bastante complexos. No entanto, os mecanismos através dos quais o sistema imune e todo o organismo hospedeiro coordenam e colocam em curso um conjunto de respostas de proteção contra os agentes infecciosos começam a ser melhor compreendidos.

Desse modo, após o reconhecimento apropriado, é promovida a eliminação de tais patógenos do meio interno do organismo, ou é limitada a progressão do processo lesivo por eles induzido.

Assim, de posse do conhecimento, ainda que incompleto, sobre como esse sistema responde aos agentes infecciosos, podem ser encontrados meios mais efetivos de se intervir no mesmo, fazendo a modulação de respostas imunes dos organismos hospedeiros contra tais patógenos, a fim de que sejam desenvolvidos estados de proteção mais eficientes contra os mesmos.

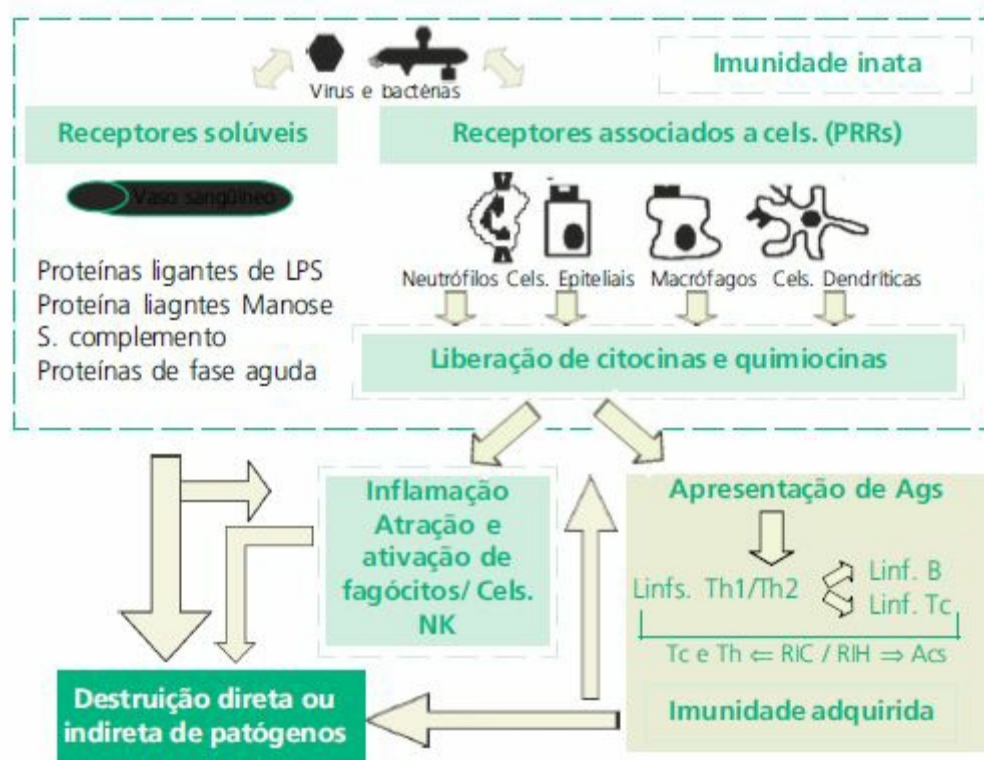
Sabe-se que tão logo uma ave contrai uma infecção, entra em curso um conjunto de respostas do sistema imune, composto por órgãos, tecidos, células e moléculas ou fatores solúveis, cuja função primordial é o reconhecimento e a eliminação de macromoléculas individuais ou agregados moleculares presentes na composição da estrutura de parasitas ou patógenos, fazendo assim, a manutenção da composição macromolecular normal desse mesmo organismo hospedeiro. As respostas imunes adaptativas ou adquiridas elaboradas por esse sistema caracterizam-se por três atributos essenciais: reconhecimento, especificidade e memória.

O sistema imune pode, por seu turno, ser dividido sob o ponto de vista funcional, em duas partes: imunidade inata e imunidade adquirida ou adaptativa. A primeira é a forma mais primitiva de resposta imune e desenvolve-se e é ativada antes da imunidade adaptativa, sendo que a maioria de seus mecanismos entram em curso logo após o nascimento. Além disso, a imunidade inata é caracterizada por não apresentar antígeno- especificidade e memória e, ainda, por ter uma duração mais prolongada e ser menos eficiente na destruição e eliminação de agentes infecciosos. No entanto, é considerada uma forma de imunidade muito importante, pois é a primeira linha de defesa contra os agentes patogênicos. O sistema imune adaptativo se expressa por meio das respostas imunes humorais (RIH), onde os principais mediadores são os anticorpos (Acs) e as respostas imunes cito-mediadas (RIC), as quais são mediadas mais diretamente por linfócitos T efetores (Tc e Th). Estas respostas imunes são denominadas de imunidade burso-associada e

imunidade timo- associada, respectivamente, sendo que as repostas de imunidade adaptativa são caracterizadas por três atributos básicos: reconhecimento, especificidade e memória. O que permite ao organismo hospedeiro responder mais rapidamente e com maior intensidade e efetividade a partir de um segundo desafio feito por um dado patógeno (**Figura 4**).

Na organização do sistema imune para que se expresse a sua capacidade de fazer a homeostase da composição macromolecular normal de um organismo vertebrado superior, há necessidade, principalmente, da existência de elementos celulares (células fagocíticas ou apresentadoras de antígenos- fagócitos polimorfo e mononucleares, células dendríticas e células imunocompetentes – linfócitos T e B) e moleculares (Pattern-Recognition Receptors – PRRs, presentes em células apresentadoras de antígenos e em fagócitos e os receptores para antígenos de linfócitos B ou T) capazes de reconhecer com precisão, ou melhor, identificar e discriminar as macromoléculas próprias das não próprias, denominadas Pathogen Associated Molecular Paterns-PAMPS, ou antígenos, em pequenos trechos de sua composição estrutural e imuno-química que, para o caso de antígenos, são chamados epítomos ou determinantes antigênicos.

A propósito, sabe-se que o sistema imune dos vertebrados reconhece, primeiramente, padrões moleculares associados aos patógenos (Pathogen- Associated Molecular Patterns - PAMPs) através de receptores de reconhecimento desses padrões (Pattern Recognition Receptors - PRRs), acarretando o desenvolvimento de respostas de defesa do organismo hospedeiro, como reações inflamatórias agudas, que são caracterizadas principalmente pelo recrutamento e maior ativação de fagócitos, que atuam no sentido de restringir a propagação ou disseminação desses agentes infecciosos, ou então de favorecer uma maior captura, processamento e apresentação de antígenos derivados dos agentes infecciosos (Janeway & Medzhitov, 2002) (**Figura 4**).



**Figura 4** - Mecanismos de imunidade inata e de imunidade adquirida contra agentes infecciosos (vírus e bactérias). (Adaptado de Basset *et al.*, 2003).

Os PRRs estão localizados ou na superfície ou no citoplasma de células de defesa, como os

fagócitos polimorfo e mononucleares, ou de células dendríticas, ou das células NK e sua função é interagir com os PAMPs que estão, na superfície ou no interior dos diferentes tipos de agentes infecciosos, tais como bactérias, vírus, fungos e protozoários (Altamirano & Philpot, 2004). Os principais tipos de PRRs são representados pelos Toll-Like Receptors (TLRs), que têm esse nome devido a sua homologia com a proteína Toll de *Drosophila*, as quais são proteínas transmembranas do tipo I e representam uma nova família de PRRs de vertebrados, que têm a capacidade de reconhecer partes estruturais de moléculas especificamente expressas pelos agentes infecciosos (Akira *et al.*, 2001, Netea *et al.*, 2004) ([Figura 4](#)).

Onze TLRs foram identificados em humanos e em camundongos, sendo que cada membro desses receptores reconhece e responde a diferentes compostos moleculares presentes na estrutura de microrganismos (Akira *et al.*, 2001, Netea *et al.*, 2004). Por exemplo, TLR2 reconhece lipoproteínas, peptídeo-glicanas e ácidos lipoteicóicos de bactérias gram-positivas; TLR3 reconhece RNA de dupla cadeia proveniente do genoma de alguns vírus e também DNA com alto conteúdo I:C de DNA-vírus; TLR4 interage com lipo-polissacarídeo (LPS) de bactérias gram-negativas; TLR5 reconhece flagelina bacteriana e o TLR9 interage com o CpG presente em DNA bacteriano. TLR7 e TLR8 são bastante relacionados e formam um agrupamento com TLR9 e estão implicados no reconhecimento de RNA viral de cadeia única e funcionam também como receptores para substâncias anti-virais baseadas na guanosina como a Loxorrobina. Os TLRs podem também formar complexos para conseguirem interagir e reconhecer outros tipos de PAMPs, como ocorre com TLR1/2, que reconhecem um lipo-peptídeo tri-acetilado bacteriano, enquanto que TLR2/6 reconhecem lipo-peptídeos di-acetilados derivados de *Mycoplasma sp.* (Akira *et al.*, 2001, Netea *et al.*, 2004).

Em galinhas, um total de sete ortólogos dos TLRs humanos foram até agora identificados. O estímulo de macrófagos ou monócitos do sangue periférico de galinhas por meio dos TLRs com diferentes CpG- dinucleotídeos, levaram a indução da expressão gênica de diferentes citocinas, com destaque para IL-1 $\beta$  em macrófagos e IFN- $\gamma$  em monócitos. Além disso, os leucócitos polimorfonucleares são de capital importância na imunidade inata, exercendo funções efetoras de proteção relevantes e que estão diretamente relacionadas à fagocitose e a destruição de agentes infecciosos dentro dos fagócitos, especialmente quando se tratarem de bactérias.

Ainda, deve ser destacado que o principal tipo de fagócitos polimorfonucleares em galinhas são os heterófilos, que são os equivalentes dos neutrófilos de mamíferos e, à semelhança dessas últimas células, os heterófilos exercem um papel muito significativo na fagocitose e morte de microrganismos patogênicos. Foi relatado que os heterófilos expressam constitutivamente todos os sete tipos de TLRs já descritos para as galinhas, sendo que a estimulação específica com agonistas específicos de TLR acarreta a ativação da “explosão respiratória” (geração de compostos microbicidas reativos de oxigênio) dentro desses fagócitos e a degranulação dessas células, levando também a expressão aumentada dos genes codificadores de citocinas pró-inflamatórias por essas mesmas células (Swaggerty *et al.*, 2005). Foram encontradas distinções marcantes na atividade funcional de heterófilos de duas linhagens de galinhas que se comportam, ou como mais resistentes (Linhagem A), ou mais susceptíveis (Linhagem B) a infecções causadas por bactérias gram-positivas (enterococos) ou gram-negativas (*Salmonella enteritidis*), especialmente no que tange à maior expressão de genes de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 $\beta$ , IL-6 e de quimiocinas (Swaggerty *et al.*, 2003, 2004, 2005).

Como foi abordado anteriormente, o sistema imune adaptativo dos vertebrados em geral, incluindo-se as aves, é dividido fundamentalmente em dois segmentos funcionais: imunidade humoral e imunidade celular (**Figura 4**). A resposta imune humoral é caracterizada pela participação de anticorpos, destacando-se as imunoglobulinas das classes IgG, IgM e IgA, que são secretadas por plasmócitos derivados de linfócitos B estimulados após contato e reconhecimento de antígenos, T- dependentes ou T-independentes, com ou sem, respectivamente, a participação de células T auxiliares ( $T_{helper}/TH-CD4+$ ). A resposta imune celular é caracterizada pela participação de linfócitos T efetores; T citotóxicos ( $T_C-CD8+$ ) e T secretores de interleucinas pró-inflamatórias ( $T_{H1}$  ou T de hipersensibilidade tardia- $T_{HT}$ ), que se desenvolvem após o estímulo antigênico sobre linfócitos  $T_H$  ( $CD4+$ ). Outra diferença marcante entre linfócitos B e T, é que o desenvolvimento pleno de cada um desses tipos celulares depende de dois órgãos linfóides primários ou centrais distintos. No caso, as células B iniciam o seu desenvolvimento na medula óssea e completam-no na bursa de Fabricius, enquanto que as células T fazem a sua ontogenia no timo. A partir desses órgãos linfóides centrais (timo e bursa), os linfócitos T e B adultos migram para os órgãos linfóides periféricos, como o baço, as tonsilas cecais, os folículos linfóides associados às mucosas do trato respiratório superior (glândulas de Harder) e inferior, do trato digestório e do trato uro-genital (**Figura 4**).

Assim, deve-se considerar que o sistema imune é constituído por uma rede de componentes celulares que interagem, através de citocinas (IL-1, IL-2, interferon  $\gamma$ , IL-10, IL-12, TNF- $\alpha$ , etc.) e moléculas de citoadesividade (MHC-I-Major Histocompatibility Complex, MHC-II, CD-4, CD-8, CD-40, GP-39, B-7, TCR- T- Cell-Receptor, BCR- B- Cell-Receptor, dentre outros) de maneira altamente regulada, cujos elementos celulares participantes mais importantes são as células apresentadoras de antígeno (macrófagos, células reticulares dendríticas, células interdigitantes) e as células imuno-competentes. Isto é, os linfócitos T e B, as quais sofrem diferenciação, ativação e renovação dentro de um esquema organizado, que acompanha o desenvolvimento da competência imunológica plena, a qual ocorre em uma determinada fase do período pós-natal dos diferentes organismos animais.

Além das células imuno-competentes, células não-linfóides auxiliares e acessórias das respostas imunes, principalmente os fagócitos, polimorfos (heterófilos, nas aves) e mononucleares (monócitos, macrófagos e trombócitos, nas aves) e as células mediadoras de processos inflamatórios, como mastócitos, basófilos, eosinófilos e células endoteliais, bem como as células citotóxicas NK (natural Killer), podem atuar conjuntamente com anticorpos (opsonizantes, líticos, citofílicos) e com linfócitos T, tendo o seu comportamento modulado pelas interleucinas secretadas por estas últimas células, o que contribui decisivamente, na fase efetora das respostas imunes e, mais especificamente, com os mecanismos de destruição ou eliminação. Isto é, fagocitose e citólise, ou neutralização de agentes infecciosos e, também, quando for o caso, de seus produtos metabólicos de natureza tóxica ou enzimática.

Ainda, na gênese e regulação das respostas de imunidade inata e adaptativa, entram em ação os fatores solúveis e secretados pelas células do sistema imune, como as interleucinas e citocinas moduladoras da reação inflamatória secretadas por leucócitos mononucleares (IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6), os reativos intermediários do oxigênio (principalmente o  $O_2$ , e o  $OH$ ), os reativos intermediários do nitrogênio (principalmente o óxido nítrico - NO), produzidos no interior de fagócitos e os sistemas multienzimáticos do plasma sanguíneo (sistema complemento, sistema de coagulação,

sistema fibrinolítico, sistema de cininas e as proteínas plasmáticas de fase aguda), auxiliam ou amplificam os mecanismos de defesa do hospedeiro. Alguns desses fatores agem na indução de hipertermia e na indução e manutenção das reações inflamatórias, as quais são caracterizadas por transudação ou edema, migração aumentada e ativação dos efeitos microbicidas de fagócitos polimorfos e mononucleares, bem como na ativação das células imuno-competentes.

Portanto, deve-se entender que é a somatória de todos esses componentes de natureza celular ou molecular do sistema imune, alguns específicos e outros não específicos, bem como das atividades integradas dos mesmos, que constituem os fatores determinantes mais relevantes da manifestação e evolução dos mecanismos de proteção do organismo hospedeiro contra agentes agressores de natureza infecciosa.

Em vista do exposto, fica evidente que o sistema imune dos animais vertebrados deve ser compreendido, ao mesmo tempo, como o operador biológico principal das reações e dos mecanismos mais eficientes de proteção específica contra os agentes patológicos (vírus, bactérias, clamídias, riquetsias, micoplasmas, fungos, protozoários, helmintos e células tumorais) e como a principal vítima da agressão realizada por uma série de agentes e fatores infecciosos, tóxicos e de estresse, os quais podem atuar para bloquear ou comprometer funções importantes, gerando dessa forma, estados momentâneos ou prolongados de imunodepressão ou imunodeficiência, local ou sistêmica, ou ainda provocando reações deletérias de imunopatologia mediadas pelas reações de hipersensibilidade (Roitt, 1998; Tizard, 1998; Qureshi, 1998).

## **Estrutura e organização anátomo-histológica do sistema imune das aves**

### **Conceitos gerais**

O sistema imune de todos os vertebrados pode ser dividido, como foi anteriormente explanado, em dois compartimentos estruturalmente e funcionalmente diferentes: o sistema burso- associado, composto principalmente por linfócitos B, que em essência, é responsável pela produção de anticorpos (resposta imune – RIH), após estímulo antigênico e o sistema timo-associado, composto principalmente por linfócitos T e fundamentalmente responsável pelas respostas de citotoxicidade e hipersensibilidade tardia (resposta imune celular- RIC). A estrutura e a distribuição dos tecidos linfóides das aves diferem acentuadamente daquelas existentes em mamíferos. Uma das principais diferenças é a ausência de linfonodos na maioria das espécies aviárias. Ademais, o timo das aves é constituído por vários lobos separados, havendo uma coleção óculo-nasal especial de tecido linfóide, denominada glândula de Harder. Ainda, a organização do tecido linfóide junto ao intestino é diferente da que é encontrada em mamíferos, sendo que a distinção mais notória é a presença, nas aves, da Bursa de Fabricius, onde ocorrem os estágios finais do desenvolvimento e a diferenciação dos linfócitos B aviários.

### **Órgãos linfóides primários**

#### **Timo**

O timo é um órgão linfo-epitelial responsável pelo desenvolvimento e amadurecimento das diferentes sub populações de linfócitos T adultos. O timo das aves consiste de duas fileiras de

lobos achatados separados e que se situam de cada lado do pescoço bem próximo a veia jugular (King & Mc Lelland, 1984). Histologicamente constatou-se que o timo das aves e mamíferos são bastante similares (Eerola *et al.*, 1987). A análise histológica revela ainda que os lobos são separados por septos de tecido conjuntivo e se apresentam com duas áreas distintas: a zona cortical e a zona medular (Eerola *et al.*, 1987). A região cortical do timo nas galinhas é subdividida em córtex externo e interno, sendo que o córtex externo contém um número elevado de linfoblastos e o córtex interno apresenta uma predominância de pequenos linfócitos (Goryo *et al.*, 1989a). A região medular do timo se cora menos intensamente devido ao menor número de linfócitos presentes (Hodges, 1974). O interstício do timo consiste de uma rede de células epiteliais reunidas umas as outras por desmossomos. Essa rede de células epiteliais predomina mais na região medular. O timo funciona como órgão linfóide primário, sendo imprescindível para a ontogenia de linfócitos T. Diversamente ao timo de mamíferos, o timo das aves atua como órgão linfóide secundário. O tráfego de células B para o timo começa logo após o nascimento. São também encontrados plasmócitos maduros depois de quatro semanas de idade. Centros germinativos podem aparecer na zona medular do timo, onde a barreira timico-sanguínea é incompleta. Após a imunização, plasmócitos produtores de anticorpos específicos podem ser detectados no timo (Toivanen & Toivanen, 1987).

## **Bursa de Fabricius**

A bursa de Fabricius é também um órgão linfóide epitelial e se constitui de um divertículo (projeção em fundo de saco) da região dorsal média do proctodéum (parte distal da cloaca) (King & McLelland, 1984). Sua superfície interna consiste de várias pregas de diferentes tamanhos. O lúmen interno é delimitado por um epitélio cúbico. No desenvolvimento inicial da bursa há, sob influência das células mesenquimatosas aí presentes, uma grande proliferação desse tecido epitelial que cresce da superfície para o interior da lâmina própria, formando os brotamentos epiteliais. Essas coleções de células epiteliais, juntamente com as células mesenquimatosas, são imprescindíveis para a indução da formação dos folículos linfóides, que se constituem nas principais estruturas onde ocorrem fases importantes do desenvolvimento dos linfócitos B e sua transformação em células imunocompetentes maduras e funcionais. Os folículos bursais que se constituem em unidades funcionais de atividade de células B, estão intimamente associados ao epitélio da superfície através de desmossomos dessas células epiteliais.

Em adição a isso, os antígenos entram em contato com os folículos linfóide da bursa de Fabricius através do epitélio associado aos folículos, pois as células epiteliais da superfície das pregas bursais se diferenciam em células fagocíticas especiais associadas aos folículos linfóides que se revelam bastante ativas na captura de antígenos. Há entre 8.000 e 12.000 folículos em uma bursa madura (Olah e Glick, 1978). A bursa contém uma área especial T dependente, que está presente na parte dorsal desse órgão. É normal o encontro de pequenos agregados de heterófilos associado aos folículos da bursa em aves mais jovens (Aita & Minella, 1983).

A bursa de Fabricius atua principalmente como órgão linfóide primário, podendo, no entanto, funcionar também como órgão linfóide secundário (Eerola, 1987). Nesse último caso, materiais de natureza antigênica aplicados junto à cloaca são ativamente transportados para o interior da bursa de Fabricius. Fenômeno similar ocorre com materiais administrados por via oral, quando

eles alcançam a cloaca. Uma vez no interior da bursa, esses materiais são fagocitados pelas células epiteliais associadas aos folículos linfóides e daí transferidos para a região medular, induzindo, assim, a produção de anticorpos. Desta forma, plasmócitos produtores de anticorpos específicos são observados no interior da bursa após a administração de antígenos. É possível, também, que as funções de órgão linfóide primário e secundário exercidas pela bursa não sejam independentes uma da outra, havendo, na verdade, fortes indicações de que o contato com os antígenos provenientes do ambiente que ocorre nesse órgão.

Imediatamente após o nascimento do pintinho, constitui-se uma atividade muito importante para promover a expansão e o direcionamento do repertório de especificidade dos anticorpos a ser produzidos pela ave (Toivanen & Toivanen, 1987; Pope, 1981).

Ocorre uma atrofia fisiológica da bursa com o início da maturidade sexual, isto é, com a idade de 15 a 24 semanas (Butcher *et al.*, 1989; Naukkarinen & Sorvari 1984).

## Órgãos linfóides secundários

### Baço

O baço das galinhas, como o dos mamíferos, é dividido anatômica e histologicamente, em polpa vermelha e polpa branca. A polpa vermelha é constituída por sinusóides contendo sangue e tecido linfóide difuso. A polpa branca é composta por um tecido linfóide mais denso e organizado, que se estrutura ao redor de vasos sanguíneos, notadamente artérias e arteríolas, acompanhando o trajeto das mesmas e formando o que se denomina de tecido linfóide periarterial (TLPA). No TLPA, predominam células T, embora sejam encontradas áreas B-dependentes (Ronppanen, 1981; Hoffman-Fezer *et al.*, 1977). À medida que as artérias se estreitam, transformando-se em arteríolas dentro do parênquima do baço, elas perdem a camada muscular que é substituída por uma bainha elipsóide ou de Schweigger-Seidel, a qual é constituída por duas camadas de células reticulares cubóides, que, por sua vez, são envolvidas por camada de células linfóides, originando o tecido linfóide perielipsóide (TLPE) (Olah & Glick, 1982). Esse último tecido linfóide apresenta pequenos linfócitos, plasmócitos e macrófagos e é considerado uma área burso-dependente no baço (Cooper *et al.*, 1965; Toivanen & Toivanen, 1977).

Os folículos linfóides com centros germinativos estão presentes dentro do TLPA, bem próximos à artéria central, no local onde elas se ramificam para formar as arteríolas penicilares. O número de centros germinativos aumenta após a imunização e com a idade, sendo verificado que o número de centros germinativos atinge um número máximo quando a ave está com quatro a cinco semanas de idade, ocasião em que a bursa de Fabricius alcança o seu maior tamanho (White, 1981). Posteriormente, ocorre uma redução rápida na quantidade de centros germinativos. Os centros germinativos são predominantemente constituídos por linfócitos B, embora a interação e cooperação com linfócitos T seja necessária para que ocorra o seu desenvolvimento (Toivanen & Toivanen, 1974).

Com relação à ontogenia do baço, sabe-se que ele é colonizado por células linfóides entre o 10º e 11º dias do desenvolvimento do embrião. A polpa vermelha começa a se desenvolver ao redor dos vasos sanguíneos com cerca de oito dias de desenvolvimento do embrião, enquanto a polpa branca inicia a sua estruturação ao redor das artérias depois do 12º dia de vida do embrião

(Payne, 1971; Schaffner *et al.*, 1974). Os primeiros linfócitos B contendo IgM em sua membrana, são observados do 12º dia em diante, sendo que linfócitos B, expressando IgG ou IgA como receptores, somente são encontrados no período próximo ao nascimento. Já os primeiros linfócitos T são detectados no baço próximo ao 16º dia de vida do embrião (Payne & Powell, 1984).

### Tecido linfóide junto aos órgãos

Os vasos linfáticos estão presentes em todas as aves. Eles aparecem durante o período inicial do desenvolvimento embrionário. No entanto, os linfonodos estão ausentes na maioria das espécies de aves, inclusive nas galinhas, que ao invés de linfonodos, apresentam coleções ou concentrações de tecido linfóide junto aos órgãos, que não são delimitadas por cápsula de tecido conjuntivo e são constituídas por predominantemente por pequenos linfócitos T e macrófagos que circundam folículos linfóides, constituídos predominantemente por células B e que apresentam centros germinativos, principalmente depois de estímulos antigênicos. Em galinhas, acúmulos de células linfóides, provavelmente atuando como os linfonodos de mamíferos, foram observados ao longo das veias tibial posterior, poplítea e femoral baixa, sendo que o tamanho dessas coleções linfóides aumenta em resposta ao estímulo antigênico local (Toivanen & Toivanen, 1987).

### Tecido linfóide associado ao trato intestinal

O tecido linfóide associado ao trato intestinal em aves é constituído pela bursa de Fabricius, pelas tonsilas cecais, pelas placas de Peyer (PP), pelo divertículo de Meckel e pelos agregados linfóides, tanto no compartimento intra-epitelial como na lâmina própria da parede intestinal do trato digestório (Toivanen & Toivanen, 1987; Lillehoj, 1993).

A lâmina própria do trato gastro-intestinal constitui o maior sítio efetor de respostas imunes junto às mucosas, sendo que os principais tipos celulares encontrados são os linfócitos, incluindo 20 a 40% de linfócitos B, considerando-se aí os plasmócitos e 40 a 60% de linfócitos T. Outros tipos celulares importantes aí encontrados são: os macrófagos (aproximadamente 10%), eosinófilos (aproximadamente 5%) e mastócitos da mucosa (1 a 3%). Embora haja um grande número de plasmócitos, principalmente aqueles comprometidos com a síntese de IgA, as células T são os tipos celulares mais frequentes na mucosa do trato digestório das aves (Toivanen & Toivanen, 1987; Lillehoj, 1993).

As PP são agregados linfóides presentes no intestino que possuem um tecido linfo-epitelial característico, contendo células com micro-pregas (células M), folículos linfóides, uma zona sub-epitelial B-dependente e uma zona central T-dependente (Owen & Jones, 1974; Befus *et al.*, 1980). Nas galinhas, as PP estão localizadas na porção mais distal do íleo e possuem algumas peculiaridades histológicas, como um maior achatamento do epitélio intestinal que as recobre, ausência de células caliciformes e um maior espessamento da estrutura das vilosidades intestinais que as reveste (Toivanen & Toivanen, 1987). Os antígenos presentes no intestino são absorvidos e processados pelos macrófagos dos centros germinativos dos folículos linfóides, por macrófagos presentes no tecido linfóide difuso e pelas células epiteliais M. A maior parte dos linfócitos B das PP expressam em sua superfície IgG e alguns IgM e IgA (Burns, 1982).

As tonsilas cecais constituem a massa de tecido linfóide mais concentrada do intestino, sendo compostas de duas áreas ovais situadas nas paredes do ceco (Payne & Powell, 1984). As células



linfóides desse órgão se distribuem em dois compartimentos diferentes: a lâmina própria (LP), que é considerada área timo-dependente, e as zonas epitelial e sub-epitelial, que são predominantemente constituídas por fagócitos e células linfóides de diversos tamanhos, sendo consideradas áreas mais burso-dependentes (Payne & Powell, 1984). As células epiteliais que revestem os folículos linfóides das tonsilas cecais são capazes de processar antígenos. São discriminados, ainda, dois tipos de centros germinativos nas tonsilas cecais: aqueles presentes na camada muscular mais profunda, que não são totalmente encapsulados e aqueles próximos à camada epitelial, que são completamente encapsulados (Olah & Glick, 1979).

Ainda foi constatado que as tonsilas cecais não estão presentes logo após o nascimento e, diferentemente do tecido linfóide da bursa de Fabricius, o seu aparecimento e desenvolvimento depende estreitamente de estímulos antigênicos produzidos na mucosa intestinal, os quais ocorrerão após o nascimento, com a ingestão de alimentos e o estabelecimento da microbiota normal e dos microorganismos patogênicos. Somente um número muito reduzido de centros germinativos são encontrados nas tonsilas cecais nos primeiros dias de vida da ave. Posteriormente, com o avançar da idade, embora não se disponha de nenhuma comprovação experimental da influência direta do fator idade, observa-se um desenvolvimento na formação de centros germinativos das tonsilas cecais, o qual guarda uma relação direta com os estímulos antigênicos intensos e contínuos que estão ocorrendo, nessa ocasião, junto à mucosa do intestino, em particular do ceco. No entanto, foi verificado que a bursectomia de embriões de galinha reduz drasticamente o número de centros germinativos das tonsilas cecais (Toivanen & Toivanen, 1987).

Há ainda uma outra estrutura anátomo-histológica linfóide no trato intestinal das galinhas, o divertículo de Meckel (Olah *et al.*, 1984). O afluxo de células linfóides junto ao divertículo de Meckel se inicia mais tardiamente, com cerca de duas semanas de idade, evoluindo para a formação de centros germinativos com cinco a sete semanas de idade, os quais mantêm suas funções até cerca de 20 semanas de idade. São observadas células epiteliais secretoras junto aos agregados linfóides do divertículo de Meckel, o que sugere que ele seja o terceiro órgão linfo-epitelial na galinha. No divertículo de Meckel, são encontradas grandes quantidades de plasmócitos desenvolvidas a partir de linfócitos B aí presentes, que sofreram estímulo antigênico, semelhantemente ao que ocorre na glândula de Harder (Olah *et al.*, 1984).

### **Tecidos linfóide paraocular e paranasal**

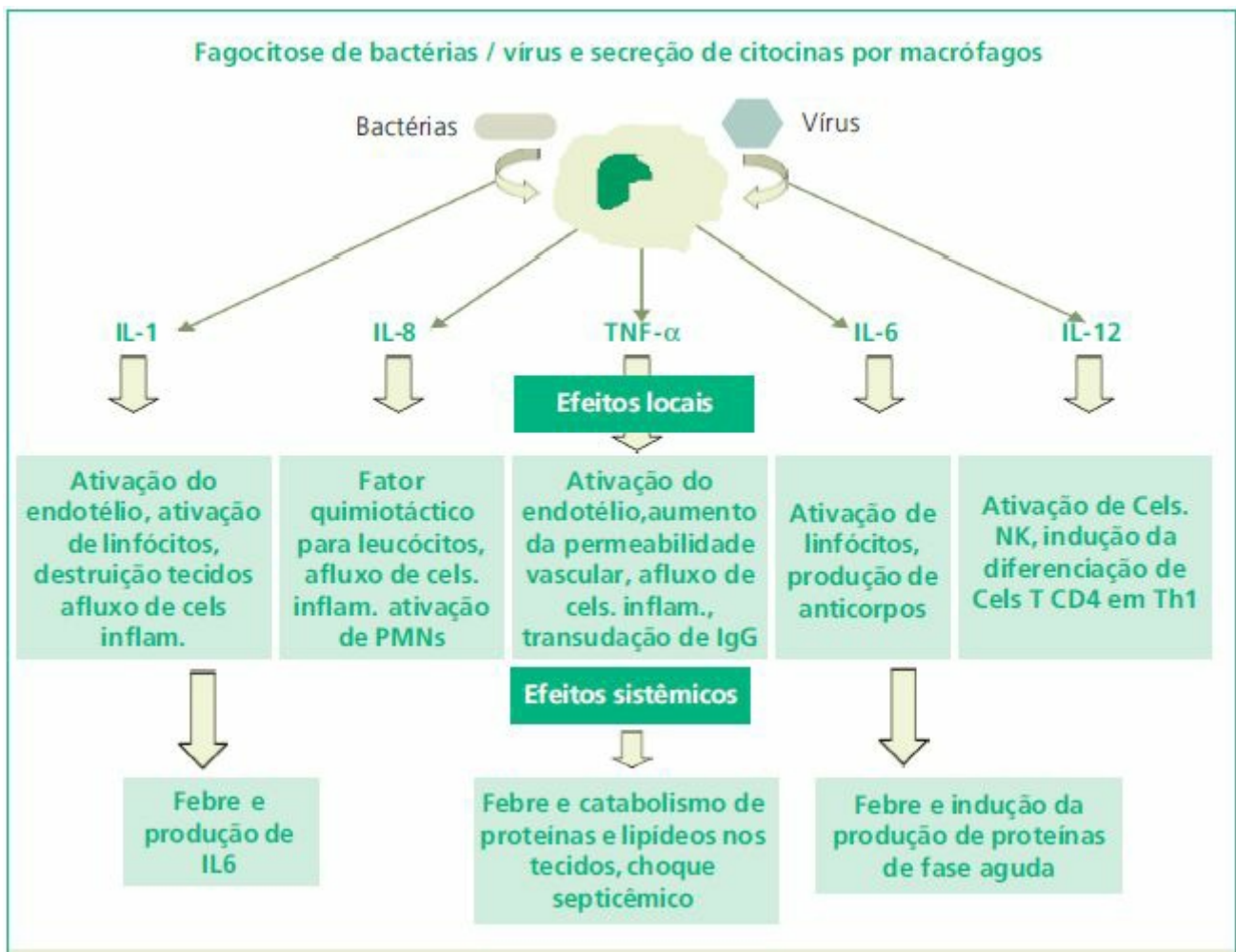
Nas aves, foram descritos vários tipos de coleções de tecido linfóide nas áreas para-ocular e paranasal. O mais importante desses tecidos é o acúmulo de tecido linfóide no interstício da glândula de Harder, que está localizada na cavidade orbital, atrás do globo ocular. O tecido linfóide junto à glândula de Harder é considerado o principal responsável pelas respostas imunes locais que ocorrem nas mucosas ocular, nasal e de outras áreas do trato respiratório superior. A glândula de Harder se desenvolve a partir de uma evaginação do tecido conjuntivo, sendo infiltrada por células linfóides, entre o 17º e 18º dia de desenvolvimento do embrião. Os primeiros plasmócitos são observados na glândula de Harder próximo ao nascimento. Folículos linfóides com centros germinativos são encontrados somente na glândula de Harder, com três a quatro semanas de idade (Toivanen & Toivanen, 1987).

### **Citocinas: mediadores solúveis do sistema imune**

As citocinas podem ser definidas como um grupo de proteínas ou peptídeos solúveis, produzidas por diversos tipos celulares do organismo hospedeiro, em especial linfócitos T e fagócitos ou células dendríticas, as quais em baixas concentrações são capazes de regular o funcionamento de células e tecidos do organismo hospedeiro e, em especial, do sistema imune inato e adaptativo, sendo que a atuação das citocinas tem reflexos importantes na proteção efetiva, ou, inversamente, na patogenia relacionadas a várias enfermidades infecciosas. Além disso, as citocinas são necessariamente produzidas por células não organizadas em órgãos glandulares específicos, o que as diferencia dos hormônios. As funções das citocinas podem ser subdivididas em sete grupos principais:

1. Proliferação e diferenciação de linfócitos.
2. Desenvolvimento linfocitário e de células sanguíneas, especialmente leucócitos polimorfo e mononucleares.
3. Tráfego de células linfóides ou de células acessórias do sistema imune.
4. Interação com o sistema nervoso.
5. Definição da arquitetura linfóide.
6. Controle de mecanismos efetores imunes, da reação inflamatória, da imunidade inata e da apresentação de antígenos.
7. Tem ficado patente, contudo que a principal função das citocinas é promover a ativação e regulação dos diferentes tipos celulares que compõem o sistema imune (Wigley & Kaiser, 2003).

As citocinas são, conforme descrito anteriormente, produzidas por uma ampla variedade de células, não obstante o tipo de citocina produzida varie bastante na dependência da atividade funcional da célula secretora. Por exemplo, as células epiteliais podem produzir citocinas envolvidas na geração de respostas inflamatórias, as chamadas citocinas pro-inflamatórias tais como IL-6 e IL-8, ao passo que os macrófagos podem produzir tanto essas citocinas como outras pró-inflamatórias, tais como o TNF- $\alpha$  e a IL-1 ([Figura 5](#)) e também as citocinas mais relacionadas à ativação e regulação dos linfócitos TH, durante o desenvolvimento de uma resposta imune adaptativa. Todas as citocinas atuam através de receptores específicos presentes na superfície das células-alvo, o que pode resultar na ativação ou na inibição das atividades de tais células. As citocinas têm sido classificadas em vários grupos com base em suas atividades funcionais e nas células que as estão produzindo ou nas células alvo de suas ações biológicas, consoante mencionado acima (Wigley & Kaiser, 2003).



**Figura 5** - Importantes citocinas secretadas por macrófagos em resposta a bactérias e vírus (adaptada de Janeway & Travers, 1997).

Embora, já tenham sido muito bem descritas para várias espécies de mamíferos, as funções de citocinas e outras proteínas relacionadas são pouco conhecidas nas aves. Avanços mais recentes em genética e imunologia aviária têm possibilitado a realização de estudos mais acurados sobre citocinas em condições fisiológicas normais ou durante o curso de doenças. As citocinas aviárias podem ser classificadas de diferentes maneiras, porém, o mais freqüente é separá-las em quatro grupos principais, com base em suas atividades biológicas mais marcantes. Assim, existem as citocinas pró- inflamatórias ou anti-patógenos, tais como a interleucina 1 (IL-1), a interleucina 6 (IL-6), o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), os interferons do tipo I (IFN $\alpha$  e IFN $\beta$ ) e as quimiocinas como a CXCLi2, que anteriormente era denominada IL-8 (Figura 5). Existem, também, as citocinas relacionadas mais diretamente às respostas de células T, como a interleucina 12 (IL-12) e o interferon gama (IFN- $\gamma$ ), que estão envolvidas com as respostas de células Th1, a interleucina 4 (IL-4) e a interleucina 13 (IL-13), que estão mais relacionadas às respostas de células Th2 e, ainda, as citocinas mais associadas aos linfócitos T regulatórios, como o fator beta de crescimento e transformação de células (TGF- $\beta$ ) e a interleucina 10 (IL-10), que, via de regra atuam na inibição das atividades de células Th e Tc .

As principais dificuldades para a investigação das funções biológicas de citocinas em aves estão associadas à disponibilidade restrita de citocinas aviárias recombinantes ou de anticorpos monoclonais específicos o que impede a montagem de testes imunoenzimáticos destinados à mensuração de tais proteínas. Deve ser também considerado que há poucos bio-ensaios confiáveis para serem aplicados na quantificação dessas citocinas. Nesse sentido, verifica-se que o advento

de novas tecnologias tais como a técnica quantitativa de RT-PCR em tempo real permitiu que se fizesse a quantificação da expressão de RNA mensageiro dos genes codificadores de várias citocinas aviárias importantes, sem a necessidade de serem usados os ensaios sorológicos ou biológicos. Essa situação abriu uma série de novas possibilidades para a pesquisa dos níveis de citocinas em aves saudáveis ou com processos infecciosos, proporcionando, assim, um entendimento cada vez maior dos mecanismos da patogenia e da imunidade do organismo hospedeiro aviário.

## Enfermidades indutoras de imunossupressão em aves

Muitas das alterações clínicas e patológicas que são observadas nos tecidos linfóides de aves, são comumente produtos de múltiplos agentes patogênicos e não de uma única entidade etiológica (Pope, 1991). É necessário, então, que seja feita uma abordagem de conjunto para se chegar ao diagnóstico correto. Muitas vezes, é imprescindível que lance mão de vários recursos laboratoriais, especialmente técnicas de isolamento e identificação morfo-fisiológica, antigênica ou genômica para que se faça a identificação definitiva da etiologia do processo patológico (**Figura 6**).



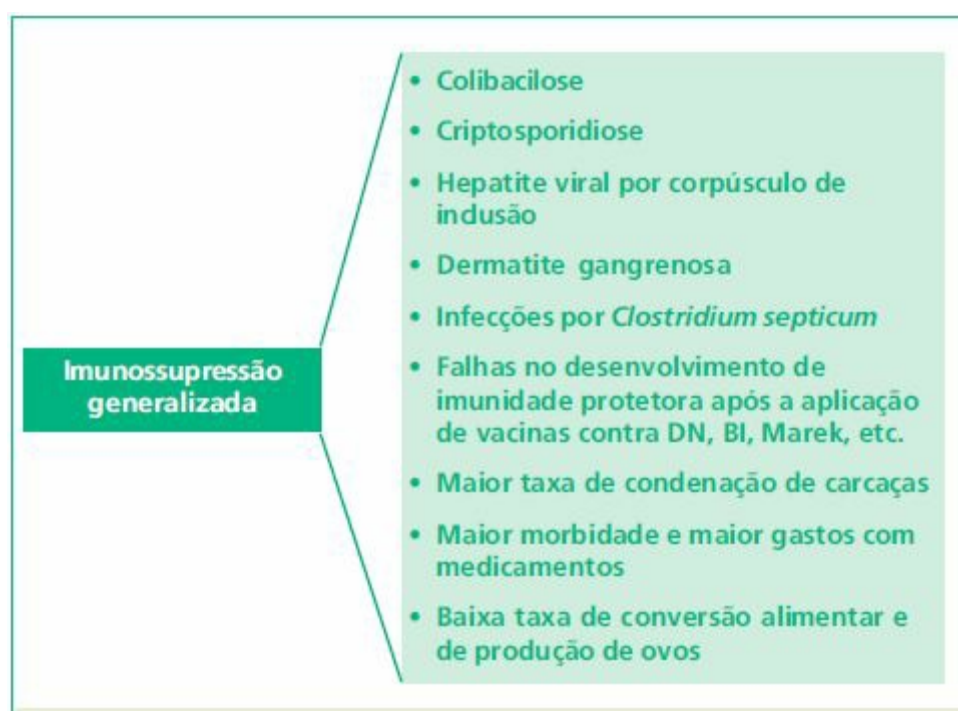
**Figura 6** - Etiopatogenia da imunossupressão.

Não raro, além de se fazer a análise das lesões macro e microscópicas dos órgãos linfóides, é preciso que sejam analisados outros órgãos e tecidos não linfóides. Por exemplo, lesões de rarefação de linfócitos na região cortical do timo acompanhadas de lesões hepáticas são indicativas de aflatoxicose, uma vez que lesões hepáticas não estão presentes em aves com os lobos tímicos normais e que a involução do timo está, de fato, associada com aflatoxicose em aves (Pier *et al.*, 1980). Assim, é razoável supor que a perda linfocitária observada na zona cortical do timo, nesse caso, está provavelmente relacionada à aflatoxicose. Contudo, essa medida deve ser

encarada como diagnóstico presuntivo, devendo por conseguinte, ser acompanhada de outros procedimentos para fazer o diagnóstico definitivo, pois a avaliação histológica de órgãos ou tecidos linfóides de aves que se apresentam com quadro de imunossupressão, freqüentemente não resulta no reconhecimento de lesões patognomônicas (Pope, 1991).

## Reconhecimento de condições e enfermidade comumente associadas com imunossupressão

Há algumas doenças que estão mais diretamente associadas com estados de imunossupressão em aves. Dentre essas doenças, destacam-se a colibacilose, a criptosporidiose e infecções, tais como a hepatite com corpúsculo de inclusão causada por adeno- vírus, a dermatite gangrenosa e outras infecções produzidas pelo *Clostridium septicum* (Pope, 1991; Vielitz, 1988) ([Figura 7](#)). Deve-se salientar que a forma sistema imune específico. Em adição a isso, já é fato reconhecido que a aflatoxicose em aves leva a um aumento da susceptibilidade à coccidiose, candidíase e salmonelose.



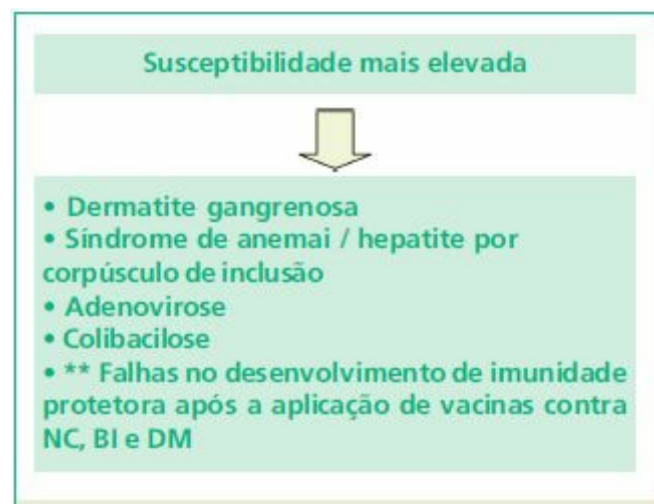
**Figura 7** - Resumo das principais manifestações clínico-patológicas da imunossupressão em aves (Fussel, 1998; Pope, 1991).

Em adição a essas enfermidades, uma evidência significativa do estado de imunodepressão em aves é a observação de falhas vacinais, isto é, a baixa indução de respostas imunes após a administração de vacinas de uso rotineiro na avicultura, como contra a doença de Newcastle, contra a bronquite infecciosa aviária, contra a doença de Marek, entre outras. No entanto, a ocorrência isolada de falhas vacinais não deve ser diretamente associada com a imunossupressão, já que outros fatores ou condições podem interferir nesse caso, levando a esse mesmo tipo de resultado final ([Figura 7](#)).

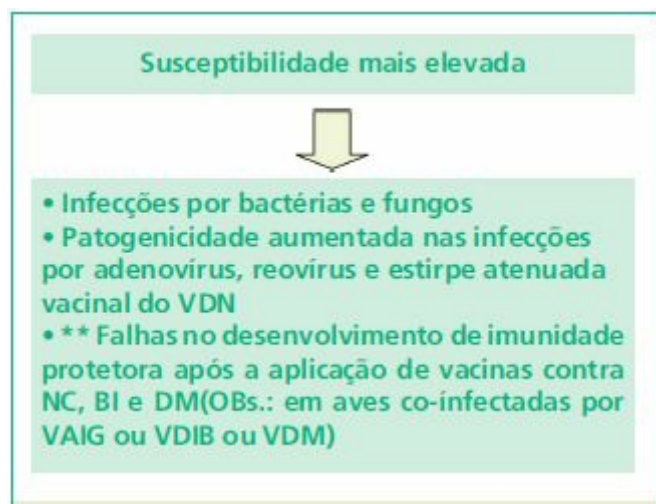
## Reconhecimento de enfermidades imunossupressoras

Os agentes imunossupressores de natureza biológica mais importantes que atingem as aves exploradas economicamente são classificados em duas categorias: agentes virais e as micotoxinas (Pope, 1991) ([Figura 7](#)).

As enfermidades virais indutoras de imunossupressão em galinhas são representadas pela doença infecciosa da bursa ([Figura 8](#)), pela anemia infecciosa aviária ([Figura 9](#)), pelas reovirose e pelas três doenças tumorais linfo- proliferativas induzidas por vírus aviários. No caso, o vírus da doença de Marek (VDM), o vírus da leucose linfóide e da reticuloendoteliose (VLLR) (Kibenge *et al.*, 1988; Yuasa, 1989; Sharma, 1979). A par disso, alguns isolados de *Reovírus* são capazes de causar uma enorme depleção de células linfóides e, experimentalmente, foi demonstrada a sua ação de imunossupressora (Sharma & Rosenberger, 1987). Deve-se destacar, também, o considerável interesse atual nos mecanismos de patogenia e de indução da imunossupressão ou de disfunção imune que são provocados por um adenovírus causador da enterite hemorrágica (VEH) de perus e, em adição a isso, dos efeitos da provável associação de coronavírus com astrovírus na etiopatogenia da síndrome da enterite e mortalidade dos perus (PEMS), em vista das perdas econômicas para a atividade de produção dessa espécie de aves. A imunossupressão ou imunodisfunção induzidas pelo VEH e na PEMS em perus têm seus efeitos negativos potencializados por infecções secundárias bacterianas e, no caso do VEH, podem ocorrer mesmo em granjas de perus vacinados com uma estirpe atenuada do adenovírus da EH.



**Figura 8** - Características clínico-patológicas decorrentes da imunossupressão na doença infecciosa da bursa (Cho, 1970; Craft *et al.*, 1990; Fadley *et al.*, 1976; Higashihara *et al.*, 1991; Hirai *et al.*, 1974 e 1979; Hirai & Calnek, 1979, Ismail & Saif, 1991; Ivanyi, 1975; Ivanyi & Morris, 1976; Lukert & Saif, 1997; Mazariegos *et al.*, 1990; Moradian *et al.*, 1990; Muller *et al.*, 1986; Nakai *et al.*, 1981; Nusbaun *et al.*, 1988; Onaga *et al.*, 1989; Pejkovski *et al.*, 1979; Rosenberger & Gelb, 1978; Rosenberger & Cloud, 1998; Wyeth, 1975).



**Figura 9** - Características clínico-patológicas da imunossupressão na anemia infecciosa das galinhas (Chettle *et al.*, 1989; Boer *et al.*, 1989; McNulty *et al.*, 1989; Vielitz, 1989; Bulow & Schat, 1997; Yuasa *et al.*, 1979; Yuasa & Imai, 1986; Yuasa & Yoshida, 1983; Yuasa, 1989).

Há, ainda, que se considerar duas outras infecções virais muito graves que acometem as aves, como a que é causada pela estirpe viscerotrópica e velogênica do vírus da doença de Newcastle e a outra causada pelo influenzavírus aviário. Tais processos infecciosos provocam uma grande destruição de células linfóides durante sua evolução, sendo biologicamente imunossupressoras, embora não sejam consideradas como condições patológicas tipicamente indutoras de imunossupressão em criações comerciais de aves, em razão de apresentarem outros sintomas e lesões caracterizados, geralmente, por taxas muito elevadas de morbidade e de mortalidade. Isso obriga a implementação de medidas muito específicas de controle e erradicação (Cheville, 1975). Além destas condições, adquirem destaque as micotoxinas, cujas atividades imunossupressoras em aves domésticas já foram demonstradas e incluem entre os seus principais representantes a aflatoxina, os tricotecenos e a ocratoxina A (Pier, 1979; Corrier, 1991).

Além de agentes biológicos indutores de imunossupressão, alguns fatores que interferem no estado nutricional e nas condições metabólicas e fisiológicas das aves, bem como o estresse, têm-se revestido de importância crescente como causa de imunodepressão, em aves, podendo, uma vez desconsiderados, levar a taxas mais reduzidas de crescimento e de conversão alimentar e a uma susceptibilidade aumentada a doenças infecciosas. Dentre os agentes indutores de estresse, destacam-se a temperatura ambiente, desde a fase de incubação, a ventilação e qualidade do ar, a densidade populacional, o espaço no comedouro, o acesso a água de bebida de boa qualidade, o nível de ruído ambiente e o foto-período a que as aves são submetidas (Dietert *et al.*, 1994).

## Avaliação da imunocompetência em aves

É bastante razoável supor que agentes biológicos que tenham um tropismo direto para qualquer dos órgãos linfóides primários ou secundários podem causar alterações no funcionamento do sistema imune. Os principais efeitos provocados por esses agentes são necrose de populações celulares específicas desses órgãos ou atrofia dos mesmos (Quereshi *et al.*, 1998). Por exemplo, pintinhos infectados experimentalmente com o vírus da doença infecciosa da bursa (VDIB), apresentam lesões proeminentes na bursa de Fabricius, com a presença de replicação viral, necrose de linfócitos bursais e depleção de células linfóides nesse mesmo órgão. Ainda, essas

aves apresentam baixas concentrações séricas de IgM (Rodenberg *et al.*, 1994). Foi observado que as aves infectadas com VDIB tornam-se mais susceptíveis a uma série de doenças infecciosas e mais sujeitas a falhas vacinais (Saif, 1991).

Primeiramente pode-se lançar mão de técnicas gerais, como fazer a contagem total e diferencial de leucócitos do sangue periférico, avaliar o tamanho e peso de órgãos linfóides primários e secundários, analisar histologicamente esses mesmos órgãos, mensurar a fração gama globulina no plasma ou soro sanguíneo, visando a obtenção de informações indiretas sobre o real estado imunitário desses animais. No entanto, dados mais precisos só serão obtidos se forem avaliadas propriedades e funções específicas do sistema imune, Ou seja, a capacidade das aves, previamente vacinadas ou não, de resistirem a infecções natural ou artificialmente induzidas (Quereshi *et al.*, 1998).

Em virtude da enorme dificuldade em se monitorar a competência imune das aves através de testes de desafio é recomendada a adoção de outros métodos. Por exemplo, podem ser usadas, em uma primeira abordagem, as técnicas destinadas à determinação do número de linfócitos B e das subpopulações de linfócitos T ( $T_H/CD4^+$  e  $T_c/CD8^+$ ), a capacidade de a ave desenvolver respostas imunes humorais, sintetizando anticorpos contra antígenos T-dependentes e T-independentes. Além disso, pode ser mensurada a capacidade de esses animais realizarem resposta imune celular, a qual é avaliada, pela intensidade de reatividade do organismo hospedeiro ao teste de hipersensibilidade cutânea tardia, realizado na barbela, ou no espaço inter-digital, ou o índice de transformação blástica de linfócitos colhidos dessas aves e estimulados com mitógenos de células T (Concanavalina A – Con A e fito-hemaglutinina - PHA), ou ainda, a atividade quimiotática e fagocítica de macrófagos e heterófilos obtidos dessas aves, que é avaliada através do teste de clearance de partículas de carvão ou de bactérias como a *E. coli* (Quereshi *et al.*, 1998).

Exemplos mais acessíveis para aplicação dos métodos de avaliação da imunocompetência, incluem a mensuração de anticorpos hemaglutinantes em aves imunizadas com hemácias de carneiro, ou a utilização de kits comerciais de ELISA para a titulação de anticorpos específicos em aves vacinadas contra a doença de Newcastle, bronquite infecciosa aviária, doença infecciosa da bursa e *Reovirus* aviário (Quereshi *et al.*, 1998).

Todavia, além de uma ação deletéria direta sobre os elementos celulares mais importantes do sistema imune, deve-se considerar que algumas condições podem atuar no sentido de promover uma perda da capacidade regulatória desse mesmo sistema, acarretando, principalmente, alterações nos processos fisiológicos e metabólicos normais do organismo hospedeiro, com graves conseqüências para o mesmo. Os principais elementos implicados na mediação de patologias advindas de disfunções imunológicas incluem várias citocinas secretadas por macrófagos submetidos a estímulos inflamatórios (**Figura 5**), como o fator  $\beta$  de crescimento de linfócitos T (TGF- $\beta$ ), interleucina 1 (IL-1), a interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Quereshi *et al.*, 1998). Foi constatado que a IL-1 e o TNF- $\alpha$  provocam, nas aves, redução no crescimento e na utilização apropriada e eficiente de nutrientes e, ainda, que tais citocinas estimulam uma rápida mobilização e degradação de proteínas das fibras musculares (Klasing & Johnston, 1991). Além disso, foram encontrados níveis elevados de IL-6 e de TGF- $\beta$  em aves com síndrome de ascite (Rath *et al.*, 1995). Assim, deve-se ficar alerta e considerar o papel dessas citocinas na etio-patogenia de doenças metabólicas não infecciosas, mas que podem



envolver a disfunção de elementos celulares do sistema imune, como parece ocorrer com a síndrome de ascite (Klasing, 1998, Quereshi *et al.*, 1998).

Portanto, a avaliação do funcionamento do sistema imune é de suma importância para se diagnosticar e elaborar o prognóstico e a prevenção mais efetiva de enfermidades imunossupressoras e indutoras de imunodisfunções nas aves destinadas aos sistemas de produção comercial.

## **Avaliação anátomo-histológica do sistema imune de aves imunossuprimidas**

Ao se comparar as estruturas anátomo-histológica do sistema imune de aves e de mamíferos, fica evidente que eles apresentam algumas similaridades, mas ao mesmo tempo diferenças relevantes, conforme foi apresentado anteriormente. Este fato provavelmente é devido à origem comum de aves e mamíferos; a partir dos répteis, com aproximadamente 160 milhões de anos de evolução dicotômica (Horton & Lackie, 1989; Welty & Baptista, 1988). Esses dois grupos de animais apresentaram estruturas comuns como a separação de órgãos linfóides primários ou centrais como o timo, para promover a ontogenia de linfócitos T e órgãos como a medula óssea (mamíferos e aves) e bursa de Fabricius (somente aves) para a ontogenia de linfócitos B, além da presença de órgãos linfóides secundários ou periféricos, onde coleções linfóides são estruturadas em folículos e centros germinativos (linfócitos B) e camadas celulares associadas a esses folículos (linfócitos T) como ocorre com o baço. Diferenças proeminentes são observadas nas aves especialmente no que tange à presença da bursa de Fabricius, da glândula de Harder, tonsilas cecais e a ausência de linfonodos (para a maioria das espécies de aves).

## **Alterações anátomo-histológicas de imunossupressão em aves**

### **Alterações no número ou na morfologia de linfócitos presentes em órgãos linfóides primários e secundários**

A redução na população de linfócitos nos órgãos linfóides geralmente se associa, até certo grau, como uma disfunção potencial das respostas imunes, porém estes achados não permitem fazer uma avaliação precisa da intensidade ou do aumento da susceptibilidade a certas doenças apresentadas pelas aves imunossuprimidas. Um dos parâmetros mais comumente investigados, nesse caso, é a relação entre o peso da bursa de Fabricius e o peso vivo da ave, após o desafio ou infecção natural (Cho & Edgar, 1972; Nakamura *et al.*, 1986). Além disso, um decréscimo na relação entre o peso da bursa e o peso vivo da ave se traduz como um maior potencial de desenvolvimento de imunossupressão, bem como o achado de outras lesões mais características, por exemplo, na infecção pelo VDIB. Em adição a isso, foi verificado que alterações numéricas (aumento na contagem) e morfológicas nos linfócitos presentes em órgãos linfóides podem ser observadas em neoplasias induzidas por vírus como a DM e a LL.

### **Estimativa do número de centros germinativos nos órgãos linfóides de aves imunossuprimidas**

Os centros germinativos (CGs) são estruturas histológicas e funcionais do sistema imune

destinadas à interação com os antígenos e à elaboração de respostas imunes humorais. Os CGs funcionam principalmente para permitir a expansão clonal e a diferenciação de linfócitos B efetores e antígeno-específicos (Stein *et al.*, 1982). A meia-vida e o número de CGs provavelmente se relacionam tanto com a intensidade, como com a persistência do estímulo antigênico. Por exemplo, aves cronicamente infectadas com protozoários apresentam um aumento acentuado e prolongado no número de CGs (Riddell, 1987). Em pintinhos, os CGs aparecem, normalmente com 10 dias de idade, mas se essas aves forem submetidas a intensos estímulos antigênicos, os CGs podem surgir mais precocemente, com cerca de quatro dias de idade (Powell, 1987; Ronpannen, 1981).

Os CGs de aves se assemelham mais aos denominados folículos secundários de mamíferos, não sendo encontrados nas aves estruturas similares aos folículos primários dos mamíferos (Pope, 1991). A composição celular dos CGs de aves apresenta células reticulares dendríticas, macrófagos e células B, reunidas nos folículos e células T, organizadas em camadas circundando os folículos que, por sua vez, são envolvidas por camadas adicionais de células reticulares. Plasmócitos não são encontrados dentro dos CGs, mas podem ser observados em áreas adjacentes próximas (Rautenfeld & Budras, 1983; Payne & Powell, 1984; Vainio & Toivanen, 1987).

Avaliação cinética do número de CGs no baço feita em estudos de infecção experimental de pintinhos ao nascimento com agentes virais indutores de imunossupressão, como o vírus da anemia infecciosa das galinhas (VAIG) e o vírus da doença infecciosa da bursa (VDIB), revelaram algumas alterações importantes nos CGs dessas aves. Dessa forma, foi verificado que a infecção com o VAIG induziu um aumento persistente, da segunda até a quinta semana pós-infecção, no número de CGs. Já a infecção com estirpe padrão do VDIB resultou em um ligeiro aumento do número de CGs na segunda semana, sendo que, nas semanas posteriores, foi observado um decréscimo de CGs. Resultados similares foram observados com estirpe variante do VDIB, exceto que o aumento do número de CGs foi mais acentuado na segunda semana pós-infecção. No entanto, efeitos imunossupressores mais acentuados, com queda bastante pronunciada no número de CGs desde a primeira semana até a quinta semana, foram obtidos quando as aves sofreram infecções combinadas de VAIG+VDIB, tanto com a estirpe padrão como a variante desse último. Há fortes indícios, nesse caso, de que as aves submetidas a infecções combinadas com estes vírus não responderiam adequadamente a estímulos antigênicos após a segunda semana de idade. É importante salientar que a ocorrência de mais de uma enfermidade imunossupressora, como essa condição aqui retratada (VAIG + VDIB), não se constitui em fato raro nas criações comerciais de aves domésticas (Pope, 1991).

### Alterações anátomo-histológicas no timo de aves imunossuprimidas

O timo das aves, devido à sua localização e estrutura anatômica, é facilmente observado quando se faz a necropsia desses animais, facilitando ainda a sua mensuração ou pesagem. As alterações patológicas mais freqüentemente observadas no timo são hipoplasia ou atrofia dos lobos tímicos com a presença ou não de congestão, ou raramente de hemorragia, na região cortical. As enfermidades que mais comumente acarretam essas alterações patológicas no timo são anemia infecciosa das galinhas (AIG) (Otaki *et al.*, 1987), doença de Marek (DM) (Calnek & Witter, 1997) e doença infecciosa da bursa (DIB) (Cheville, 1967). É importante destacar que a atrofia do timo geralmente é potencializada quando há infecções virais combinadas, por exemplo, AIG-DM,

AIG-DIB (Otaki *et al.*, 1987; Pope *et al.*, 1989). Foi também verificado que algumas micotoxinas, como a aflatoxina e os tricotecenos (Pier *et al.*, 1979; Hoerr *et al.*, 1981) causam atrofia do timo.

Uma perda ativa de linfócitos da região cortical do timo é freqüentemente observada em enfermidades imunossupressoras nas aves e geralmente é acompanhada de congestão de veias subcapsulares e menos freqüentemente por hemorragia cortical. Reduções no número de linfócitos da zona medular do timo são observadas, quase sempre, após as alterações nos linfócitos da região cortical. A hiperplasia da medular do timo é ocasionalmente observada quando há aumento dos lobos do timo que ocorre na fase de recuperação da infecção experimental pelo vírus da anemia infecciosa das galinhas (VAIG) (Pope *et al.*, 1989).

Pode ser ainda encontrado, na fase inicial de infecções virais, um padrão típico de necrose dos timócitos, que é muito similar ao tipo de necrose induzida pela administração parenteral de corticosteróides (Pope, 1991). Corpúsculos de inclusão intra-nucleares e eosinofílicos são encontrados em linfócitos e células reticulares nos estágios iniciais da infecção VAIG (Goryo *et al.*, 1989b). A infecção experimental simultânea de aves com o VAIG e com o vírus da doença de Marek (VDM) em aves sem nenhuma imunidade prévia para esses patógenos resultam em um “timectomia viral”. (Pope, 1988). Neoplasias de etiologia viral e de ocorrência natural podem produzir alterações no timo, embora esses achados não sejam tão freqüentes (Riddel, 1987). Amostras velogênicas e altamente virulentas do vírus da doença de Newcastle (VDN) podem produzir lesões atróficas muito severas no timo (Riddel, 1987).

O estresse prolongado em aves domésticas, especialmente quando estão presentes níveis elevados de corticosteróides na circulação desses animais, pode levar a alterações anatômicas e histológicas do timo, principalmente caracterizadas por atrofia. Microscopicamente, são observadas lesões focais de necrose de linfócitos da região cortical do timo, com marcante atrofia dessa região e perda da definição da junção córtico-medular (Dohms & Metz, 1991).

### Alterações anátomo-histológicas na bursa de aves imunossuprimidas

As causas gerais de atrofia da bursa incluem inanição, administração de corticosteróides, presença de processos infecciosos e de toxinas de microrganismos e como conseqüência do exercício exagerado (Riddel, 1987). Dentre as enfermidades virais que mais acarretam alterações na bursa, destaca-se a DIB (Helmboldt & Gorman, 1964), a DM (Calnek & Witter, 1997) e a AIG (Goryo *et al.*, 1989b). Algumas estirpes de *Reovírus* aviários também podem causar atrofia da bursa (Sharma & Rosenberger, 1987). Além disso, a prática de vacinar galinhas com o vírus da laringotraqueíte infecciosa, através na inoculação da bursa, levou com freqüência à atrofia desse órgão (Robertson, 1981). Dentre as micotoxinas, foi constatado que a aflatoxina e alguns tipos de tricotecenos provocam a atrofia da bursa (Pier *et al.*, 1979; Hoerr *et al.*, 1981), embora o timo seja bem mais sensível à ação da aflatoxina do que a bursa de Fabricius.

Na verdade, deve ficar claro que várias causas podem levar a atrofia da bursa de Fabricius nos plantéis de frangos submetidos a práticas usuais de produção comercial, destacando-se, no entanto, em alguns países, como o EUA, o vírus da DIB (VDIB) (Pope, 1991). O aumento edematoso da bursa de Fabricius é característico da infecção produzida por certas estirpes do VDIB, excetuando-se contudo, estirpes variantes desse vírus, que são diferentes da estirpe padrão (Metz & Harrison, 1986). Já a hipertrofia provocada principalmente pelo aparecimento de

nódulos na bursa pode ser observada na leucose linfóide (LL), sendo às vezes possível fazer a palpação desses tumores através da cloaca (Purchase & Payne, 1984).

Foi verificado que a redução acentuada no número de linfócitos e perda da estrutura histológica normal da bursa é com frequência causada por vírus como o VDIB (Helmboldt & Gornan, 1964), o VDM (Calnek & Witter, 1997), o VAIG (Goryo *et al.*, 1989b), estirpes velogênicas do VDN (Riddel, 1987), algumas estirpes de *Reovírus* aviário (Sharma & Rosenberger, 1987) e a vacinação por via intra-bursal com vírus da laringotraqueíte (Robertson, 1981). As alterações histológicas produzidas por esses agentes virais são geralmente semelhantes. No entanto, a interpretação de tais lesões bursais pode ser dificultada pelos efeitos do estresse-inanição sobre o conjunto dos linfócitos das aves (Pope, 1991).

A DIB continua a ser uma das mais importantes doenças de frangos de corte que provocam imunossupressão. Sob o ponto de vista histológico, é importante acompanhar os estágios de desenvolvimento dessa infecção e avaliar o nível de danos que vão ocorrendo nos linfócitos presentes na bursa, à medida que a infecção pelo VDIB evolui. Lesões severas conseqüentes da infecção pelo VDIB são observadas em infecções precoces de pintinho. Esse tipo de efeito em pintinhos recém-nascidos infectados com o VDIB parece ser devido a uma transferência inadequada de imunidade passiva materna específica para o VDIB, a qual pode ter sido provocada por falhas de vacinação das aves no matrizeiro (Pope, 1991), ou mesmo decorrente de imunossupressão nas aves matrizes induzida, por exemplo por micotoxinas (Pier *et al.*, 1979).

Ao contrário das estirpes padrão do VDIB, pouca ou nenhuma inflamação e alteração histopatológica são produzidas por estirpes variantes desse vírus (Metz & Harisson, 1986). As lesões mais características e frequentemente observadas após a infecção com essas estirpes em criações de frangos de corte nos EUA são perdas focais de linfócitos nos folículos linfóides, durante a fase aguda da infecção. Além disso, aparecem grandes áreas focais de regeneração nos folículos linfóides durante a fase de recuperação dessa infecção (Pope, 1991a). Wilson *et al.* (1988), sugerindo que o estado de imunossupressão produzido pelo VDIB pode estar mais relacionada à destruição do tecido do estroma da bursa e, por conseguinte, do local apropriado para ocorrer o desenvolvimento e as etapas finais da diferenciação de linfócitos B.

Outras alterações histopatológicas da bursa, associadas com doenças específicas, incluem o aparecimento de metaplasia do epitélio de revestimento das pregas bursais quando a ave é submetida a dietas com níveis deficientes de vitamina A (Riddel, 1987), a necrose dos “brotamentos” de células epiteliais junto aos folículos combinada com a necrose de linfócitos na zona medular e nesses mesmos folículos da zona cortical da bursa, as quais acontecem após a administração de micotoxinas como os tricotecenos (Hoerr *et al.*, 1981). No caso de tumores de células linfóides é observado um aumento da bursa provocado pelo crescimento de massas tumorais dentro de um único folículo ou do conjunto de folículos de uma prega da bursa de Fabricius induzida pelo vírus da leucose linfóide (VLL) (Riddel, 1987). Ainda, a presença de hipertrofia ou hiperplasia do epitélio bursal juntamente com uma ligeira atrofia folicular e infiltração de heterófilos na mucosa é encontrada após infecção com *Criptosporidium* (Randall, 1982; Levy *et al.*, 1988).

Os tumores causados pelo VDM ou pelo VLL podem ser diferenciados histologicamente. Na DM, as paredes e as pregas bursais estão espessadas devido à presença de linfócitos pleomórficos. O

infiltrado celular na DM é inter-folicular. Ao contrário, na LL, os infiltrados de células tumorais são constituídos por grandes linfócitos morfológicamente uniformes, localizados principalmente no interior dos folículos linfóides (Purchase & Payne, 1984).

## Alterações anátomo-histológicas em órgãos linfóides secundários de aves imunossuprimidas

Dentre os órgãos linfóides secundários, o baço e a glândula de Harder têm recebido mais atenção, embora alterações em aves imunossuprimidas possam ser observadas em outros órgãos linfóides secundários, como as tonsilas cecais, as placas de Peyer, dentre outros.

O foco principal da análise histopatológica no baço tem-se centralizado na função da bainha elipsóide (Olah *et al.*, 1984, 1990). Em frangos de corte, o encontro de degeneração fibrinóide dessa bainha tem sido comumente associado com casos de colisepticemia (Randall, 1985). O processo de inflamação granulomatosa do baço é mais encontrado em aves do que em mamíferos (Riddel, 1987), particularmente em infecções septicêmicas causadas por *E. coli*. Essas lesões parecem se originar a partir dos macrófagos da bainha elipsóide (Pope, 1991a).

Alterações anátomo-histológicas relevantes no baço são também encontradas na infecção experimental com o adenovírus causador da enterite hemorrágica dos perus (VEH), por via oral em perus susceptíveis. Assim, é observado nessa infecção experimental, um aumento pronunciado do baço e hemorragias intestinais entre o quarto e sexto dias pós-infecção (PI) com o VEH. Ainda, após a infecção por via oral, o VEH é detectado, no primeiro dia PI, em células linfóides do intestino, da bursa de Fabricius e das tonsilas cecais. Foi verificado, no quarto dia PI, que depois da replicação primária nesses sítios, o VEH atinge e se replica mais intensamente no baço, ocasião que também coincide com o aparecimento de lesões hemorrágicas intestinais mais proeminentes. Com o avançar desse processo infeccioso, isto é, entre o quarto e sexto dias PI, ocorre o pico da replicação viral, o qual coincide com uma intensa redução no número de linfócitos B-IgM+ presentes nos folículos linfóides da polpa branca do baço, havendo também, uma proliferação acentuada de linfócitos T, bem como uma pronunciada infiltração de células T, particularmente aquelas pertencentes à subpopulação CD4+. Plasmócitos normais aparecem no tecido linfóide esplênico próximo ao sétimo dia PI e a arquitetura histológica do baço se normaliza ao redor do 10º dia PI (Rautenschlein & Sharma, 2000).

Com relação ao interesse no tecido linfóide associado à glândula de Harder, foi verificado que ele se justifica em vista do papel proeminente que este órgão linfóide exerce para a proteção da mucosa ocular e do trato respiratório superior e, por conseguinte, no desenvolvimento de mecanismos específicos de proteção contra infecções respiratórias (Davelaar & Kouwenhoven, 1976) e inclusive da possível associação da maior susceptibilidade a essas infecções em aves imunossuprimidas (Dohms *et al.*, 1981, Dohms & Jaeger, 1988). A análise histológica desses estudos procura avaliar o número de plasmócitos, de linfócitos e as alterações vasculares após a infecção com vírus indutores de imunossupressão.

Quanto aos tecidos linfóides associados ao trato intestinal, a maioria das alterações reportadas se referem às tonsilas cecais e, particularmente, àquelas induzidas na infecção pelo VDIB (Ley *et al.*, 1983). No entanto, os exames histológicos dos tecidos linfóides associados à mucosa do proventrículo são bastante úteis para auxiliar o diagnóstico da DM (Riddel, 1987). Dentro deste contexto, foi observado que as extensas lesões hemorrágicas que ocorrem no trato intestinal após

infecção com o VDM são mais aparentes nos grandes agregados de tecido linfóide presentes na altura da junção, proventrículo-esôfago, ou nas placas de Peyer, ou ainda nas tonsilas cecais. Há ainda, uma suposição de que grandes lesões proliferativas isoladas que são observadas na DM e que histologicamente acometem todas as camadas do intestino delgado sejam originadas a partir de células dos folículos linfóides que constituem as placas de Peyer.

Para se analisar mais acertadamente o estado morfológico e funcional das placas de Peyer de aves, é importante considerar que elas não se encontram uniformemente distribuídas entre os diferentes indivíduos da espécie aviária e, ao contrário dos mamíferos, as placas de Peyer das aves não são facilmente visualizadas à vista desarmada, sendo que, nos primeiros dias de vida do pintinho, não se consegue visualizá-las diretamente (Befus *et al.*, 1980).

Já, o divertículo de Meckel é facilmente observado em aves, por todo o período de vida desses animais. Acredita-se que essa estrutura linfóide se constitua em um sítio de amostragem de antígenos que estão transitando pelo intestino, uma vez que sua abertura se comunica com esse último, facilitando o acesso de materiais antigênicos para o tecido linfóide dessa região. O divertículo de Meckel começa a ser povoado por linfócitos somente a partir da segunda semana de idade da ave e atinge seu pleno desenvolvimento, com a presença de inúmeros centros germinativos, somente com a idade de 10 semanas (Olah *et al.*, 1984). No entanto, nenhuma referência foi feita, até o momento, sobre o envolvimento do divertículo de Meckel em enfermidades imunossupressoras das aves (Pope, 1991a).

No caso da síndrome da enterite e mortalidade dos perus (PEMS) foi descrito o desenvolvimento de alterações patológicas mais características, que atingem tanto os órgãos linfóides primários como os secundários, com destaque para a ocorrência de atrofia do timo, da bursa e do baço. Tais lesões foram observadas em peruzinhos expostos por contato, ou inoculados, com homogenados contendo uma mistura de agentes infecciosos indeterminados que são associados a PEMS (homogenado-PEMS), sendo que a atrofia do timo é a forma mais severa das alterações anátomo-histológicas produzidas nessa enfermidade. Atrofias similares de órgãos linfóides ocorrem após a infecção de perus com o coronavírus e astrovírus de perus, que são suspeitos de serem os agentes etiológicos da PEMS, apesar de que um estudo, no qual foi realizada a infecção experimental dessas aves apenas com astrovírus, foi observado aumento do baço, ao invés de atrofia desse mesmo órgão. No entanto, os dados da patogenia da PEMS ainda são controversos, necessitando de mais investigações para que seja melhor elucidada a patogenia dessa enfermidade (Barnes & Guy, 2003).

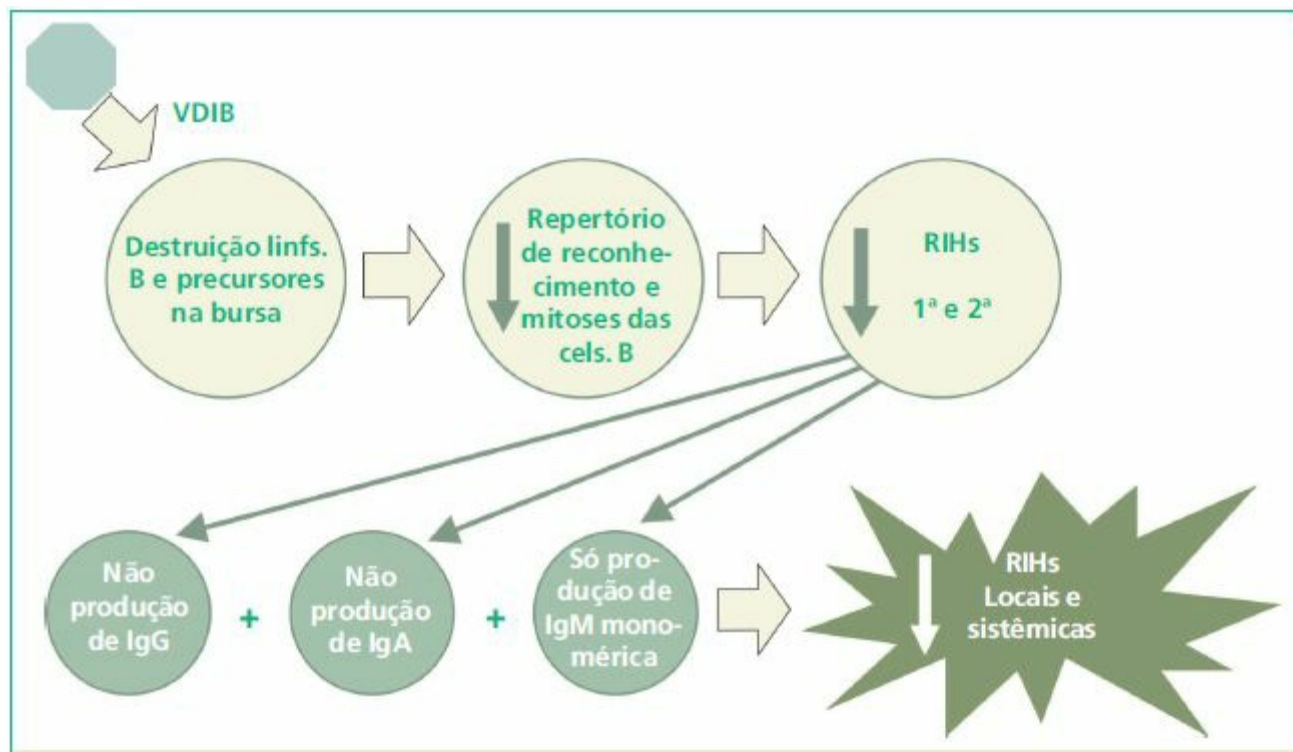
## **Efeitos sobre as células do sistema imune e a produção de citocinas exercido por vírus imunossupressores e micotoxinas**

### **Vírus da doença infecciosa da Bursa**

O VDIB causa, de forma mais característica, uma infecção lítica em linfócitos B-IgM<sup>+</sup> e, embora a destruição de linfócitos B seja mais pronunciada na bursa de Fabricius, há várias evidências de que ocorre replicação deste vírus e destruição celular em vários órgãos linfóides secundários, como as tonsilas cecais e o baço. Os efeitos citolíticos exercido pelo VDIB sobre os linfócitos B acarretam uma redução pronunciada no número de linfócitos B-IgM<sup>+</sup> circulantes. Em

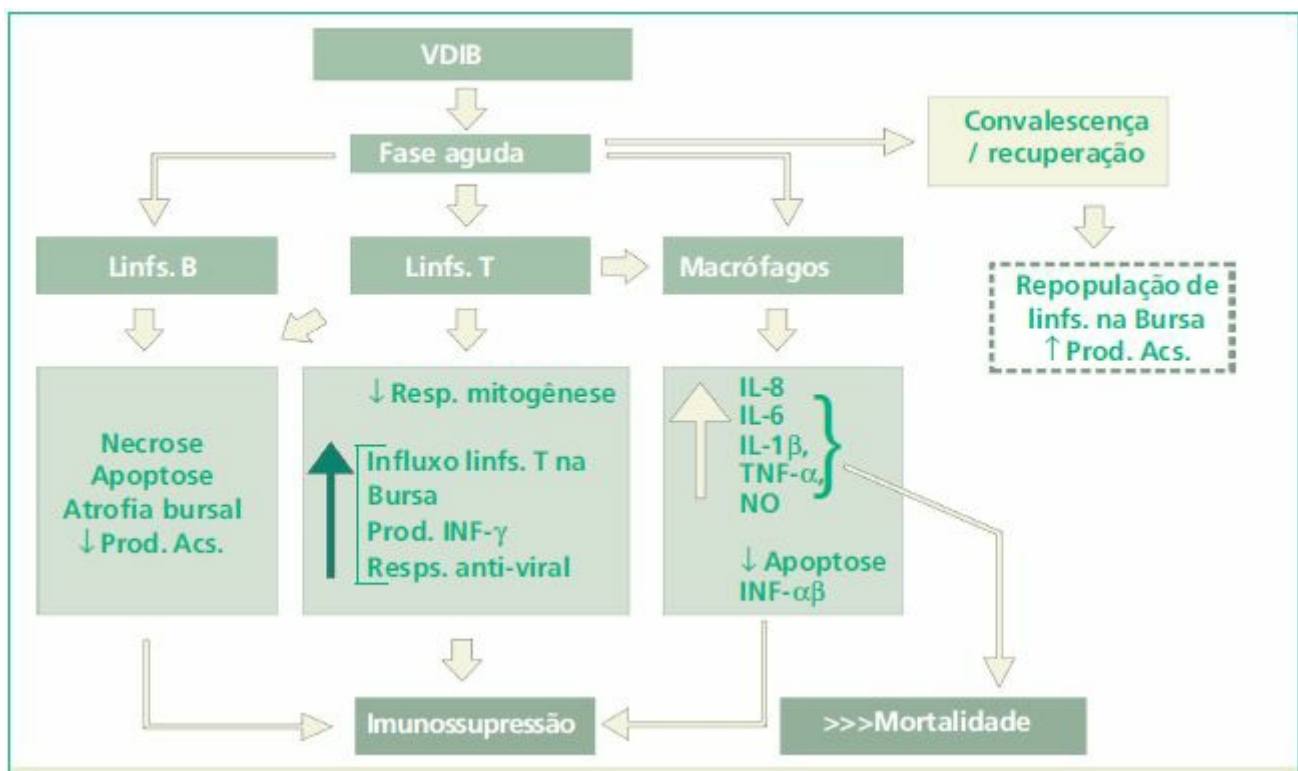
conseqüência da citólise de células

B, as aves infectadas com VDIB produzem quantidades bem menores de anticorpos contra antígenos de agentes infecciosos, sendo que somente a resposta imune humoral primária é impedida, enquanto que as respostas secundárias parecem permanecer funcionais. Embora a destruição de células B-produtoras de imunoglobulinas seja uma das principais causas de deficiência da resposta imune humoral, outros possíveis mecanismos precisam ser melhor investigados, tais como os possíveis efeitos adversos do VDIB sobre as células apresentadoras de antígenos, ou ainda, sobre os linfócitos Th (Sharma *et al.*, 2000) (**Figura 10**).



**Figura 10** - Resumo da etiopatogenia na imunossupressão induzida pelo VDIB (\*A infecção com o VDIB de aves na 1ª semana de vida e destituídas de anticorpos maternos, induz uma imunossupressão mais severa). (Santivatr *et al.*, 1981; Sharma, 1984; Sharma *et al.*, 1989; Sharma & Rosenberger, 1987; Sivanadan & Maheswaran, 1980).

Na verdade os dados, a respeito da atividade imunossupressora que o VDIB exerce sobre os linfócitos T, são ainda um pouco controversos, havendo no entanto, uma crescente evidência derivada de resultados obtidos em ensaios *in vitro*, demonstrando que há uma inibição acentuada da atividade blastogênica de linfócitos T oriundos do sangue periférico ou do baço de aves infectadas experimentalmente com este vírus. Esta queda na atividade mitogênica aparece de forma mais marcante, entre o terceiro e o quinto dias PI, sendo que subsequentemente essas células voltam a expressar uma atividade proliferativa normal. Estudos prévios e alguns mais recentes, envolvendo o fracionamento de populações e sub-populações de células do sistema imune, revelaram que a diminuição da atividade mitogênica de linfócitos T é mediada por células aderentes e, provavelmente, os macrófagos, que atuam nessa situação promovendo uma redução na secreção de IL-2 pelos próprios linfócitos T (**Figura 11**) (Sharma *et al.*, 2000).



**Figura 11** - Esquema sobre os mecanismos de patogenicidade e de imunossupressão induzidos pelo VDIB (Adaptado de Sharma *et al.*, 2000).

Dentro desse contexto e, ainda, com relação especificamente ao VDIB, observações recentes trouxeram novas informações sobre o papel exercido pelas células T na patogenicidade desse vírus e sobre os mecanismos de recuperação tecidual que se desenvolvem após a infecção por este mesmo patógeno. Dessa forma, foi verificado que durante a fase aguda da infecção experimental de aves SPF com o VDIB havia uma queda acentuada de linfócitos B nos folículos linfóides, a qual coincidia com o pico da infecção viral e, concomitantemente, ocorria o início de repovoamento de tais estruturas linfóides, feito predominantemente por linfócitos T (**Figura 11**). Assim, foi verificado que tais tipos celulares eram detectados um dia PI e persistiam nesse órgão até, no mínimo, por 12 semanas PI, embora nenhum antígeno viral tenha sido encontrado depois da terceira semana PI nas células deste órgão linfóide (Sharma *et al.*, 2000).

Deve-se considerar que é possível que as células T estimuladas pelo VDIB atuem no sentido de aumentar as lesões induzidas diretamente por este vírus, envolvendo neste caso, mecanismos imunopatológicos. Por exemplo, os linfócitos Tc estimulados por antígenos deste vírus expressos juntamente com MHC-I na superfície das células infectadas, especialmente os linfócitos B, podem acentuar a destruição dessas últimas células através das atividades citolítica e indutora de apoptose apresentadas pelas células Tc. Em adição a isso, as células Th ativadas por antígenos virais expressos por células apresentadoras de antígenos do VDIB juntamente com o MHC-II, podem também induzir a produção de fatores pró-inflamatórios potentes, que por sua vez acentuam a destruição tecidual. Dentre tais fatores, destaca-se o óxido nítrico (NO) produzido em reação catalisada pela enzima induzível da síntese do óxido nítrico (iNO-sintase – iNOS) em macrófagos ativados por citocinas como o IFN-γ. Esta citocina é secretada principalmente pelas células Th1 ativadas e pode provocar intensa destruição celular, tendo sido demonstrado que quando as aves são tratadas com um inibidor da enzima iNOS antes de serem infectadas experimentalmente com IBDV, desenvolvem-se muito menos lesões necróticas na bursa de Fabricius do que nas aves infectadas que não recebem tal inibidor enzimático (Sharma, 2000) (**Figura 11**).



Pelo que foi explanado anteriormente, fica patente que o VDIB replica-se preponderantemente em células B que se encontram em intensa atividade mitótica, causando a destruição das mesmas. Primeiramente são destruídas as células que estão presentes na Bursa de Fabricius e, posteriormente, no baço e em outros órgãos linfóides. A fase aguda desta infecção geralmente dura uma semana. Estirpes virulentas do VDIB (vVDIB) raramente causam doença clínica em aves mantidas em criações avícolas comerciais e que tenham menos de duas semanas de idade, que quando infectadas nessa faixa etária, desenvolvem um estado de imunossupressão prolongada (Eldaghayes *et al.*, 2006).

No entanto, em aves mais velhas, as estirpes vVDIB podem causar uma forma aguda de doença, caracterizada por lesões extensas do tecido linfóide, elevada morbidade e letalidade. Nas aves que sobrevivem à fase aguda dessa infecção, o vírus é eliminado e os folículos bursais são repovoados, sendo que pode ser restabelecida parte da imunocompetência que havia sido perdida. Todavia, as aves convalescentes usualmente apresentam imunossupressão, em razão da perda da população de células B em desenvolvimento na bursa de Fabricius e também devido a uma diminuição severa do repertório da especificidade de anticorpos (Eldaghayes *et al.*, 2006).

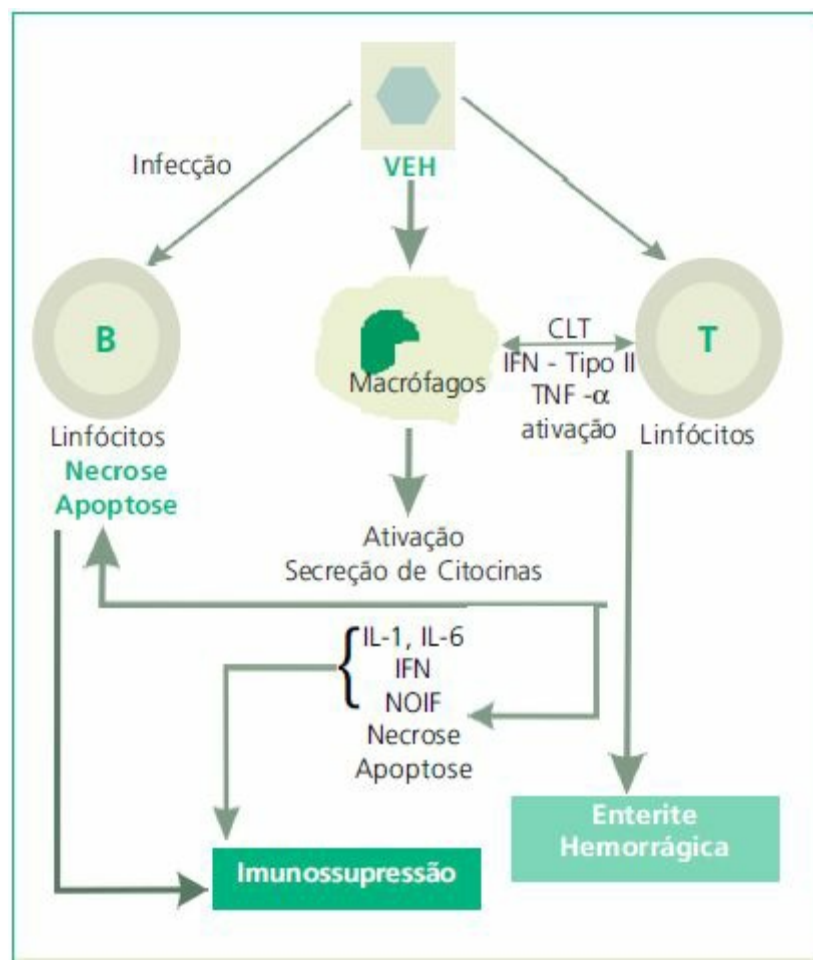
Por outro lado, em períodos mais recentes surgiram surtos de infecção com estirpes altamente virulentas do VDIB (vvVDIB) as quais podem quebrar o estado de proteção induzidos por vacinas usuais contra DIB e, também, os altos títulos de anticorpos maternos contra o VDIB transferidos de matrizes hiperimunizadas com as vacinas convencionais, acarretando altas taxas de mortalidade em aves jovens (Van den Berg, 2000). Nesse caso, as alterações patológicas causadas pela infecção com a estirpe vvVDIB e as respostas imunes que são estimuladas são ainda muito pouco compreendidas. Berg (2000) sugere que as estirpes vvVDIB causam uma doença similar a que é provocada pela estirpe vVDIB e com o mesmo período de incubação que ocorre na infecção pela estirpe clássica, porém, com uma fase aguda caracterizada pelo desenvolvimento de lesões mais exacerbadas. Na verdade, muito recentemente foi constatado que tanto na infecção com a estirpe vVDIB, como na infecção com a estirpe vvVDIB é induzida uma produção acentuada de citocinas pró-inflamatórias e, principalmente, um aumento significativo de IFN- $\gamma$ . Porém as estirpes dotadas de maior virulência estimulam uma produção ainda maior dessa citocina ([Figura 11](#)).

Deve então ser considerado, a partir dos dados obtidos no estudo acima explanado, que a produção mais pronunciada de IFN- $\gamma$ , que é estimulada por estirpes vvVDIB, pode atuar no sentido de direcionar o processo inflamatório para uma situação de total descontrole da síntese dos principais mediadores de respostas inflamatórias pelos macrófagos, como o TNF- $\alpha$  e o NO, favorecendo a evolução desse processo para a síndrome do choque séptico, o qual se caracteriza por ser um quadro patológico de elevada letalidade para as aves afetadas com as estirpes vvVDIB (Eldaghayes *et al.*, 2006). Além disso, nessa mesma investigação foi detectada uma resposta inesperada, em que concerne à produção de IFN do tipo I (IFN $\alpha$  e IFN $\beta$ ), pois, no caso das aves infectadas com estirpes vVDIB não havia uma ativação da produção dessas citocinas enquanto que para as aves submetidas à infecção com estirpes de maior virulência (vvVDIB), não só havia uma inibição como também uma regulação negativa da síntese dessas mesmas citocinas (Eldaghayes *et al.*, 2006) ([Figura 11](#)).

## Vírus da Enterite Hemorrágica dos Perus (VEH)

Um outro patógeno viral que manifesta uma evidente capacidade imunossupressora durante a sua fase de replicação nos linfócitos B e macrófagos, é o VEH que, como consequência, causa a morte dessas células por necrose ou apoptose. Além disso, este patógeno estimula a produção de citocinas pró- inflamatórias pelas células T ou por macrófagos, como o TNF- $\alpha$ , as quais podem induzir ou amplificar o processo de apoptose que ocorre em células linfóides não ativadas, durante a fase aguda da infecção. Assim, a apoptose em massa que ocorre nas células imunes do baço pode então contribuir com o estado de imunossupressão que se instala no organismo das aves infectadas com este vírus (Rautenschlein & Sharma, 2000).

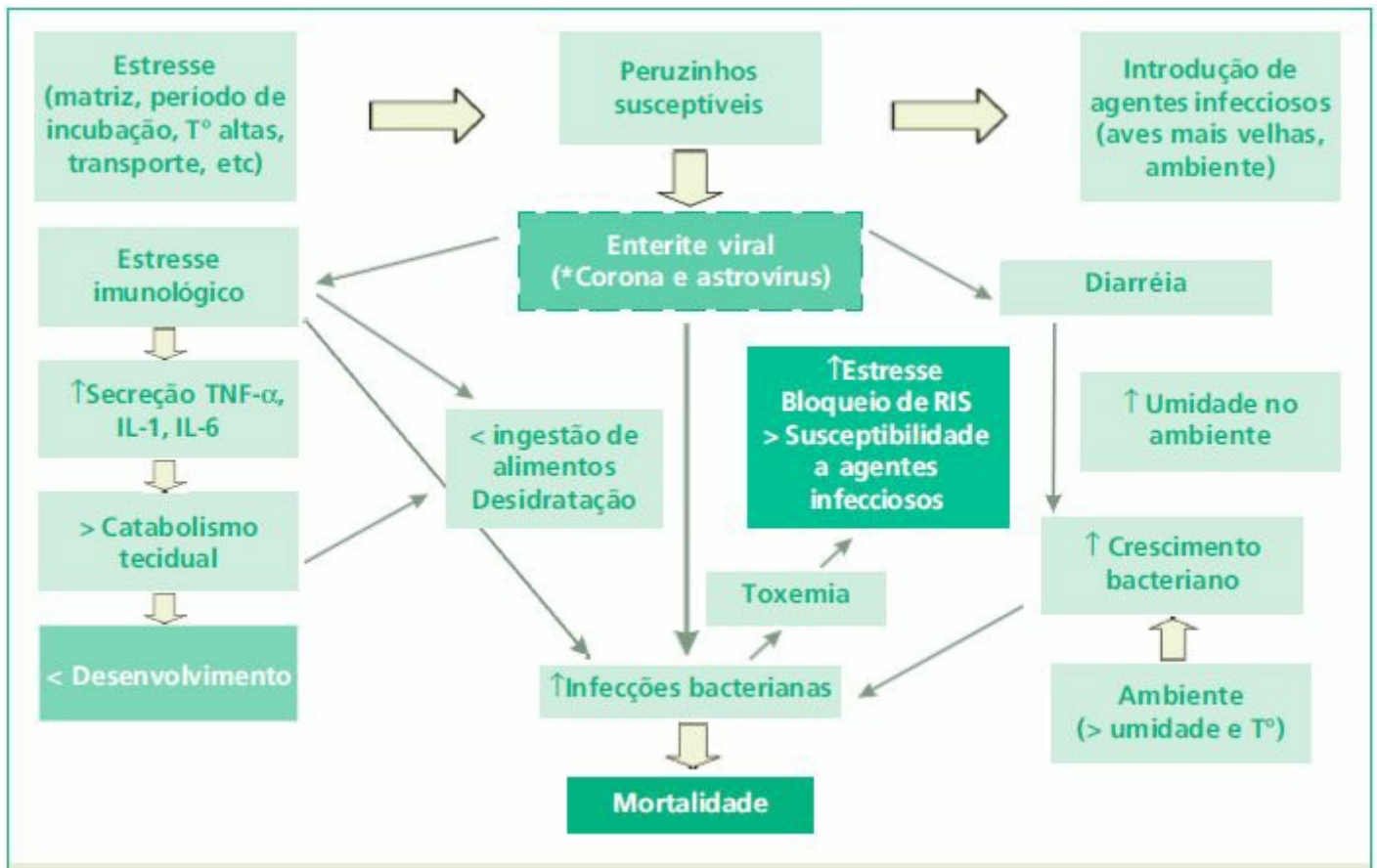
É interessante destacar que o TNF- $\alpha$ , assim como a IL-1 e a IL-6, de forma semelhante ao que ocorre na infecção com o VDIB, apresentam em várias outros tipos de doenças infecciosas, atividades pleiotrópicas relacionadas à inflamação, ao metabolismo, à hematopoiese e aos processos imunes. Tais citocinas estão também envolvidas na síndrome do choque séptico ou hemorrágico, que se não for letal, pode acarretar um estado de imunossupressão acentuada. Nesse sentido, foram formuladas hipóteses procurando demonstrar que o intestino é o órgão de choque em perus infectados com o VEH. Este patógeno induz uma liberação massiva e descontrolada de várias citocinas pró- inflamatórias, como o TNF- $\alpha$ , a IL-1 e a IL-6, através de um fenômeno conhecido como “tempestade” de citocinas, a qual pode acarretar um quadro de choque sistêmico com a consequente ocorrência de falência múltipla de órgãos, seguindo-se a morte das aves afetadas (Rautenschlein & Sharma, 2000).



**Figura 12** - Esquema sobre os mecanismos de patogenicidade e de imunossupressão induzidos pelo VEH (Adaptado de Rautenschlein & Sharma, 2000).

Em uma outra enfermidade em perus caracterizada por imunossupressão ou imunodisfunção e enterite, são observados também, na infecção experimental de aves jovens com homogenado-PEMS, contendo coronavírus (Turkey coronavirus – TCoV) e astrovírus (TAV) de perus, baixos títulos de anticorpos após a imunização dessas aves com hemácias de carneiro, bem como respostas celulares reduzidas ao estímulo com o mitógeno de células T, a fito-hemaglutinina. Tais resultados indicam que, tanto as respostas imunes humorais, como as cito-mediadas, são afetadas nessa enfermidade (**Figura 13**). Ainda dentro dessa mesma investigação, a contagem, bem como os valores das relações entre as células T CD4 e TCD8 apresentam-se alterados na circulação sanguínea e em órgãos linfóides de peruzinhos infectados com PEMS. Em adição a isso, perus infectados com extratos de PEMS, porém sem a presença de coronavírus, mostram valores mais reduzidos da relação TCD4:TCD8, tanto no sangue periférico, como no baço, comparativamente às aves infectadas com extratos que contêm o coronavírus. Por outro lado, os astrovírus isolados de perus com PEMS, quando usados na infecção experimental de peruzinhos induzem redução na atividade blasto-gênica de linfócitos do timo e do baço e um decréscimo inicial no número de linfócitos T CD8 circulantes, o qual é acompanhado por um aumento destas células no timo e no baço. Não foram observadas, contudo, alterações no número de células T CD4 na infecção experimental com astrovírus (Barnes & Guy, 2003).

Além disso, é importante ressaltar que o número total de macrófagos permanece inalterado no início do processo infeccioso em peruzinhos inoculados com homogenados PEMS, mas em período mais avançados da infecção, esse parâmetro apresenta-se reduzido. Além disso, foi verificado que a porcentagem de macrófagos aderentes sofreu um aumento nas aves submetidas à infecção com PEMS, mas foi observado que tais células apresentaram menor capacidade de fagocitose e de eliminação (clearance) de bactérias presentes na circulação sanguínea. O impedimento ou redução da remoção de bactérias do compartimento sanguíneo, que persistem nesse compartimento até os 26 dias PI, provavelmente contribui para aumentar ainda mais a susceptibilidade dos peruzinhos com PEMS para infecções bacterianas concomitantes ou secundárias. Foi relatado que um astrovírus que havia sido isolado de perus com PEMS era capaz de causar uma diminuição marcante no número de macrófagos conjuntamente com um decréscimo na habilidade de estas células fagocitarem e removerem bactérias da circulação sanguínea, assim como era induzido um bloqueio dos mecanismos bactericidas exercido por estes fagócitos. Nesse estudo, não foi possível, demonstrar a ocorrência de infecção de macrófagos pelos astrovírus, persistindo sem elucidações consistentes os mecanismos responsáveis pelas alterações por que passam os macrófagos na PEMS (**Figura 13**).



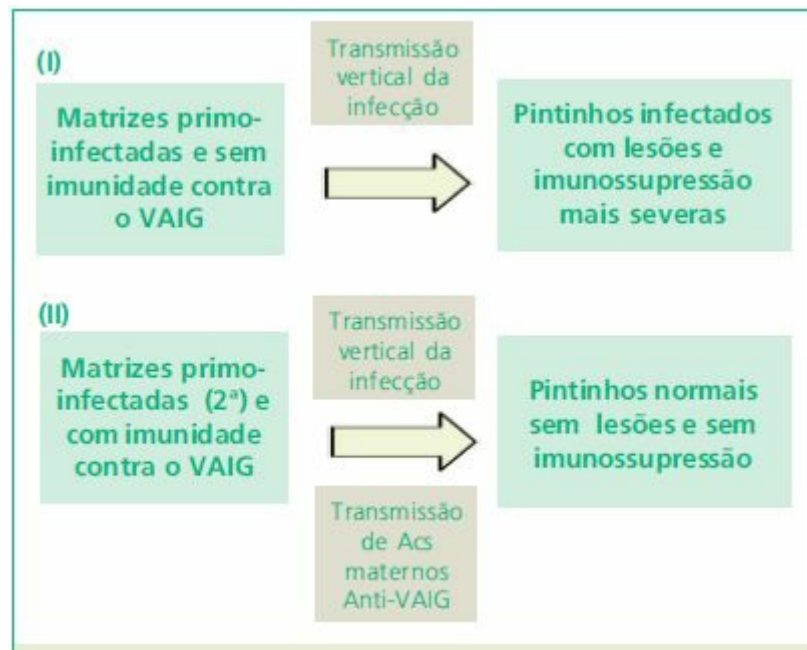
**Figura 13** - Resumo dos mecanismos de patogênese e imunossupressão ou imunodisfunção induzidos na PEMS (Baseado em Barnes & Guy, 2003).

Assim, deve-se salientar que a disfunção imune que se desenvolve em peruzinhos acometidos pela PEMS parece estar relacionada ao fato de que a produção de citocinas e de metabólitos de nitrogênio por macrófagos está alterada nas aves experimentalmente infectadas com homogenados – PEMS. Nesse sentido, foi então observado que a secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e IL-6 juntamente com a produção de NO, apresentaram-se aumentadas em perus expostos aos agentes da PEMS, ao passo que a produção de TNF- $\alpha$  mostrou-se reduzida. Ao contrário disso, foi demonstrado que as citocinas IL-1 e a IL-6 estavam sendo menos secretadas, tanto *in vitro* como *in vivo*, em aves infectadas experimentalmente com astrovírus, o qual havia sido isolado de perus com PEMS, enquanto que a produção de NO mostrou-se elevada nessas mesmas aves. Nessa situação é interessante destacar que os níveis menores de IL-1 e de IL-6 parecem atuar no desenvolvimento da atrofia tímica e na redução da atividade linfo-proliferativa e também, na diminuição da intensidade das respostas inflamatórias, provocada nesse caso, por uma queda no recrutamento de macrófagos (Barnes & Guy, 2003). No entanto, deve-se considerar que o astrovírus não parece ser isoladamente o agente etiológico da PEMS, havendo no mínimo a interação com o coronavírus dos perus.

### Vírus da Anemia Infecciosa das Galinhas (VAIG)

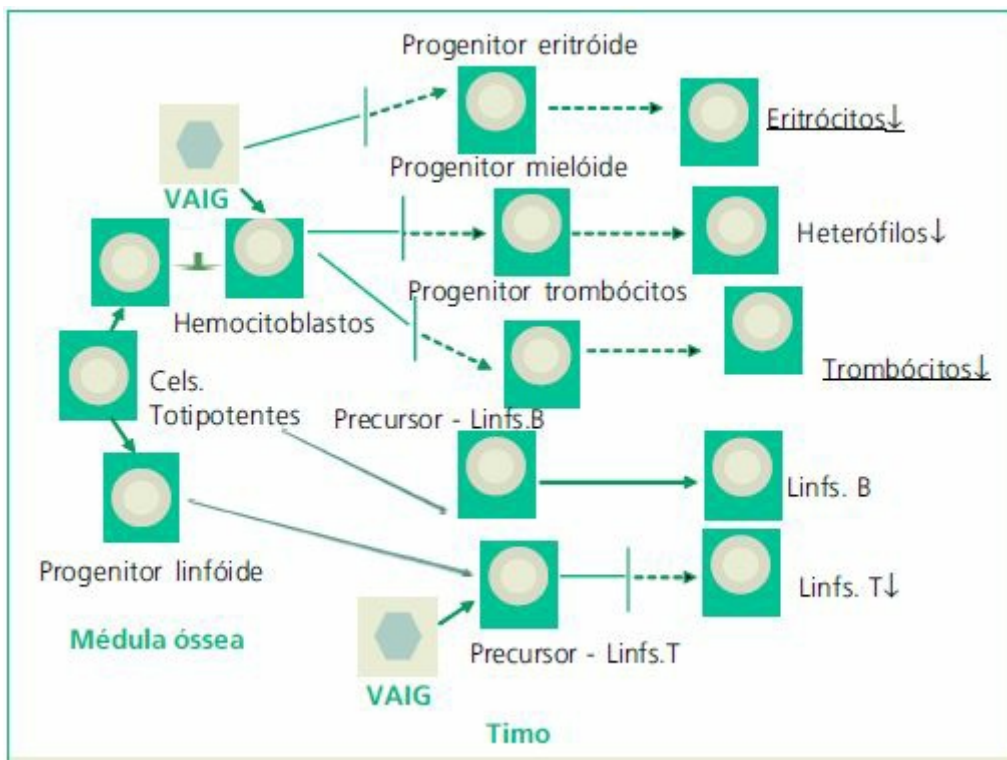
No tocante ao VAIG, já é fato reconhecido que um dos tipos celulares que são mais susceptíveis à infecção por este vírus são os hemocitoblastos da medula óssea, que são constituídos por células totipotentes a partir das quais se diferenciam todas as demais células sanguíneas pertencentes às linhagens eritróide e mielóide. Tais tipos celulares são infectados logo no início da infecção, isto é, entre o terceiro e o quarto dia PI, sendo os pintinhos neonatos sem imunidade materna e a partir de um dia de idade, os mais susceptíveis. A destruição dos hemocitoblastos da medula óssea, que

alcança seu ápice aos oito dias PI, acarreta uma severa redução das células sanguíneas das linhagens eritróide e mielóide, desenvolvendo-se anemia intensa, granulocitopenia e trombocitopenia. Somente, com 16-18 dias PI é que se restabelecem, nas aves sobreviventes, a eritropoiese e a mielopoiese na medula óssea (Adair, 2000; Schat, 2003) ([Figura 14](#)).



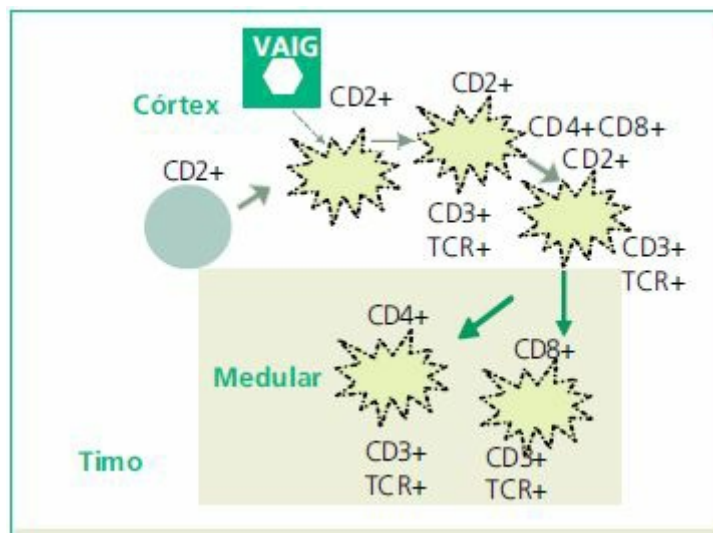
**Figura 14** - Condições mais comuns da infecção pelo vírus da anemia infecciosa das galinhas (Pope, 1991).

Em adição aos efeitos adversos acima exercidos pelo VAIG, as células progenitoras de linfócitos T do timo apresentam também uma elevada susceptibilidade à infecção pelo VAIG e se constituem, juntamente com os hemocitoblastos, em um dos principais alvos celulares deste patógeno. Por outro lado, os linfócitos B ou os seus precursores parecem não ser atingidos diretamente na infecção pelo VAIG, embora sejam detectadas algumas alterações nessas populações celulares, como consequência de efeitos indiretos da infecção deste vírus. Tais efeitos, provavelmente, são mediados por desequilíbrios gerados na rede de citocinas, ou então são devidos à patogenicidade de outros agentes causadores de infecções secundárias, cujos efeitos adversos afetam a bursa de Fabricius (Adair, 2000; Schat, 2003) ([Figuras 14](#) e [15](#)).



**Figura 15** - Esquema mais detalhado sobre os efeitos do VAIG no desenvolvimento de células sanguíneas e de linfócitos T, sendo destacado que as principais células destruídas por este vírus são os hemocitoblastos e os precursores dos linfócitos T presentes na zona cortical do timo, que expressam CD3, inclusive no citoplasma. (Adaptado de Adair, 2000).

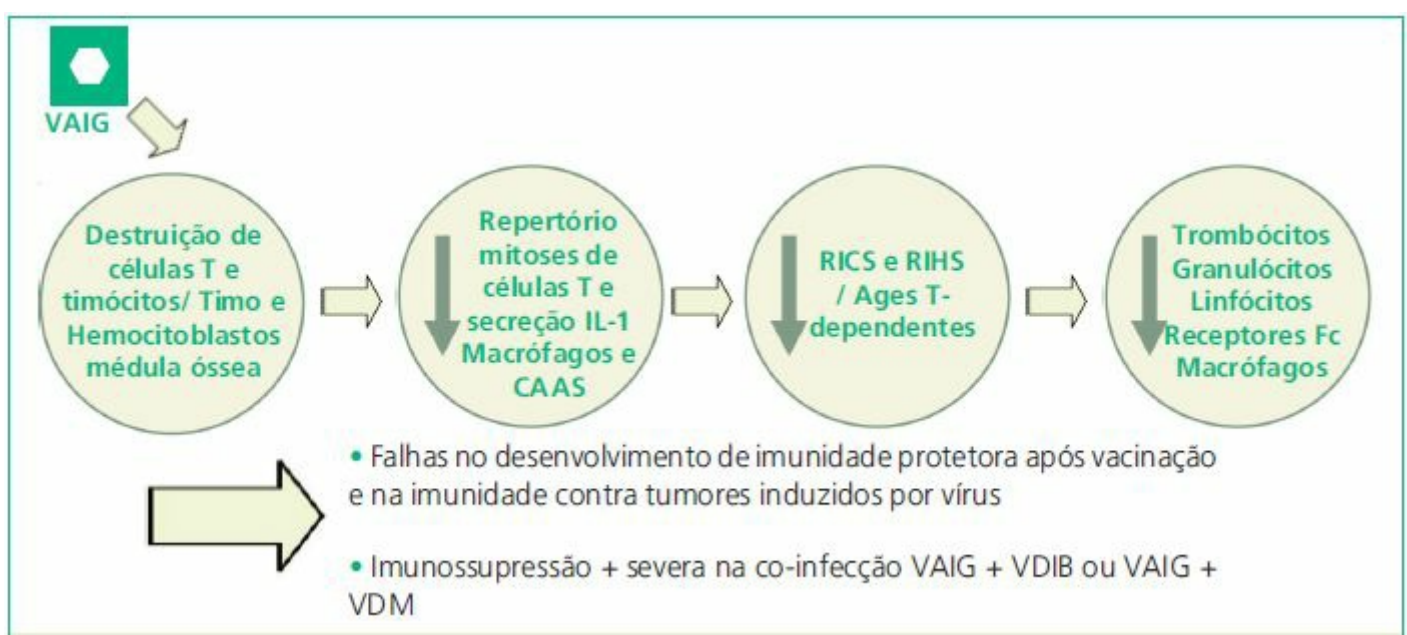
Dessa forma, os timócitos localizados na região cortical se constituem em uma das sub-populações celulares mais precocemente atingidas na infecção pelo VAIG, sofrendo reduções significativas em seu número, o que sugere que este patógeno apresenta um tropismo preferencial pelos timócitos imaturos, que são predominantes nessa região do timo. A par disso e no sentido de confirmar a ação patogênica do VAIG, é interessante destacar que antígenos deste vírus são encontrados em um grande número nos timócitos imaturos da região cortical, ao passo que poucos timócitos presentes na região medular são marcados nessa técnica imuno-histoquímica com anticorpos anti-VAIG específicos. Deve-se salientar que em adição aos timócitos imaturos, na infecção por este vírus, é também afetado um número considerável de células T da linhagem CD8+, sugerindo que esta sub-população de células T maduras é mais susceptível ao VAIG do que a sub-população de linfócitos T CD4+. Este fato resulta em uma redução acentuada no número de linfócitos T CD8+, em comparação com as da segunda sub-população celular, que ocorre tanto no sangue periférico como em órgãos linfóides secundários como o baço das aves infectadas (Adair, 2000; Schat, 2003) ([Figuras 15 e 16](#)).



**Figura 16** - Esquema mais detalhado sobre os efeitos do VAIG no desenvolvimento de células T, sendo destacado que as principais células destruídas por este vírus são os precursores dos linfócitos T da zona cortical do timo, que expressam CD3, inclusive no citoplasma (Adaptado de Adair, 2000).

Um aspecto bastante interessante, ainda, na interação do VAIG com as células do sistema imune, é a enorme capacidade que este vírus tem de induzir apoptose, propriedade esta que parece estar associada com uma das proteínas desse vírus, no caso, a VP3, que por esta razão é denominada de apoptina (Adair, 2000; Schat, 2003).

Estudos sobre as populações e as funções linfocitárias em aves experimentalmente infectadas pelo VAIG, com um dia de idade, revelaram um decréscimo acentuado na atividade mitogênica estimulada pela Con A em linfócitos T derivados do baço. Este efeito é seguido por uma queda na produção de IL-2 por tais linfócitos, ao passo que a produção de IFN, logo após o início da infecção se encontra em patamares mais elevados. No entanto, posteriormente sofre um rápido decréscimo, sugerindo que o funcionamento das células T é bastante comprometido na infecção pelo VAIG. São também detectados, após a infecção por este vírus, várias disfunções nas atividades de macrófagos, sobretudo no que concerne à capacidade de estas células secretarem IL-1 e de expressarem receptores Fc, bem como de fazerem fagocitose e executarem ações microbicidas (**Figura 17**).



**Figura 17** - Resumo da patogênese na imunossupressão induzida pelo vírus da anemia infecciosa das galinhas (\*a infecção com o VDIB de aves na primeira semana de vida e destituídas de anticorpos maternos, induz uma imunossupressão ainda mais severa). (Vainio & Toivanen, 1987; Pope, 1991; Rosenberger *et al.*, 1994; Rosenberger & Cloud, 1998; Adair, 2000).

Portanto, a destruição ou o impedimento do desenvolvimento de células T, bem como de heterófilos e de macrófagos, conjuntamente com os efeitos adversos exercidos pelo VAIG sobre as funções de linfócitos e de macrófagos, têm um considerável impacto negativo sobre a imunocompetência das aves afetadas. Dessa forma, além da redução acentuada na geração e na disponibilidade da maior parte das células efetoras do sistema imune, não ocorre, no curso da infecção pelo VAIG, a produção de citocinas essenciais, que dependem dos diversos tipos celulares que são mais afetados nesse processo infeccioso. Isso traz uma consequência adicional sobre o funcionamento normal dos linfócitos B que, no caso, são afetados de forma indireta, isto é, pela ausência de citocinas importantes derivadas de células Th, que atuam ou na blastogênese, ou na diferenciação dos linfócitos B estimulados por antígenos, mediando a sua transformação em plasmócitos produtores de anticorpos, ou em células B de memória (Adair, 2000; Schat, 2003).

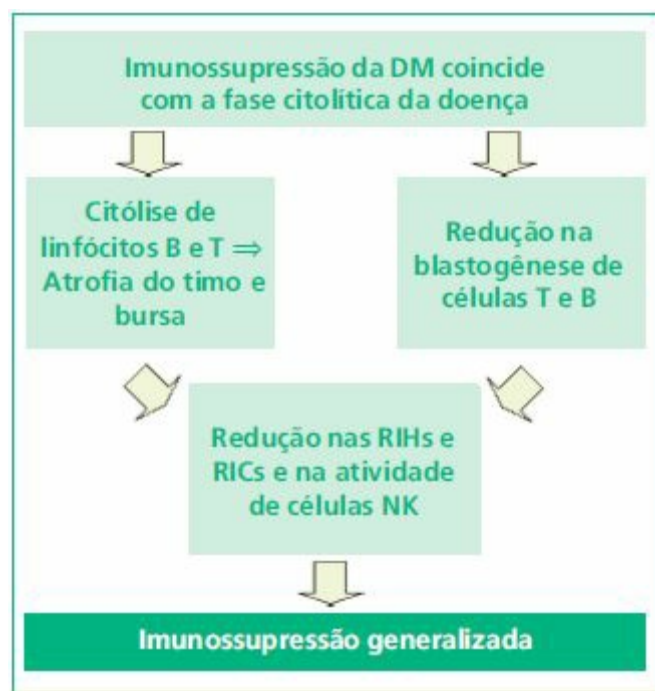
Todas essas alterações acima mencionadas, que atingem os linfócitos T e B, juntamente com as perdas de células ou das funções normais das populações de macrófagos, heterófilos, células NK, mesmo por um período não muito longo, acrescidas ainda, da ruptura do funcionamento da rede de citocinas, trazem como principal consequência um incremento significativo na susceptibilidade das aves afetadas pelo VAIG para o desenvolvimento de infecções secundárias causadas por bactérias ou por patógenos oportunistas, o que se constitui em uma das principais características do estado de imunossupressão que se estabelece nessas aves (Adair, 2000; Schat, 2003).

Diversamente do que foi descrito para a infecção de pintinhos neonatos, quando aves com três ou mais semanas de idade, são expostas à infecção por via oral com o VAIG, há o desencadeamento de uma supressão acentuada nas atividades de linfócitos T e de macrófagos, apesar de não se desenvolverem sinais clínicos mais evidentes. O fato é que estas aves apresentam dificuldades consideráveis para a montagem de respostas imunes efetivas contra diversos agentes infecciosos, ou mesmo com relação às respostas aos estímulos vacinais, sendo necessário que atenção especial seja dada para o manejo deste tipo de situação (Adair, 2000; Schat, 2003).



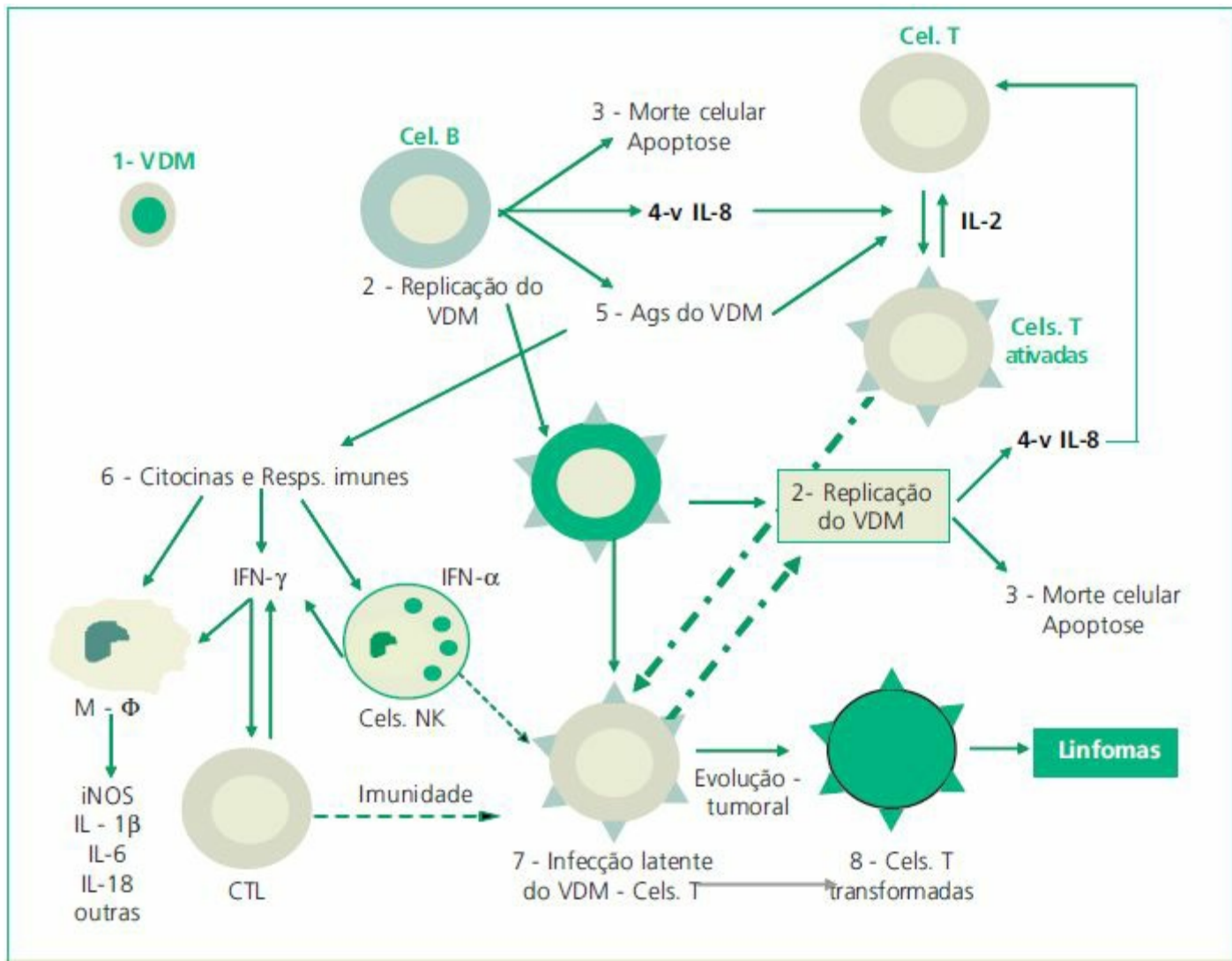
## Vírus da Doença de Marek

O vírus da doença de Marek (VDM) é um alfa- *Herpesvírus* com tropismo direcionado ao tecido linfóide e que se caracteriza por apresentar, durante a infecção, uma elevada associação com essas células. Os principais sinais patológicos e clínicos observados em aves infectadas, incluem imunossupressão, polineurite e formação de linfomas constituídos por células T neoplásicas (**Figura 18**). Tais formações tumorais se desenvolvem principalmente em tecidos viscerais e na ectoderme. Embora a DM venha sendo controlada por meio do uso de vacinas, há mais de 30 anos, essa patologia continua a representar um sério risco para a saúde e bem-estar das aves mantidas em criações comerciais, havendo uma crescente evidência que o uso intensivo dessas vacinas está direcionando a evolução desse vírus para a geração e o estabelecimento de estirpes cada vez mais virulentas (Witter & Schat, 2003).



**Figura 18** - Etio-patogenia da imunossupressão na doença de Marek (Calnek & Witter, 1984; Toivanen & Toivanen, 1987; Pope, 1991a).

Geralmete, o sorotipo 1 do VDM causa uma infecção citolítica precoce, ou seja entre o terceiro e o sétimo dias PI, que afeta primariamente os linfócitos B e provoca, na seqüência, um estado temporário de imunossupressão acentuada, o qual é acompanhado por uma forte ativação de linfócitos T. Estas células uma vez ativadas, tornam-se muito susceptíveis à infecção por este vírus, o que faz com que o processo infeccioso evolua para a forma lítica, sendo que depois de sete dias PI e, na dependência da virulência da estirpe viral e da linhagem das aves acometidas, a infecção entre em latência e pode evoluir para imunossupressão (**Figura 19**) (Calnek & Witter, 1997; Schat & Xing, 2000).



**Figura 19** - Fases da patogenia e possíveis interações do VDM com as respostas imunes e a produção de citocinas e relação com a evolução da DM (Adaptado de Schat & Xing, 2000).

Ainda dentro da patogenia do VDM, sabe-se que a imunossupressão é um dos aspectos críticos da infecção por este vírus e, inclusive, deve ser ressaltado que este estado favorece um aumento da virulência deste patógeno, bem como induz uma maior susceptibilidade ao organismo hospedeiro para outros agentes infecciosos (Figura 18). Tudo indica que a redução ou o bloqueio das respostas imunes que se instalam nas aves infectadas com o VDM deve-se a ação direta desse vírus durante principalmente a fase lítica dessa infecção viral. Estudos *in vitro* têm demonstrado que as próprias células tumorais induzidas pelo VDM podem, de per si, provocar efeitos imunossupressores. Além disso, um estado de imunossupressão permanente tende a se correlacionar, na DM, com o desenvolvimento dos tumores provocados por este vírus, tornando difícil, neste caso, fazer a distinção entre causa e efeito. Geralmente, o aparecimento do estado de imunossupressão permanente coincide com a segunda fase da infecção citolítica, uma vez que uma condição de imunocompetência plena é requerida pelo organismo hospedeiro para a manutenção da latência do VDM, tornando provável que haja uma concomitância da imunossupressão com o surgimento de linfoblastos tumorais, de sorte que ocorre uma reativação adicional da fase lítica da infecção por este vírus (Figura 19). Isso causa uma perda adicional de linfócitos T e B, acarretando a atrofia do timo e da bursa de Fabricius e pode contribuir ou facilitar a gênese dos linfomas na DM (Schat & Xing, 2000).

Em decorrência da perda de linfócitos T e B ou da disfunção destas mesmas células bem como

dos macrófagos, as respostas imunes humorais e as citomediadas podem ser suprimidas na infecção pelo VDM, resultando em menor produção de anticorpos contra uma ampla gama de antígenos e em reduções nas atividades de células T, tais como, a reação de rejeição a enxertos, a resposta blastogênica de linfócitos após estimulação com mitógenos, a reação cutânea de hipersensibilidade tardia e também em uma diminuição da atividade de células NK. Ainda dentro desse mesmo contexto, suspeita-se que a redução mais acentuada da blastogênese de linfócitos que ocorre durante a infecção pelo VDM, parece ter relação direta com um aumento exagerado e descontrolado que ocorre na secreção de NO por parte de macrófagos, indicando que esse vírus parece atuar no sentido de estimular exageradamente a produção de citocinas como o IFN- $\gamma$ , que é um dos responsáveis diretos pela ativação da enzima iNOS a qual, por sua vez, está envolvida na síntese de NO (Schat & Xing, 2000; Witter & Schat, 2003).

No tocante ao estado de latência induzido pelo VDM, é notório que os mecanismos que atuam no estabelecimento e na manutenção dessa condição, não foram ainda bem elucidados. No entanto, é reconhecido também que tais mecanismos são influenciados por um conjunto complexo de interações envolvendo a expressão de genes desse vírus juntamente com determinados tipos de respostas imunes por parte do hospedeiro. Nesse sentido, foi verificado que algumas citocinas produzidas pelo organismo hospedeiro, em resposta à presença do VDM, têm sido mais implicadas na manutenção da latência deste vírus, especialmente, o IFN- $\alpha$  e o fator solúvel de manutenção da latência (Schat & Xing, 2000; Witter & Schat, 2003).

A evolução das células T infectadas para células neoplásicas parece depender de uma complexa rede de interações entre os processos de fosforilação e ativação dos oncogenes Meq, pp38, ICP4 e, ainda, da participação de fatores transativadores do VDM juntamente com outros fatores celulares, cuja ativação e expressão são mediadas por citocinas (Schat & Xing, 2000). Assim, as células T infectadas pelo VDM podem ou entrar em apoptose ou, se os genes anteriores forem ativados, tais células podem se tornar mais resistentes à morte celular. Um ponto importante a se considerar nesse caso é que a redução da apoptose nas células T infectadas com o VDM combinada com os efeitos do NO e do IFN- $\gamma$  acarretam uma restrição e até mesmo um bloqueio da replicação viral, constituindo-se em importantes fatores no estabelecimento da latência e que atuam no sentido de favorecer condições a essas células evoluírem para a forma tumoral (Schat & Xing, 2000).

Nas últimas décadas os isolados de campo do VDM tem demonstrado uma virulência cada vez maior, fazendo com que o sorotipo 1 desse vírus passasse a ser classificado em três patotipos diferentes com base na capacidade de estas novas estirpes causarem a doença em aves vacinadas com o sorotipo 1, sorotipo 2 ou com o sorotipo 3 (*Herpesvirus de perus* – HVT) do VDM. Assim, os portadores de menor virulência dentre esses vírus foram identificados como vVDM (virulent VDM), os portadores de virulência superior a esses primeiros foram denominados de vvVDM (very virulent VDM) e aqueles com virulência ainda mais exacerbada foram classificados como vv+VDM (very virulent plus VDM) (Witter & Schat, 2003). As razões para a detecção cada vez mais freqüentes de estirpes do VDM com virulências crescentes, tal como ocorreu com o surgimento das estirpes vvVDM e vv+VDM, ainda são pouco conhecidas. Todavia, um dos possíveis mecanismos atuantes nessa situação, parece ser a indução por estes novos vírus de uma fase citolítica da infecção mais precoce e demorada, o que acarreta em um aumento de lesões nos órgãos linfóides, que são seguidas pela gênese de uma marcante imunossupressão. Nem sempre,

porém, o estado de imunossupressão será o único responsável ou se constituirá em pré-requisito para que haja o desenvolvimento de tumores na DM (Jarozinski *et al.*, 2005).

Até recentemente, pouco se sabia a respeito do papel das citocinas na patogenicidade e nas respostas imunes induzidas pelo VDM, tendo sido revelado apenas que o IFN- $\gamma$  tinha a sua secreção mais precocemente aumentada, logo após o início da infecção com este vírus. Ou seja, já aos três dias PI, sendo que esta citocina perdura, em níveis elevados, até o 15º dia PI. Foi também descrito que concomitante a elevação da produção dessa citocina, ocorre um aumento na expressão dos genes da IL-1 $\beta$ , do IFN- $\alpha$  e, depois do sexto dia PI, há forte ativação da expressão do gene codificador da enzima induzível da síntese do óxido nítrico (iNO-sintase ou iNOS). Ainda, foi constatado nessa mesma investigação, que o IFN- $\gamma$  produzido em excesso na infecção pelo VDM exerce um papel fundamental no desencadeamento da patogenia provocada por este vírus (Kaiser *et al.*, 2003).

Em adição aos dados acima citados sobre as atividades das citocinas na infecção pelo VDM, foi demonstrado através da mensuração de mRNAs (RNAs mensageiros) codificadores de citocinas juntamente com a quantificação do DNA viral, na técnica de PCR em tempo real, que os esplenócitos obtidos das linhagens de galinhas mais susceptíveis ao VDM apresentam, entre o terceiro e o décimo dias após o desafio experimental com uma estirpe classificada como vvVDM, cargas virais maiores e que estão associadas com uma produção aumentada de IL-6 e IL-18. O interessante é que tal fato coincidiu com o estabelecimento da fase citolítica dessa infecção (Kaiser *et al.*, 2003).

Ao contrário da situação acima, na preparação de células do baço derivadas de aves da linhagem mais resistente ao VDM foi observada após a infecção experimental com esse vírus, uma menor carga viral e nenhuma transcrição significativa das duas citocinas referidas anteriormente. Distintamente do que foi observado para as citocinas IL-6 e IL-18, não foi encontrada diferença relevante na expressão de mRNA codificador de IFN- $\gamma$  nos esplenócitos na comparação das linhagens susceptível ou resistente ao VDM, pois o mRNA dessa citocina aumentou a sua expressão em níveis equivalentes, nas células obtidas de ambos tipos de linhagens (Kaiser, 2003).

Os autores do estudo acima concluíram então que tanto a IL-6 como a IL-18, podem exercer um importante papel no sentido direcionar as respostas imunes, ou para conferir uma maior proteção ao organismo hospedeiro, que é observada nas aves das linhagens resistentes, ou, inversamente, para induzir um estado de menor resistência, verificada nas aves das linhagens susceptíveis. Dessa forma, nas aves das linhagens resistentes, o VDM é forçado em entrar em estado de latência, enquanto que, nas aves das linhagens susceptíveis, esse mesmo vírus induz as transformações neoplásicas e o conseqüente desenvolvimento de linfomas (Kaiser *et al.*, 2003) ([Figura 19](#)).

Em um outro estudo, no qual foi empregada praticamente a mesma abordagem metodológica acima explanada, foram demonstrados aumentos significativos na carga viral, que ocorreram na maioria dos intervalos após a infecção com estirpe com virulência ainda mais acentuada do VDM (vv+VDM), tanto nas células provenientes do baço como do cérebro de galinhas pertencentes a uma linhagem, que era mais susceptível à infecção com este vírus. Em adição a isso, foram observadas nessa mesma investigação, elevações acentuadas nos níveis de iNOS e das citocinas IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 nas células oriundas do cérebro das aves, que haviam sido infectadas

com esta estirpe dotada de maior virulência do VDM, indicando que tais fatores pró-inflamatórios estão participando de forma relevante nos mecanismos patogênicos que desencadeiam as lesões neurológicas associadas com a infecção pelas estirpes vv+ do VDM (Jarozinski *et al.*, 2005).

Mais recentemente foi encontrada uma relação direta entre o grau de virulência de uma dada estirpe do VDM e a habilidade de esse vírus induzir uma maior produção de NO, sendo que nas aves infectadas com estirpes dotadas de virulência mais pronunciada (vv+VDM) são produzidos níveis bem mais elevados de NO do que nas aves infectadas com estirpes menos virulentas desse mesmo vírus (vVDM e vvVDM) (**Figura 19**). Nesse estudo foi verificado que os níveis de NO parecem estar correlacionados com a intensidade da replicação viral, sugerindo que as estirpes mais virulentas do VDM apresentam um certo grau de resistência a ação virucida do NO (Jarozinski *et al.*, 2005).

Deve-se considerar que as concentrações mais elevadas de NO induzidos na infecção por estirpes do VDM dotadas de maior virulência, podem exercer um papel crítico, tanto na indução de um estado de imunossupressão mais severa, como na patogenia das síndromes neurológicas, precipitando a gênese de quadros patológicos que estão associadas com tais tipos estirpes desse mesmo vírus. É fato sobejamente conhecido que níveis mais elevados de NO são produzidos em algumas infecções virais de mamíferos e podem provocar um estado severo de imunossupressão e lesões neurológicas mais graves. Assim, infecções experimentais com agentes virais, como o vírus da raiva, o *Herpesvírus* humano, foram observados níveis mais elevados da expressão do mRNA do gene codificador da enzima iNOS, os quais se correlacionaram, por sua vez, com um aumento da severidade das lesões e da doença clínica. Tais resultados sugerem que a síntese aumentada da enzima iNOS acarreta um incremento na produção de NO, que pode mediar mecanismos patogênicos que atuam de forma mais relevante na gênese das lesões neurológicas provocadas por diferentes tipos de vírus, inclusive o VDM (Jarozinski *et al.*, 2005).

### Vírus da Retículo-Endoteliase Aviária

Um outro agente que provoca imunodepressão em galinhas é o vírus da retículo-endoteliase aviária (VREA), sendo nesse caso, observada uma redução significativa nas respostas imunes humorais e cito- mediadas das aves infectadas com estirpes não defectivas deste vírus. Dessa forma, são encontradas nas aves acometidas por este vírus, sinais evidentes de falhas de vacinação caracterizadas por baixas produções de anticorpos após a imunização com o vírus da doença de Newcastle e da doença de Marek, bem como depois da imunização experimental com hemácias de carneiro e com antígenos de *Brucella* sp. A intensidade com que é reduzida a capacidade da ave produzir anticorpos depende da dose e da estirpe do VREA utilizadas na infecção experimental, sendo que as respostas primárias são mais severamente afetadas do que as secundárias. Foi verificado que diferentes estirpes não defectivas do VREA variaram na capacidade de induzir atrofia da bursa de Fabricius e supressão das populações de linfócitos B. Ainda, alguns estudos evidenciaram que as regiões dos genes gag e env do VREA estão fortemente associadas com a capacidade imunossupressora desse vírus (Toivanen & Toivanen, 1987, Pope, 1991a, Witter & Fadly, 2003) (**Figura 20**).

<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Conceito:</b> enfermidade infecciosa de aves associada ao desenvolvimento de tumores (sarcomas) de células linfóides e reticulares e à imunossupressão.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Etiologia:</b> VREA, RNA-vírus (retrovírus), relativamente lábil a condições adversas de ambientes e a desinfetantes.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Variantes antigénicas:</b> # 3 subtipos / epitopos A, B e C.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Transmissão:</b> vertical e horizontal.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Alvos principais da infecção pelo VREA:</b> células reticulares e células e tecidos linfóides, onde induz infecção persistente e transformação tumoral.</li> </ul>
<p>Estirpe T do VREA induz redução na atividade de linfócitos B e T e das RIs pós-vacinais contra Doença de Newcastle e Doença de Marek. Ainda foi observado uma redução na proteção à infecção por <i>E. tenella</i>. Pintinhos infectados com 1 dia de idade com estirpe do VREA, apresentam aumento do período virêmico e a mortalidade após desafio com o vírus da doença de Newcastle.</p>

**Figura 20** - Características da imunossupressão induzida na retículoendoteliose aviária (Toivanen & Toivanen, 1987, Pope, 1991a).

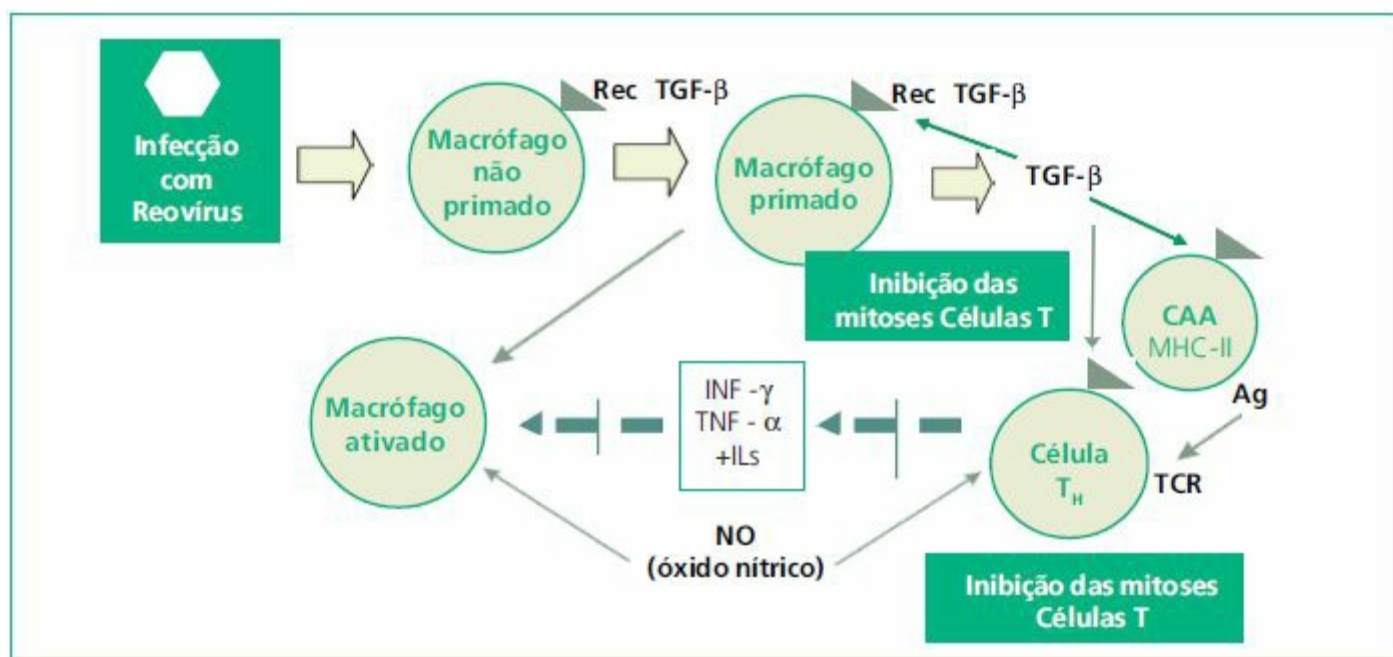
As células do baço derivadas de galinhas infectadas com uma estirpe defectiva do VREA (estirpe T) apresentaram supressão da resposta proliferativa induzida por mitógenos como a fito-hemaglutinina. Esse efeito foi associado com um *helper* vírus não defectivo que era contaminante da suspensão do primeiro vírus e é mediado por células supressores, que aparecem somente após a terceira semana PI. Outras respostas imunes celulares que são reduzidas ou inibidas na infecção com o VREA incluem a reação mista de linfócitos e a reação de rejeição a alo-enxertos.

As aves infectadas com o VREA podem apresentar uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento de tumores transplantados e induzidos pelo VDM, bem como a infecções causadas pelo vírus da bronquite infecciosa, vírus da laringo-traqueíte infecciosa e, ainda, pode ser observada uma maior mortalidade nas aves infectadas com o VREA após os desafios experimentais com *Eimeria tenella* e *Salmonella typhimurium* (**Figura 20**).

### Reovírus Aviários

Com relação à imunossupressão induzida pelos *Reovírus* as informações são em princípio um pouco contraditórias, mas um estudo anterior de Sharma *et al.* (1994), foi concebido um possível

mecanismo capaz explicar as interações deste vírus com o sistema imune das aves (**Figura 21**). Basicamente os resultados obtidos nesse estudo demonstraram que o *Reovírus* é capaz de ao interagir com macrófagos logo no início da infecção induzir a produção de TGF- $\beta$ , por estas células e, tanto nessas células como em linfócitos T, esse vírus estimula a expressão de receptores específicos para esta citocina (Rec- TGF- $\beta$ ), os quais atuam no sentido de reduzir drasticamente a atividade mitogênica de linfócitos T, impedindo a proliferação e a geração de células T efetoras (Th ou Tc) e, ainda, diminuindo a secreção de importantes citocinas e fatores pró-inflamatórios, o que resulta em uma menor atividade dos macrófagos. A exceção nesse quadro onde predominam as reduções nas atividades de células do sistema imune é que, na infecção com *Reovírus*, parece haver uma elevação na produção de NO, que age sinergicamente ao TGF- $\beta$  provocando uma redução ainda mais acentuada na mitogênese e na ativação de linfócitos T efetores (**Figura 21**).



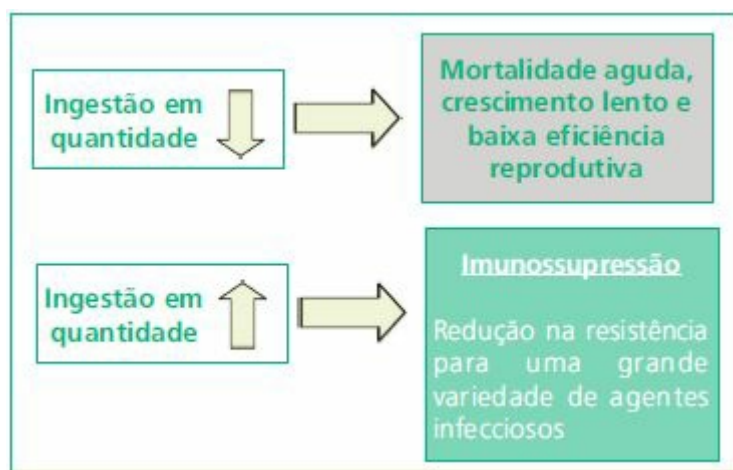
**Figura 21** - Mecanismos da imunossupressão na reovirose aviária (Sharma *et al.*, 1994).

## Micotoxinas

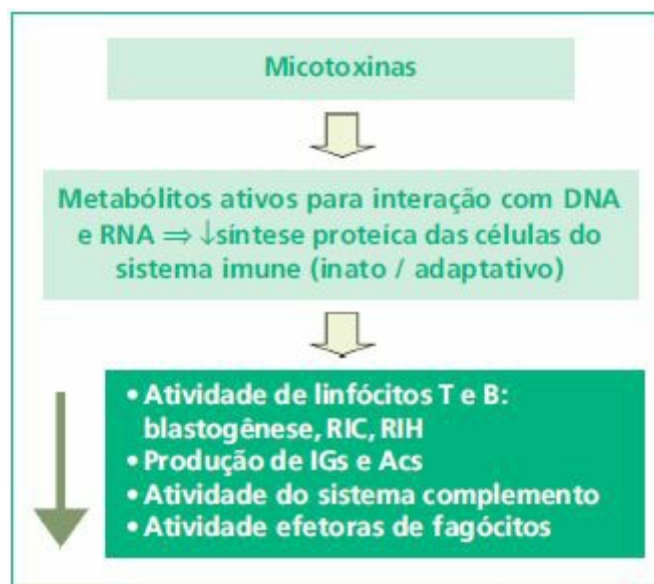
Atualmente, estima-se que cerca de 25% dos grãos de cereais produzidos acabam sendo contaminados com fungos produtores de micotoxinas. Nenhuma região do mundo está livre desse tipo de problema e de seus impactos negativos sobre a produção animal e a saúde humana, que são ocasionados por tais tipos de toxinas (Corrier, 1991).

É fato também reconhecido que a presença de níveis baixos de micotoxinas nas rações para as aves pode resultar em um menor desempenho produtivo desses animais, bem como em inibições acentuadas no desenvolvimento de respostas imunes inatas e adquiridas. Conseqüentemente, isso pode acarretar um estado de resistência mais reduzida a diversas doenças infecciosas e a determinados tipos de tumores (**Figura 22**). Nesse sentido, tem sido demonstrado que os principais efeitos imuno-supressores causados pelas micotoxinas estão relacionados à atividade inibitória sobre a síntese protéica que é exercida por essas substâncias. Dessa forma, foi verificado que os amplos efeitos imunossupressores causados pela ingestão continuada de doses baixas de micotoxinas, podem estar diretamente associados com o bloqueio da síntese protéica em células chave do sistema imune, isto é linfócitos T e B e macrófagos e células dendríticas, o que

impede o alcance do funcionamento eficaz e pleno da rede de citocinas que têm que atuar de forma relevante na indução e na regulação das principais respostas biológicas desse sistema (Corrier, 1991; Hoerr, 2003) (**Figura 23**).



**Figura 22** - Características do estado de imunossupressão induzido por micotoxinas (Chang & Hamilton, 1979; Corrier, 1991).



**Figura 23** - Principais mecanismos da imunossupressão na micotoxicose (Corrier, 1991).

Assim, nas aves submetidas à ingestão crônica de micotoxinas é observada uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento de várias doenças infecciosas, tais como a coccidiose, a doença de Marek, a salmonelose e a doença de Gumboro. Além disso, as micotoxinas acarretam um sério comprometimento na geração de respostas imunes induzidas por vários tipos de vacinas de uso rotineiro na avicultura industrial. Nesse contexto, nas aves afetadas por micotoxinas é então detectado um maior número de falhas após a administração de importantes vacinas, como aquela contra a doença de Marek, ou a bronquite infecciosa, ou a doença de Gumboro, ou peste aviária. Ainda, foi observado que a ingestão continuada de doses reduzidas de aflatoxina B contribui com o desenvolvimento de lesões mais severas na doença de Marek (Hoerr, 2003).

A imunossupressão induzida em aves por aflatoxina tem sido, em parte, associada com a atrofia da bursa de Fabricius, do timo e do baço desses animais. Em adição a isso, foi constatado que a aflatoxina é tóxica para os linfócitos B no estágio final do desenvolvimento embrionário, sendo



que a imuno-disfunção conseqüente a essa atividade é detectada na progênie de matrizes de frangos de corte que haviam sido expostas à ingestão dessa micotoxina. Ainda, dentro desse contexto, foram encontradas em aves submetidas à ingestão crônica de micotoxinas várias e relevantes alterações em atividades de células do sistema imune, como a depleção do número de linfócitos no timo, a redução significativa nas respostas mitogênicas de linfócitos B ou T. As aves afetadas pelas micotoxinas apresentaram o comprometimento de alguns mecanismos de imunidade inata, como um decréscimo marcante na atividade de fagócitos mononucleares, no que tange à capacidade de remoção por fagocitose, de partículas ou de bactérias, bem como foi observada uma redução na atividade do sistema complemento. Em suma, as aves cronicamente afetadas pela ingestão de doses não elevadas de micotoxinas, revelam reduções significativas, tanto nas respostas imunes humorais como cito-mediadas.

Resumindo, a maioria dos vírus com atividades imunossupressoras típicas, como o VDIB, o VAIG, o VEH, bem como as micotoxinas podem provocar a destruição direta das principais células do sistema imune, como os linfócitos B e T, por meio da indução de processos de necrose ou de apoptose nesses tipos celulares. Alternativamente, estes mesmos vírus acrescidos de outros como o HEV, o VDM, *Reovírus* aviário e os coronavírus e astrovírus de perus (possíveis agentes etiológicos da PEMS), podem também provocar disfunções tanto das células imunocompetentes (linfócitos T e B) como de fagócitos mononucleares ou de células apresentadoras de antígenos (células dendríticas), através, ou de uma ativação exagerada, ou inversamente de inibição do funcionamento de alguns desses tipos celulares, acarretando, dessa forma, mudanças significativas nos perfis de síntese e secreção de importantes citocinas. Tais alterações se caracterizam, por um lado, por uma redução na produção de citocinas anti-virais como os interferons do tipo I (IFN- $\alpha$  e  $\beta$ ) e das citocinas reguladoras da imunidade e da inflamação como o TGF- $\beta$  e por outro, por uma produção exagerada e descontrolada de citocinas pró-inflamatórias potentes como o IFN- $\gamma$ , o TNF- $\alpha$  e a IL-1 $\beta$ , que muitas vezes conduzem a um estado semelhante ao choque séptico ou lesões de células e tecidos do organismo hospedeiro.

## Conclusões

O sistema imune de aves tem por principal função reconhecer e promover a eliminação de agentes infecciosos que venham desafiá-lo, ou na hipótese de não se conseguir a eliminação completa de um dado patógeno, esse sistema tem que garantir, um estado de adaptação e recuperação compatível com o mínimo de perdas no processo produtivo dessas espécies de animais domésticos. Para tanto, é imprescindível a participação inicial de mecanismos inatos de defesa, como a reação inflamatória aguda, que conduz à transudação de fatores humorais e complexos multi-enzimáticos, os sistemas complemento da coagulação, das cininas e da fibrinolisa, juntamente com a migração de fagócitos polimorfonucleares e mononucleases, que em uma fase que precede o desenvolvimento ou a participação de respostas imunes, atuam no sentido de limitar a progressão e a instalação nos tecidos do organismo hospedeiro dos agentes infecciosos, o melhor ainda de eliminá-los, por meio de mecanismos líticos mediados pelo sistema complemento ou, principalmente, pela fagocitose tais patógenos agressores. Posteriormente, com a permanência de um dado agente infeccioso, mesmo depois deste ter sido combatido pelos respostas inatas de defesa, devem entrar em ação os mecanismos adquiridos ou específicos de defesa, que atingiram seu apogeu nos vertebrados superiores (mamíferos e aves), os quais dependem do reconhecimento de antígenos específicos dos patógenos, pelas células imunocompetentes (linfócitos T e B) e do

desenvolvimento de respostas imunes humoral (produção de anticorpos) e citomediada (participação de células T efectoras/TH/HT, com a secreção de citocinas inflamatórias e estimulatórias de funções fagocíticas e de células Tc). As reações e respostas que acompanham o processo infeccioso e os mecanismos de defesa inatos ou específicos estimulados por esses patógenos, sob influência dos diversos fatores ambientais, podem induzir alterações metabólicas e mudanças na taxa de crescimento ou na capacidade produtiva de aves.

Ainda, deve-se considerar que a seleção genética que tem sido feita nos últimos anos privilegiando características de crescimento ou de produção, ou ainda de maior precocidade de crescimento e produção em detrimento de atributos de resistência, rusticidade e, particularmente, de um melhor desempenho do sistema imune ou dos mecanismos mais importantes de defesa contra agressão feita por agentes infecciosos, tornou ainda mais relevante a busca por soluções alternativas de imuno- modulação mais relacionadas aos fatores ambientais, principalmente os nutricionais e os de manejo, incluindo-se aí os procedimentos de prevenção de doenças infecciosas, especialmente o uso de vacinas apropriadas, a fim de que se consiga alguma compensação, ainda que parcial para contornar esses problemas de menor capacidade genética para a resistência dessas importantes espécies de animais de produção.

Além disso, há muitas evidências na literatura indicando que o sistema imune é capaz de responder positiva ou negativamente a numerosos fatores, sejam de natureza física, química ou biológica que se traduzem para o organismo hospedeiro em moduladores do funcionamento desse sistema. Dentre esses fatores, adquirem particular importância aqueles provenientes do ambiente, da dieta a que as aves estão sendo submetidas, das condições fisiológicas e genéticas desses mesmos animais, bem como das substâncias tóxicas. Tais fatores podem, uma vez atingindo o organismo desses animais, prejudicar o bom funcionamento do sistema imune e, conseqüentemente, os mecanismos de resistência desses mesmos animais contra uma imensa gama de agentes infecciosos que atuam de forma deletéria tanto sobre a capacidade de sobrevivência a adaptação dos organismos hospedeiros, como sobre a capacidade produtiva de tais animais ([Figura 2](#)).

Em conclusão, constata-se que há muitas informações científicas e técnicas disponíveis sobre o que seria mais adequado e eficiente para adoção dos procedimentos biossegurança, dos programas de vacinação, das formulações de vacinas e de outros importantes fatores destinados ao controle de agentes imunossupressores. Portanto, em qualquer circunstância em que houver uma suspeita de condição ou enfermidade imunossupressora em aves, tal problema deve ser analisado detidamente, para se compreender melhor a sua etio-patogenia, sob diversos ângulos e por meio da utilização de programas consistentes e sistematizados de investigação, de forma que possam ser adotadas, o mais prontamente possível, as medidas de mais alta eficácia para resolvê-lo. Evitando, assim, qualquer prejuízo de maior magnitude à integridade e ao bom funcionamento do sistema imune das aves submetidas aos processos de criação intensiva que estão sendo usados atualmente. Apesar disso tudo, atenção redobrada deve ser dada para os patógenos virais imunossupressores que, muitas vezes e sob a pressão seletiva exercida pelo sistema imune, particularmente em aves vacinadas, passam a evoluir para formas variantes antigênicas ou de patótipos, como tem sido observado com o VDIB e com o VDM, trazendo dificuldades adicionais para o estabelecimento de um controle mais efetivo dessas enfermidades imunossupressoras.

## Bibliografia

Adair BM. Immunopathogenesis of chicken anemia virus infection. *Immunology* 2000; 24:247-255.

Aita M, Minella AB. On The presence of granulocytes in the bursa of Fabricius. *Cell Biology* 1983; 29:323-326.

Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature Immunology* 2001; 2:675-680.

Altmann R, Philpot D. Innate immunity via Toll-like receptors and Nod proteins. *Current Opinion in Microbiology* 2004; 7:25-32.

Barnes HJ, Guy JS. Emerging diseases: poult enteritis- mortality syndrome. In: Saif YM, editor. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames: Iowa; 2003. p.1171-1180.

Basset C, Holton J, O'Mahony R, Roitt I. Innate immunity and pathogen-host interaction. *Vaccine* 2003; 21:12-23.

Befus AD, Johnston N, Leslie GA, Bienenstock J. Gut-associated lymphoid tissue. In: chicken: I. Morphology, ontogeny and some functional characteristics of Peyer patches. *Journal of Immunology* 1980; 125:2626-2631.

Berens RD, Budras KD. Topography, ultrastructure and phagocytic capacity of avian lymphnodes. *Cell Tissue Research* 1983; 228:389-403.

Boer GF, Jeunseen SHM, Van Roselaar DJ, Vos GJ, Koch G. Enhancing effects of chick anemia agent (CAA) on Marek's disease pathogenesis. *Proceedings of 38th Western Poultry Disease Conference*; 1989 6-8 mar; Provo, Utah. USA. p.28.

Box PG, Holmes HC, Bushell AC. Finney PM impaired response to killed newcastle disease vaccine in chicken possessing circulating antibody to chicken anemia agent. *Avian Pathology* 1988; 17:713-723.

Bulow V, Schal KA. Chicken infectious anemia. In: Calnek BW, Barnes H J, Beard CW, McDougald LR, Sair YM. *Diseases of poultry*. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.739-756.

Burns RB. Histology and immunology of Peyer's patches in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Research Veterinary Science* 1982; 32:359-365.

Butcher GD, Harms RH, Winterfield RW. Relationship between delayed onset of egg production and involution of the bursa of Fabricius in White Leghorn chickens. *Avian Diseases* 1989; 33:361-364.

Calnek BW, Witter RL. Marek's Disease. In: Calnek BW, Barnes H J, Beard CW, McDougald LR, SaifYM. *Diseases of poultry*. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.369-413.

Chang CF, Hamilton PB. Impaired phagocytosis by heterophils from chickens during ochratoxicosis. *Applied and Environmental Microbiology* 1979; 39:572-575.

Chettle NJ, Eddy RK, Wyeth PJ, Lister SA. An outbreak of disease due to chicken anemia agent in broiler chickens in England. *Veterinary Record* 1989; 124:211-215.

Cheville NE. Studies on the pathogenesis of Gumboro disease in the bursa of Fabricius spleen and thymus of the chicken. *American Journal of Pathology* 1967; 51:527-551.

Cheville NF. Cytopathology in viral diseases. *Monographs in Virology* 1975; 10:235.

Cho BR. Experimental dual infections of chickens with infectious bursal and marek disease agents. I. Preliminary observations on the effect of infectious bursal disease agent on Marek's disease. *Avian Diseases* 1970; 14:629-640.

Cho Y, Edgar SA. Characterization of infectious bursal disease. ***Poultry Science*** 1972; 51:60-69.

Cooper MD, Peterson RDA, Good RA. Delineation of the thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. *Nature* 1965; 205:143-155.

Corrier DE. Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1991; 30:73-87.

Craft DW, Brown J, Lukerl PD. Effect of standard and variant strains of infectious bursal disease virus on infectious of chickens. *American Journal of Veterinary Research* 1990; 51:1192-1197.

Dietert RR, Golemboski KA, Austic RE. Environment-immune interactions. ***Poultry Science*** 1994; 73:1062-1076.

Dohms JE, Jaeger JS. The effect of infectious bursal disease virus infection on local and systemic antibody responses following infection of 3-week-old broiler chickens. ***Avian Diseases*** 1988; 32:632-640.

Dohms JE, Lee KR, Rosenberger JK. Plasma cell changes in the gland of harder following infectious bursal disease virus infection of the chicken. ***Avian Diseases*** 1981; 25:683-695.

Dohms JE, Metz A. Stress - mechanisms of immunosuppression. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1991; 30:89-109.

Dwivedi P, Burns RB. Effect of ochratoxin on immunoglobulin in broiler chicks. *Research Veterinary Science* 1984; 36:117-12.

Eerola E, Veromaa T, Toivanen P. Special features in the structural organization of the avian lymphoid system. In: Toivanen A, Toivanen P, editors. *Avian immunology: basis and practice*. Boca Raton: CRC PRESS; 1987. p.9-21.

Eldaghayes I, Rothwell L, Williams A, Withers D, Balu S, Davison F, Kaiser P. Infectious bursal disease virus: strains that differ in virulence differentially modulate the innate immune response to

infection in the chicken bursa. *Viral Immunology* 2006; 19:83-91.

Fadley AM, Witerfield RW, Olander HJ. Role of the bursa of Fabricius in the pathogenicity of inclusion body hepatitis and infectious bursal disease virus. *Avian Diseases* 1976; 20:467-477.

Fussel IW. Poultry industry strategies for control of immunosuppressive diseases. *Poultry Science* 1998; 77: 1193- 1196.

Goryo M, Hayashi S, Yoshizawa K, Umemura T, Itakura C, Yamashiro S. Ultrastructure of the thymus in chicks inoculated with chicken anemia agent (MSBI-TK5803 strain). *Avian Pathology* 1989a; 18:605-617.

Goryo M, Suwa T, Umemura T, Itakura C, Yamashiro S. Ultrastructure of bone marrow in chicks inoculated with chicken anemia agent (MSBI-TK5803 strain). *Avian Pathology* 1989; 18:329-343b.

Helmboldt CF, Gorman E. Experimentally induced Gunboro disease (IBA). *Avian Diseases* 1964; 8:561.

Higashihara M, Saijo K, Fujisaki Y, Matumoto M. Immunosuppressive effect of infectious bursal disease virus strains of variable virulence for chickens. *Veterinary Microbiology* 1991; 26:241-248.

Hirai K, Kunihiro K, Shimakura S. Characterization of immunosuppression in chickens by infectious bursal disease virus. *Avian Diseases* 1979; 23:950-965.

Hirai K, Shimakura S, Kawamoto E, Taguchi F, Kim ST, Change CN, Iritani Y. The immunosuppressive effect of infectious bursal disease virus in chickens. *Avian Diseases* 1974; 18:50-57.

Hirai K, Calnek BW. In vitro replication of infectious bursal disease virus in established lymphoid cell lines and chicken B lymphocytes. *Infection Immunology* 1979; 25:964-970.

Hodges RD. The histology of the fowl. London: Academic Press; 1974. p.648.

Hoerr FJ, Carlton WW, Yagen B. The toxicity of T-2 toxin and diacetoxycyclopentol in combination for broiler chickens food cosmet. *Toxicology* 1981; 19:185-188.

Hoerr FJ. Mycotoxicosis. In: Saif YM, editor. *Diseases of poultry*. Ames: Iowa State Press; 2003. p.1103-1132.

Horton J, Lackie. A Evolution of immunity. In: Roitt I, Brostoff J, Male DK, editors. *Immunology*. St Louis: Mosby Ed.; 1989. p.15.1-15.16.

Ismail N, Saif YM. Immunogenicity of infectious bursal disease viruses in chickens. *Avian Diseases* 1991; 35:460-469. Ivanyi J, Morris R. Immunodeficiency in the chicken. I An immunological study of infectious bursal disease. *Clinical and Experimental Immunology* 1976; 23:154-165.

Ivanyi J. Immunodeficiency in the chicken. II Production of monomeric IgM following testosterone treatment of infection with Gumboro disease. *Immunology* 1975; 28:1015-1021.

Janeway CA, Travers P. *Imunobiologia: o sistema imunológico na saúde e na doença*. 2ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1997. p.445.

Janeway Jr CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology* 2002; 20:197-216. Jarosinski HW, Njaa BL, O'Connell PH, Schat KA. Pro-inflammatory responses in chicken spleen and brain tissues after infection with very virulent plus marek's disease virus. *Viral Immunology* 2005; 18:148-161.

Kaiser P, Underwood G, Davison F. Differential cytokine responses following Marek's disease virus infection of chickens differing in resistance to Marek's disease. *Journal of Virology* 2003; 77:762-768.

Kibenge FSB, Dhillon AS, Russell RG. Biochemistry and immunology of infectious bursal disease virus. *Journal of General Virology* 1988; 69:1757-1775.

King A, Mclelland J. *Lymphatic system in birds their structure and function*. London: Baillere Tindall;1984. p.229- 236.

Klasing KC, Johnston BJ. Monokines in growth and development. **Poultry Science** 1991; 70:1781-1789. Klasing KC. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science** 1998; 77:1119-1125.

Ley DH, Yamamoto R, Bickford AA. The pathogenesis of infectious bursal disease: serologic, histopathologic and clinical chemical observations. **Avian Diseases** 1983; 27:1060.

Lillehoj HS. Avian gut-associated immune system implication in coccidial vaccine development. **Poultry Science** 1993; 72:1306-1311.

Lukert PD, SaifYM. Infectious bursal disease. In: *Diseases of poultry*. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.721- 738.

Mazariegos LA, Lukert PD, Brown J. Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease "Intermediate" strains. **Avian Diseases** 1990; 34:203-208.

McNulty MS, Connor TJ, Mcneilly F, Spackman D. Chicken anemia agent in the united states: isolation of the virus and detection of antibody in broiler breed broiler flocks. **Avian Diseases** 1989; 33:691-694.

Moradian A, Thorsen J, Julian RG. Single and combined infections of specific- pathogen -free chickens with infectious bursal disease virus and an intestinal isolate of reovirus. **Avian Diseases** 1990; 34:63-72.

Nakai T, Hirai K. In vitro infection of fractionated chicken lymphocytes by infectious bursal disease virus. **Avian Diseases** 1981; 25:831-838.

- Nakamura K, Imada Y, Maeda M. Lymphocytic depletion of bursa of Fabricius and thymus in chickens inoculated with *Escherichia coli*. *Veterinary Pathology* 1986; 23:712-717.
- Naukkarinen A, Sorvari TE. Involution of the chicken bursa of Fabricius: a light microscopic study with special reference to transport of colloidal carbon in the involuting bursa. *Journal of Leukocyte Biology* 1984; 35:281-282.
- Netea MG, van der Graaf C, van der Meer JW, Kullberg BJ. Toll-like receptors and the host defence against microbial pathogens: bringing specificity to the innate-immune system. *Journal of Leukocyte Biology* 2004; 75:749-755.
- Nusbaun KE, Lukerl PD, Fletcher OJ. Experimental infection of day-old poult with turkey isolates of infectious bursal disease virus. *Avian Pathology* 1988; 17:51-62.
- Olah I, Glick B, Taylor RL. Meckel's diverticulum II. A novel limphoepithelial organ in the chicken. *Anatomical Record* 1984; 208:253-260.
- Olah I, Glick B. Splenic white pulp and associated vascular channels in chicken spleens. *American Journal of Anatomy* 1982; 16:445-452.
- Olah I, Glick B. Structure of germinal centers in the chicken caecal fowls: light and electron microscopic and autoradiographic studies. **Poultry Science** 1979; 58:195-203.
- Olah I, Glick B. The number and size of the follicular epithelium (FE) and follicles in the bursa of Fabricius. *Poultry Science* 1978; 57:1445-1450.
- Onaga H, Togo M, Otaki Y, Tajima M. Influence of live virus vaccination against infectious bursal disease on coccidial infection in chickens. *Japanese Journal of Veterinary Science* 1989; 51:463-465.
- Otaki Y, Nunoya T, Tajima M, Tamada H, Nomura Y. Isolation of chicken anemia agent and Marek's disease virus from chickens vaccinated with turkey herpes virus and lesions induced in chicks by inoculating both agents. **Avian Pathology** 1987; 16:291- 906.
- Owen RL, Jones AL. Epithelial cell specialization within human Peyer's patches: an ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles. *Gastroenterology* 1974; 66:189-203.
- Payne LM, Powell PC. The lymphoid system. In: Freeman BM, editor. *Physiology and biochemistry of the domestic fowl*. Orlando: Academic Press; 1984. p.284-295.
- Payne LM. The lymphoid system, physiology and biochemistry of the domestic fowl. In: Bell DJ, Freeman BM, editors. *Orlando: Academic Press; 1971. p.985.*
- Pejkovski C, Davelaar FG, Kouwenhoven B. Immunossuprüssive effect of inffectious bursal disease virus on vaccination against infectious bronchitis. **Avian Pathology** 1979; 8:95-106.
- Pier AC, Richard J, Thurslon J. The influence of mycotoxins on resistance and immunity. In: *Interactions of mycotoxins in animal behavior*. Washington: National Academy of Sciences; 1979.

Pier AC, Richard JL, Cysewski SJ. Implications of mycotoxins in animal disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1980; 176:719-724.

Pope CR, Rosenberger JK, Cloud SS. Pathogenicity of the Delaware isolate of the chicken anemia agent for specific pathogen free chickens inoculated singly or in combination with infectious bursal disease virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1989; 194:1801.

Pope CR. Chicken anemia agent. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1991b; 30:51-65.

Pope CR. Pathology of lymphoid organs with emphasis on immunosuppression. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1991a; 30:31-44.

Powell PC. Macrophages and other non-lymphoid cells contributing to immunity. In: Toivanen A, Toivanen P, editors. *Avian immunology: basis and practice*. Boca Raton: CRC Press; 1987. p.195-212.

Purchase HG, Payne LN. Leukosis/sarcoma group. In: Hofstad MS, Barnes JH, Calnek BW, Reid WM, Yoder HW, editors. *Diseases of poultry*. Ames: Iowa State University Press; 1984. p.360.

Purchase HG. The pathogenesis and pathology of neoplasms caused by avian leucosis viruses. In: Boer GE editor. *Avian leukosis*. Boston: Martinus Nijhoff; 1987. p.171-196.

Qureshi MA, Hussain I, Heggen CL. Understanding immunology in disease development and control. ***Poultry Science*** 1998; 77:1126-1129.

Randall CJ, Reece RL. *Color atlas of avian histopathology*. London: Mosby-Wolfe Times Mirror International; 1996. 232 p.

Rath NC, Huff WE, Bayyari GR, Balog JM. Identification of transforming growth factor- $\beta$  and interleukin-6 in chicken ascites fluid. ***Avian Diseases*** 1995; 39:382-389.

Rautenschlein S, Sharma JM. Immunopathogenesis of haemorrhagic enteritis virus (HEV) in turkeys. *Developmental and Comparative Immunology* 2000; 24:237-246.

Riddell C. *Avian histopathology*. Kennett Square: American Association of Avian Pathologists; 1897. p.7-17.

Robertson GM. Effect of infection of the bursa of Fabricius of day-old chickens with infectious laryngotracheitis virus on subsequent bursa development and antibody responses. *Research in Veterinary Science* 1981; 31:136-139.

Roitt I. *Fundamentos de imunologia*. 10<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.504.

Romppanen TA. Morphometrical method for analyzing germinal centers in the chicken spleen. *Acta of Pathology and Microbiology Scandinavica (C)* 1981; 89:263-270.



- Rosenberg JK, Sharma JM, Belzer SW, Nordgren RM, Naqi S. Flow cytometric analysis of B cell and T cell subpopulations in specific pathogen-free chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Diseases* 1994; 38:16-21.
- Rosenberger JK, Cloud SS. The effects of age, route of exposure and coinfection with infectious bursal disease virus on the pathogenicity and transmissibility of Chicken Anemia Agent (CAA). *Avian Diseases* 1989; 33:753-759.
- Rosenberger JK, Cloud SS. Chicken anemia virus. *Poultry Science* 1998; 77:1190-1192.
- Rosenberger K, Gelb Jr J. Response to several avian respiratory viruses as affected by infectious bursal virus. *Avian Diseases* 1978; 22:95-105.
- Saif YM. Immunosuppression induced by infectious bursal disease virus. *Veterinary Pathology and Immunopathology* 1991; 30:45-50.
- Santivatr D, Maheswaran SK, Newman JA, Pomeroy BS. Effect of infectious bursal disease virus infection on the phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by mononuclear phagocytic cells of susceptible and resistant strains of chickens. *Avian Diseases* 1981; 25: 383-311.
- Schaffner T, Mueller J, Hess MW, Cottier H, Sordal B, Ropke C. The bursa of Fabricius: a central organ providing for contact between the lymphoid system and intestinal content. *Cellular Immunology* 1974; 13:304-311.
- Schat KA, Xing Z. Specific and non-specific immune responses to Marek disease virus. *Developmental and Comparative Immunology* 2000; 24:201-221.
- Schat KA. Chicken anemia virus. In: Saif YM, editor. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003. p.82-202.
- Sharma JM, Dohms JE, Metz AL. Comparative pathogenesis of serotype 1 and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus and the effect of those viruses on humoral and cellular immune competence of specific pathogen-free chickens. *Avian Diseases* 1989; 33:112-124.
- Sharma JM, Kim IJ, Raustenschein S, Yeh HY. Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Immunology* 2000; 24:223-235.
- Sharma JM, Rosenberger JK. Infectious bursal disease and reovirus infections of chickens: Immune responses and vaccine control. In: Toivanen A, Toivanen P, editors. *Avian immunology basis and practice*. Boca Raton: CRC Press; 1987. p.150-157.
- Sharma JM. Immunosuppressive effects of lymphoproliferative neoplasms of chickens. *Avian Diseases* 1979; 23:315- 324.
- Sharma JM, Karaca K, Pertile T. Virus-induced immunosuppression in chickens. *Poultry Science* 1994; 73:1082-1086.
- Sivanadan B, Maheswaran SK. Immune profile of infectious bursal disease. I Effect of bursal

disease virus on peripheral bloodt and b lymphocytes in chickens. **Avian Diseases** 1980; 24:715-725.

Stein H, Gerders J, Mason DY. The normal and malignant germinal center. *Clinics and Haematology* 1982; 2:531-558.

Swaggerty CL, Kogut MH, Ferro PJ, Rothwell L, Pevzner IY, Kaiser P. Differential cytokine mRNA expression in heterophils isolated from *Salmonella*-resistant and -susceptible chickens. *Immunology* 2004; 113:139-148.

Swaggerty CL, Lowry VK, Ferro PJ, Pevzner IY, Kogut MH. Disparity in susceptibility of to vancomycin-resistant Enterococcus organ invasion in commercial broiler chickens that differ in innate immune responsiveness. *Food Agriculture Immunology* 2005; 16:1-15.

Swaggerty CL, Pevzner IY, Ferro PJ, Crippen TL, Kogut MH. Association between in vitro heterophil function and the feathering gene in commercial broiler chickens. **Avian Pathology** 2003; 32:483-488.

Tizard I. *Imunologia veterinária*. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Roca; 2003. p.531.

Toivanen A, Toivanen P. editors. *Avian immunology: basis and practice*. Boca Raton: CRC Press; 1987. v.1-2. p.447.

Toivanen A, Toivanen R. Histocompatibility requirements for cellular cooperation in the chicken: generation of germinal centers. *Journal Immunology* 1977; 118:431-436.

Toivanen P, Toivanen A, Vainio O. Complete restoration of bursa dependent immune system after transplantation of semiallogenic stem cells into immunodeficient chicks. *Journal Experimental Medical* 1974; 139:1344-1356.

Toivanen R, Naukkarinen A, Vainio O. What is the Function of Bursa of Fabricius? In: Toivanen A, Toivanen P, editors. *Avian immunology: basis and practice*. Boca Raton: CRC Press; 1987. p.1-12.

Vainio O, Toivanen A. Cellular cooperation in immunity. In: Toivanen A, Toivanen P, editors. *Avian immunology: basis and practice 1*. Boca Raton: CRC Press; 1987. p.195-212.

Van Den Berg TP. Acute infectious bursal disease in poultry: a review. **Avian Pathology** 2000; 29:175-194.

Vielitz E. Anemia-dermatitis of broilers: field observations on its occurrence. Transmission and prevention. *Avian Pathology* 1988; 17:113-120.

Vielitz E. Avian infectious anemia: occurrence, transmission and prevention DLG-Syrnposium. Enix: Halmeln; 1989. p. 2-7.

Welty J, Baptista L. Birds as flying machines. In: *The life of birds*. New York: Saunders and College Publishing; 1988. p.1-7.

- White RG. The structural organization of avian lymphoid tissues. In: Rose ME, Payne LN, Freeman BM, editors. Avian immunology. Edimburgh: British **Poultry Science**; 1981. p.21-33.
- Wigley P, Kaiser P. Avian cytokines in health and disease. Brazilian Journal of **Poultry Science** 2003; 5:1-14.
- Wilson TJ, Mitrangas K, Ramm HC, Boyd RI, Ward HA. Response of the chicken bursal stroma to treatment with Cyclophosphamide and IBD Virus. In: Fossum S Radstad B, editors. Histophysiology of the immune system. New York: Plenum Press; 1988. p.75-80.
- Witter RL, Fadly AM. Neoplastic Disease-Reticuloendoteliiose. In: Saif YM, editor. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003. p.517-536.
- Witter RL, Schat KA. Marek's disease. In: Saif YM, editor. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003. p.407-465.
- Witter RL. Increased virulence of Marek's disease virus field isolates. **Avian Diseases** 1997, 41:149-163.
- Yuasa N CAA. Review and recent problems. Proceedings of the 38th Western Poultry Disease Conference; 1989; Provo: Bringham Young University; 1989. p.14-20.
- Yuasa N, Imai K. Pathogenecity and antigenicity of eleven isolates of chicken anemia agent (CAA). **Avian Pathology** 1986; 15:639-645.
- Yuasa N, Taniguchi T, Yoshida I. Isolation and some Characteristics of an agent inducing anemia in chicks. **Avian Diseases** 1979; 23:366-385.
- Yuasa N, Yoshida I. Experimental egg transmission of chicken anemia agent. National Institute of Animal Health Quarterly 1983; 23:99-100.

## Palavras abreviadas

Acs – Anticorpos	NOIF – Fator indutor da produção de óxido nítrico
BI – Bronquite Infecciosa	RIC – resposta immune celular
CTL – citólise mediada por células T citotóxicas	RIH – resposta imune humoral
DM – Doença de Marek	TC – linfócito T citotóxico
DN – Doença de Newcastle	TGF-b – fator blastogênico (crescimento = "Growth") e de transformação beta
IFN - Interferon	Th – linfócito T auxiliar (/ h= "helper")
IgA – Imunoglobulina do isótipo A	TH1 - linfócito T auxiliar do tipo 1
IgG - Imunoglobulina do isótipo G	TH2 - linfócito T auxiliar do tipo 2
IgM - Imunoglobulina do isótipo M	TNF-a – fator de necrose tumoral alfa
IL - interleucina	VAIG – vírus da anemia infecciosa das galinhas
iNOS- enzima sintetizadora de óxido nítrico	VDIB – vírus da doença infecciosa da bursa
LPS - lipopolissacarídeo	VDM – vírus da doença de Marek
NC - Newcastle	VEH – vírus da enterite hemorrágica dos perus
NK – "natural killer" (linfócitos com atividade citotóxica)	

## Enfermidades bacterianas

<b>4.1 - Salmoneloses</b>	<b>435</b>
<i>Angelo Berchieri Júnior, Oliveira Caetano de Freitas Neto</i>	
<b>4.2 - Colibacilose</b>	<b>457</b>
<i>Antonio J. Piantino Ferreira, Terezinha Knöbl</i>	
<b>4.3 - Estafilococose e Streptococose</b>	<b>475</b>
<i>Antonio J. Piantino Ferreira, Claudete S. Astolfi Ferreira</i>	
<b>4.4 - Micoplasmoses</b>	<b>485</b>
<i>Elmiro Rosendo do Nascimento, Virginia Léo de Almeida Pereira</i>	
<b>4.5 - Coriza infecciosa das galinhas, pasteureloses e outras infecções bacterianas relacionadas</b>	<b>503</b>
<i>Vladimir P. do Nascimento, Nilce Maria Soares Q. Gama, Cláudio W. Canal</i>	
<b>4.6 - Clostridioses</b>	<b>533</b>
<i>Rubén Pablo Schocken Iturrino, Mark Ishi, Juliano Vittori</i>	
<b>4.7 - Clamidioses</b>	<b>553</b>
<i>Tânia de Freitas Raso</i>	

<b>Introdução</b>	<b>435</b>
<b>Imunidade das aves</b>	<b>437</b>
<b>Fatores de virulência das Salmonelas</b>	<b>438</b>
<b>Pulorose</b>	<b>439</b>
<i>Introdução</i>	439
<i>Distribuição e ocorrência</i>	439
<i>Etiologia</i>	439
<i>Patogenia e epidemiologia</i>	440
<i>Diagnóstico</i>	442
<i>Sorologia</i>	443
<i>Diagnóstico diferencial</i>	443
<i>Tratamento</i>	443
<i>Prevenção e controle</i>	443
<b>Tifo aviário</b>	<b>444</b>
<i>Introdução</i>	444

<i>Distribuição e ocorrência</i>	444
<i>Etiologia</i>	444
<i>Patogenia e epidemiologia</i>	444
<i>Diagnóstico</i>	446
<i>Diagnóstico diferencial</i>	446
<i>Tratamento</i>	446
<i>Prevenção e controle</i>	446
<b>Paratifo aviário</b>	<b>446</b>
<i>Introdução</i>	446
<i>Distribuição e ocorrência</i>	447
<i>Etiologia</i>	447
<i>Patogenia e epidemiologia</i>	447
<i>Diagnóstico</i>	448
<i>Diagnóstico diferencial</i>	449
<i>Tratamento</i>	449
<i>Prevenção e controle</i>	449
<b>Arizonose</b>	<b>449</b>
<b>Programa nacional de sanidade avícola</b>	<b>450</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>450</b>

Angelo Berchieri Júnior, Oliveira Caetano de Freitas Neto

## Introdução

As salmoneloses aviárias são enfermidades provocadas por bactérias do gênero *Salmonella*, o qual é composto pelas espécies enterica e bongori. A *Salmonella* enterica é subdividida em seis subespécies (enterica, salamae, arizonae, diarizonae, houtenae e indica), que contém vários sorotipos ou sorovares. Descreve-se um sorotipo da seguinte forma: *Salmonella* enterica subespécie enterica sorotipo Pullorum, que pode ser simplificada como *Salmonella* Pullorum.

Alguns desses sorovares infectam as aves, podendo causar três enfermidades distintas. A pulorose, cujo agente é a *Salmonella* Pullorum, o tifo aviário, causado pela *S. Gallinarum* e o paratifo aviário, causado por qualquer outra salmonela que não seja *S. Pullorum* ou *S. Gallinarum*. São conhecidos mais de 2500 sorotipos de *Salmonella*. Mas, aproximadamente, 90 são os mais comuns em casos de infecção de seres humanos e animais. Dentre estes, alguns podem infectar as aves, causando ou não o paratifo aviário e, por meio de produtos alimentícios de origem avícola, estarem associados com casos de toxinfecção alimentar em seres humanos.

A pulorose é uma enfermidade que pode acometer as aves em qualquer idade. Mas é mais comum em aves jovens, nas três primeiras semanas de vida. A sua história se confunde com o desenvolvimento da avicultura industrial. O início da incubação artificial foi atrapalhado pela ocorrência desta enfermidade, que prejudicava a incubação, provocava alta mortalidade entre os pintainhos e muita refugagem. Através do processo de incubação artificial, de ovos de aves diferentes, o agente da pulorose foi sendo transferido para outras aves de interesse econômico como perus. Para viabilizar a incubação artificial, em escala industrial, foi preciso buscar métodos de controle da pulorose. Entre várias medidas de prevenção baseadas em higiene e limpeza, a mais importante foi o desenvolvimento, na década de 20 (século XX), de uma prova sorológica de aglutinação, que permitia identificar aves portadoras. Após 1930, verificou-se que o teste poderia ser feito com sangue total, tornando-o factível em larga escala. Assim, com o teste sendo realizado nos planteis reprodutores, foi possível controlar a pulorose. Até hoje, o método de aglutinação rápida em placa com sangue total, realizado em 100% do lote de aves reprodutoras, é um instrumento imprescindível para se controlar a pulorose em avicultura industrial. No Brasil, embora a pulorose, esteja aparentemente sob controle, diversos casos foram diagnosticados no período de 1980 a 2005, incluindo-se aí a presença de uma cepa com comportamento bioquímico atípico. De um modo geral, criações de aves em que se utiliza a incubação artificial, como galinhas, perus e codornas, é preciso estar atento a esta enfermidade.

O tifo aviário, embora seja causado por uma *Salmonella* muito semelhante ao agente da pulorose, apresenta uma relação parasita-hospedeiro com a ave, bastante diferente. A *S. Gallinarum* é altamente patogênica para aves em qualquer idade. No entanto, a sua ocorrência é mais comum



entre aves adultas. A mortalidade provocada pelo tifo aviário pode chegar a 40-80% do plantel. Observa-se que algumas aves adoecem e acabam morrendo em 7-14 dias. Este processo é contínuo e aos poucos, vai acometendo aves do plantel, tendo-se no final, mortalidade dentro dos parâmetros acima mencionados. Muitas vezes, a morte é decorrente da enfermidade e de intoxicação pelos medicamentos usados para combatê-la. O tifo aviário foi reconhecido, inicialmente, na Inglaterra, no final do século XIX. É uma doença considerada de países “em desenvolvimento”. Nos Estados Unidos da América, tem sido considerada sob controle e este resultado deve-se a um plano nacional de prevenção de enfermidades avícolas, com destaque para o controle de salmoneloses. Parte importante deste plano refere-se à eliminação de aves infectadas, à adoção de provas sorológicas, à pesquisa e identificação do sorotipo de *Salmonella* por meio de exames bacteriológicos, completando-se com medidas de limpeza, desinfecção e higiene. Na Europa, na Alemanha e Dinamarca, o tifo aviário foi notificado no início dos anos 90 (século XX). No México, onde adota-se também programas de vacinação para prevenir o tifo aviário e na América do Sul, a enfermidade tem sido observada. No Brasil, tem sido diagnosticada em áreas de exploração de aves de postura comercial, mas também pode ocorrer em aves reprodutoras (para corte e postura).

O paratifo aviário, como já foi mencionado anteriormente, não tem um agente específico. Muitos sorotipos de *Salmonella* já foram isolados de aves com ou sem o quadro da enfermidade. Os mais comuns são a *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*. Mas outros, entre os quais *S. Agona*, *S. Infantis*, *S. Hadar*, *S. Senftenberg*, *S. Heidelberg* foram identificados como agente etiológico do paratifo aviário. As aves jovens são mais susceptíveis e quando a enfermidade se desenvolve, o quadro é passível de confusão com a pulrose. A doença é mais rara entre aves adultas, mas pode ocorrer e ser confundida com outras salmoneloses ou outras enfermidades bacterianas. Estas salmonelas não são específicas de galinhas como também não são específicas de outras aves ou de outros animais, incluindo-se aqui mamíferos e répteis. São salmonelas que se adaptam muito bem ao trato intestinal de galinhas e perus, podendo persistir no trato entérico e serem eliminadas nas fezes por várias semanas. Algumas, além do trato entérico, podem invadir a corrente circulatória, infectando órgãos como ovário, baço, fígado e coração. Em função da infecção do aparelho reprodutor e da cloaca (fezes), o ovo poderá ser contaminado, originando a transmissão vertical. A incubação de ovos infectados pode resultar em decréscimo na curva de nascimento, provocar o paratifo aviário entre os pintainhos recém nascidos e, por intermédio dos animais infectados, disseminar a bactéria em granjas. Na granja, outros animais e o homem poderão se infectar. Portanto, a relação entre as salmonelas paratíficas e as aves é bastante complexa e difícil de combater. Mesmo em granjas que adotam o sistema de vazio sanitário, o novo lote poderá ser infectado por roedores que já as habitavam. Além dos transtornos causados, em função do acometimento das aves, as salmonelas paratíficas poderão, por meio de alimentos de origem avícola, provocar toxinfecção em seres humanos. Os seres humanos também têm um quadro de salmonelose típico, com agente específico. Contudo, com o desenvolvimento industrial, os alimentos passaram a serem produzidos em massa. Para isso, tendo-se como exemplo a avicultura, procurou-se, mais e mais, melhorar a capacidade de produção e, ao mesmo tempo que a avicultura expandiu-se no mundo inteiro, aumentou-se, exponencialmente, a quantidade de animais, concentrando-se muito mais aves por metro quadrado. Esta situação, tão importante para viabilizar a avicultura industrial, favorece a instalação, multiplicação e disseminação de agentes patogênicos. Assim, enquanto as condições de higiene melhoravam a qualidade de vida da população, diminuindo a incidência de enfermidades como a salmonelose

humana causada por *Salmonella* Typhi, a evolução industrial favorecia o desencadeamento de enfermidades de origem alimentar. A toxinfecção humana, devido à ingestão de produtos alimentícios contaminados por *Salmonella*, tem registros que datam de 1895, ocasião em que indivíduos se infectaram ingerindo carne bovina. No início da década de 70 (século XX), muitos casos de toxinfecção humana por *Salmonella* Agona na Europa e Estados Unidos foram associados à ingestão de produtos alimentícios de origem avícola, cujas aves tinham sido alimentadas com ração contendo farinha de peixe contaminada, proveniente do Peru. Esta situação revela outra forma importante de introdução de salmonelas em criações de aves, que é a ração. Os principais veículos de salmonelas na ração seriam as matérias primas de origem animal. Mas os ingredientes de origem vegetal também podem introduzir salmonelas na ração, assim como pássaros, roedores e moscas, durante a armazenagem. A partir de 1980, surtos mundiais e depois no Brasil, de salmonelose humana por *Salmonella* Enteritidis, uma vez mais, gerou muita discussão a respeito, estando os alimentos de origem avícola no centro da questão. Os relatos contidos na literatura demonstram em alguns casos e sugerem em outros, que a transmissão vertical teria sido responsável por isso. Os casos humanos nem sempre foram precedidos por casos clínicos de paratifo aviário em pintainhos.

Tendo-se em vista que a avicultura industrial existe em função da sua aceitação como fonte de alimento, os programas de prevenção e controle de *Salmonella* em aves, têm sido elaborados visando evitar as enfermidades avícolas (pulorose, tifo aviário e paratifo aviário) e a ave como fonte de infecção para os seres humanos.

## Imunidade das aves

Pouco se sabe a respeito da imunidade das aves contra as salmonelas. Grande parte dos dados disponíveis na literatura são provenientes de estudos com *S. Typhimurium* em camundongos. Tal informação nem sempre pode ser aplicada a outros sorovares ou outros hospedeiros. Contudo, as informações subsequentes são oriundas da literatura especializada em aves.

A maioria das infecções por *Salmonella* em aves inicia-se por via oral. A invasão do epitélio intestinal ocorre na superfície apical onde a *Salmonella* induz a ruptura e o afastamento das microvilosidades, provocando a endocitose e migrando através da célula. Durante a infecção sistêmica as salmonelas são fagocitadas por macrófagos e fagócitos polimorfonucleares e ficam alojadas no interior de vacúolos de fagocitose denominados fagossomos. A habilidade para se multiplicar dentro destas células é um pré-requisito para o desencadeamento da doença sistêmica.

Ao penetrar pelo epitélio intestinal da ave, a *Salmonella* estimula receptores das células intestinais conhecidos como toll-like receptor 5 (TLR5). Uma vez ativados, os TLR5 desencadeiam a produção de interleucinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e IL-8). Essa inflamação intestinal inicial, com produção de IL-1, IL-6 e IL-8 juntamente com os macrófagos, heterófilos e células natural killer (NK) fazem parte da resposta imune inata, a linha inicial de defesa contra a entrada das salmonelas no organismo. A imunidade inata ajuda na prevenção da infecção sistêmica e é responsável por desencadear a resposta imune humoral e celular adquirida.

A IL-1 ativa os macrófagos e as células T, a IL-6 ativa linfócitos B e T e induz a multiplicação dos macrófagos, enquanto que a IL-8 atrai os heterófilos para o local da infecção. Os macrófagos do

figado, quando ativados pela IL-1, produzem a IL-18, substância que inicia a resposta imune celular por meio da estimulação da produção de interferon- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) pelas células T auxiliar 1 (Th1). O INF- $\gamma$  por sua vez, atua nos macrófagos, ativando a enzima NADPH-oxidase responsável por produzir os “intermediários reativos de oxigênio” (radicais livres), potentes antimicrobianos capazes de matar as salmonelas no interior dos fagossomos. O INF- $\gamma$  também ativa as células do complexo de histocompatibilidade de classe II (MHC II), as quais são responsáveis por apresentarem os antígenos bacterianos aos linfócitos T citotóxicos para que estes destruam as células infectadas. A IL-2, outra interleucina produzida pelas células Th1, tem a função de induzir a multiplicação de linfócitos T e B e de ativar macrófagos.

Devido às salmonelas realizarem uma fase do ciclo de vida dentro das células de seus hospedeiros, a resposta imune humoral (ativação dos linfócitos B por IL-6 e INF- $\gamma$ ), mesmo com elevada produção de anticorpos específicos (IgG), não é capaz eliminar a infecção sistêmica. O processo de eliminação da bactéria do organismo infectado, realizado através de mecanismos dependentes de anticorpos como a opsonização seguida de fagocitose, ocorre apenas quando as salmonelas são liberadas extracelularmente. Assim em aves, é aceito que a imunidade mediada por células, representada pelas células T, é mais importante que a resposta humoral para a limpeza (clearance) tecidual de sorovares altamente invasivos, enquanto que a produção de anticorpos, especialmente a IgA, e os leucócitos polimorfo-nucleares estão envolvidos no clearance intestinal de salmonelas menos patogênicas, como *S. Enteritidis*.

A resistência de algumas linhagens de aves às salmonelas, incluindo *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, parece estar relacionada com a capacidade de alojar a bactéria no organismo, controlando sua multiplicação. Aves mais resistentes às salmoneloses sistêmicas possuem macrófagos com maiores capacidades de produção da enzima NADPH-oxidase e com rápida resposta às citocinas pró-inflamatórias.

Nem sempre o organismo da ave consegue produzir uma resposta imune inata e adaptativa (humoral e celular) que seja efetiva na eliminação da *Salmonella*. Assim, a bactéria persiste nas aves sem ser eliminada pelo sistema imune. Neste caso, a ave pode manifestar a sintomatologia da doença e, após a melhora, albergar o patógeno, tornando-se uma fonte de infecção.

## Fatores de virulência das Salmonelas

A salmonelose causada por sorotipos adaptados a muitos hospedeiros (por exemplo, *S. Enteritidis* em aves e mamíferos) é caracterizada por uma gastroenterite que, a depender da susceptibilidade do organismo infectado, pode resultar em uma infecção sistêmica. Já a doença causada por sorovares adaptados a um número restrito de hospedeiros (Por exemplo, *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* em galinhas) manifesta-se sem grande comprometimento intestinal, porém com severa doença sistêmica, muitas vezes levando o hospedeiro à morte.

A habilidade dos sorovares de *Salmonella* em causar doença se deve à presença de diversos fatores de virulência. São considerados fatores de virulência a existência de grupos de genes e os componentes da estrutura de superfície das salmonelas.

Ao seguir por via oral, a *Salmonella* é sucessivamente exposta ao suco gástrico, aos efeitos da

bile, à redução da tensão de oxigênio, à flora intestinal, ao peristaltismo e à resposta imune do hospedeiro. Esse ambiente hostil induz a expressão de genes bacterianos, cujos produtos são essenciais para a invasão e sobrevivência das salmonelas. Muitos dos mecanismos de controle dos genes bem como suas funções ainda permanecem incompreendidos.

Alguns dos genes de virulência estão concentrados em grandes regiões dos cromossomos, nas denominadas “ilhas de patogenicidade” ou “*Salmonella* pathogenicity islands” (SPI). Ao todo, foram descritas cinco SPI (SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4 e SPI-5) nos sorovares de *Salmonella* de interesse veterinário. Acredita-se que esses genes foram adquiridos, ao longo dos tempos, por meio da incorporação de material genético de outras bactérias.

Foi demonstrado que a SPI-1, presente em todos os sorovares de *Salmonella*, contém genes responsáveis por codificar uma espécie de “microseringa” denominada sistema de secreção do tipo três (SSTT). O SSTT tem a função de transportar proteínas bacterianas para o interior das células do hospedeiro, promovendo um rearranjo do citoesqueleto celular e permitindo a entrada da *Salmonella*, o que é necessário para invasão das células intestinais.

Um outro tipo de SSTT, codificado por genes da SPI-2, é produzido quando a *Salmonella* está no interior dos fagossomos e sua função é estabelecer o trânsito de proteínas bacterianas no ambiente intracelular. Existem genes da SPI-2 que atuam na inativação da enzima NADPH-oxidase, evitando a morte das salmonelas por “intermediários reativos de oxigênio”. A SPI-2 tem a função de modificar o meio intracelular, criando um ambiente favorável à sobrevivência da *Salmonella*.

De acordo com alguns estudos, as mutações em genes da SPI-2 tornam as cepas de *S. Typhimurium* atenuadas para aves jovens; o que não é observado quando as mutações são realizadas em genes da SPI-1. A presença da SPI-2, em *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, tem sido descrita como fundamental para o desenvolvimento do tifo aviário e da pulorose.

O gene *mgtC*, presente na SPI-3, parece importante para a adaptação da *Salmonella* a baixas concentrações de  $Mg^{2+}$  e ao pH ácido, condições encontradas no interior dos vacúolos de fagocitose. Os genes presentes na SPI-4 codificam um suposto “sistema de secreção do tipo um” que permite a secreção de toxinas. Finalmente, a SPI-5 contém genes que codificam proteínas envolvidas na secreção fluida e reação inflamatória da mucosa intestinal, responsáveis pelas salmoneloses entéricas. Contudo, a importância de genes da SPI-4 e SPI-5 ainda não foi descrita nas salmoneloses aviárias.

Alguns sorotipos de *Salmonella* (por exemplo, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, entre outras) possuem plasmídeos (pedaços de DNA circular) no citoplasma, os quais contêm genes de virulência chamados *Salmonella* plasmid virulence (*spv*). Os *spv* geralmente são expressos em condições de redução de nutrientes ou queda de pH e também estão envolvidos na sobrevivência da *Salmonella* no interior de macrófagos, sendo importantes nas salmoneloses sistêmicas.

Existem genes de virulência que estão espalhados em pequenas regiões, do cromossomo das salmonelas, denominadas “Islets” ou “ilhas de patogenicidade”. Muitos dos genes presentes nas Islets são, comprovadamente, responsáveis pela infecção sistêmica da *S. Typhimurium* em roedores, bem como pela infecção de outros sorovares em seres humanos. Entretanto, pouco se

estudou a respeito das Islets nas salmoneloses aviárias.

Os genes presentes nas SPI, plasmídeos e nas “ilhas de patogenicidade” são chamados de verdadeiros genes de virulência.

A sobrevivência da *Salmonella* no organismo do hospedeiro, intracelular ou no trato entérico, ocorre em ambiente estritamente anaeróbio e com restrições de nutrientes. Portanto, além dos mecanismos de patogenicidade acima mencionados, a sobrevivência da bactéria depende de sua capacidade em utilizar os substratos disponíveis para se manter viva. Essa propriedade se deve à existência de um outro grupo de genes denominados “housekeeping”, presentes também em outras enterobactérias, que têm a função de produzir enzimas atuantes na respiração bacteriana e no metabolismo de carboidratos, aminoácidos e nucleotídeos. Deste modo, estão envolvidos na respiração anaeróbica, na biossíntese de nutrientes e na reparação de danos na célula bacteriana, viabilizando a multiplicação das salmonelas nas adversidades do organismo hospedeiro.

Outros fatores de virulência incluem a produção de exotoxinas e endotoxinas, a presença de fimbria, flagelo, e do antígeno capsular (em alguns sorovares de *Salmonella*). O papel desses fatores na patogenia das salmonelas não foi totalmente estabelecido.

As interações entre todos os fatores de virulência da *Salmonella* e a susceptibilidade dos hospedeiros determinam o quadro da doença.

## Pulorose

### Introdução

Inicialmente, a enfermidade causada por *Salmonella Pullorum* foi chamada de septicemia fatal dos pintainhos, depois diarreia branca e posteriormente diarreia branca bacilar, para distingui-la de outras enfermidades denotadas como diarreia branca. Essas denominações expressavam o quadro apresentado pela enfermidade. O termo pulorose foi usado por volta de 1930, para diferenciá-la do tifo aviário. Alguns anos depois, a enfermidade estava espalhada por todo os Estados Unidos e outros países. A mortalidade podia atingir até 100% do lote de aves. Já na primeira década do século XX, constatou-se a importância da transmissão vertical do seu agente. A seguir, também constatou-se a persistência da bactéria em aves sobreviventes. O desenvolvimento do teste de aglutinação em tubos (Jones, 1913), para detectar portadores deu início ao sucesso na prevenção da pulorose.

A pulorose apareceu em perus nos anos 30 (século XX), tendo sido devido ao contato de galinhas infectadas com perus e a incubação conjunta de ovos e pela criação mista destas aves. A enfermidade mostrou-se severa para perus, provocando enormes perdas. Com a melhoria do teste de aglutinação, o qual foi adaptado em 1932 para ser realizado em placa e com sangue total, foi possível aplicá-lo em larga escala. Desse modo, o teste tornou-se prático, podendo ser aplicado na granja e possibilitando o estabelecimento de um plano de controle da pulorose. Este teste é realizado até hoje com bastante sucesso, em granjas de aves reprodutoras. Quando realizado em 100% do plantel, no início da vida reprodutiva, atinge sucesso praticamente total.

### Distribuição e ocorrência

Os conhecimentos a respeito da pulorose começaram nos Estados Unidos da América. Posteriormente, relatos de sua ocorrência apareceram em muitos outros países, incluindo o Brasil. Considerando-se que os Estados Unidos exportam aves para diversos países, é possível supor que esta via tenha favorecido a disseminação de *Salmonella Pullorum*. Mesmo com todo o controle aplicado nos Estados Unidos, há relatos da manifestação da doença neste país. Recentemente, a pulorose foi diagnosticada em poedeiras de pequenos criatórios do estado de Iowa. No Brasil, a pulorose tem sido diagnosticada com certa frequência em aves de exploração comercial. Os números oficiais sempre foram inexpressivos. Contudo, entre os anos de 1980 a 2005, houve um acréscimo acentuado dos casos de pulorose, demonstrando que deve ter ocorrido alguma falha no sistema de controle adotado.

## Etiologia

Os microrganismos do gênero *Salmonella* são bacilos pequenos de 0,7 a 1,5 x 2,5µm, Gram-negativos, não esporulados, aeróbios ou anaeróbios facultativos, fermentam a glicose e outros açúcares e descarboxilam aminoácidos. Estas reações bioquímicas são importantes para a caracterização do gênero e diferenciação de alguns biotipos. Em sua grande maioria, são móveis com flagelos peritríquios, embora alguns sorotipos, como *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, sejam imóveis.

As seguintes substâncias são fermentadas com ou sem a produção de gás: arabinose, glicose, galactose, levulose, manitol, manose, ramnose e xilose. Não são fermentadas: adonitol, dextrina, dulcitol, eritrol, glicerol, inositol, inulina, lactose, rafinose, sacarose, salicina, sorbitol e amido. Os aminoácidos lisina e ornitina são descarboxilados. Poderá ocorrer variação de comportamento bioquímico entre os sorotipos. As salmonelas produzem H<sub>2</sub>S, mas os sorotipos *Pullorum* e *Gallinarum* o fazem lentamente.

As salmonelas crescem em caldo nutriente simples e nos meios seletivos (ágar) para enterobactérias. Entre estes meios, estão o caldo selenito e o caldo tetracionato e suas modificações. Para cultivo em placa, têm-se os meios em ágar: verde brilhante, MacConkey, SS, Sulfito de bismuto e outros. O crescimento de *S. Pullorum* é lento e as colônias são pequenas em relação às salmonelas paratíficas, apresentado diâmetro entre 1 a 3-4 mm. Meios baseados na pigmentação decorrente de produção de H<sub>2</sub>S devem ser evitados, pois a produção dessa substância por *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* é pequena.

A separação de *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* pode ser feita através de reações bioquímicas. Ambos os microrganismos fermentam arabinose, glicose, galactose, manitol, ramnose, manitol e xilose, produzindo ácido com ou sem gás. Não assimilam lactose, sacarose e salicina. A *S. Gallinarum* fermenta dulcitol enquanto a *S. Pullorum* não. Outra prova importante, seria a descarboxilação da ornitina por *S. Pullorum* e não por *S. Gallinarum*. Contudo, cepas de *S. Pullorum* que não descarboxilam a ornitina já foram isoladas de aves de postura comercial.

	<b>S. Gallinarum</b>	<b>S. Pullorum</b>
Dulcitol	fermenta (+)	não fermenta (-)
Ornitina (ODC)	não descarboxila (-)	descarboxila rapidamente (+)

A *Salmonella Pullorum* pertence ao grupo D, contendo os antígenos somáticos 12, 9 e 1 e não contém antígenos flagelares. O antígeno 12 apresenta variações (121, 122, 123). As cepas padrões contêm grande quantidade de antígeno 123 e pouca do 12<sub>2</sub> e são as melhores para o preparo de antígenos para o teste de PuloRose em placa.

## Patogenia e epidemiologia

### Hospedeiros naturais

Os hospedeiros naturais para *S. Pullorum* são as galinhas. No entanto, outras aves já foram citadas como sendo acometidas pela pulorose. Entre elas estão perus, pássaros como pardal e canário, faisão, codornas e papagaios. Entre as linhagens de galinhas, as leves são mais resistentes à enfermidade de que aves semi-pesadas e pesadas. Embora as aves pertencentes a linhagens leves não desenvolvam a enfermidade como as das linhagens semi-pesadas e pesadas, elas podem albergar a *S. Pullorum* durante meses. A susceptibilidade de palmípedes e pombos é variável, mas estes animais parecem resistentes a este patógeno. Pouco se sabe a respeito das linhagens resistentes na participação da epidemiologia da pulorose. Existem ainda raras descrições do isolamento de *Salmonella Pullorum* de chimpanzés, coelhos, cobaias, suínos, cachorros, bovinos e ratos selvagens.

### Idade de ocorrência

As aves são mais susceptíveis no início da vida. As manifestações clínicas são mais comuns nas duas a três primeiras semanas de vida. Neste período, a mortalidade pode ser alta. Não é comum observar a doença em aves adultas, mas pode ocorrer. Aves jovens, que sobrevivem à doença, podem se tornar portadoras. Aves susceptíveis que não morrem, mesmo apresentando a doença no início da vida, podem crescer dentro dos parâmetros zootécnicos esperados e produzir ovos contaminados.

### Transmissão

A transmissão pode ocorrer por várias vias. A mais importante é a transovariana. Aves portadoras de *S. Pullorum* disseminam a bactéria através de ovos durante meses. As aves podem se infectar pelo contato com aves infectadas, desde o convívio ainda durante o nascimento. O programa de desinfecção utilizado no incubatório não consegue deter a transmissão transovariana. O agente da pulorose pode ser eliminado pelas fezes de aves em avançado estado enfermo. A disseminação pode ocorrer por meio de alimentos, água e cama contaminados. As aves também podem se infectar com *S. Pullorum* por via aerógena, principalmente no incubatório. Outra maneira da bactéria se espalhar seria por meio do canibalismo de aves infectadas, ingestão de ovos contaminados e por meio de orifícios na pele. De forma mecânica, as pessoas que visitam ou que trabalham em granja, aves silvestres, animais de estimação e silvestres e moscas seriam importantes disseminadores desta *Salmonella*. A presença de aglutininas pode prevenir a mortalidade embrionária, favorecendo o estado de portador. O uso de antimicrobianos, nos primeiros dias de vida, pode mascarar o quadro da doença neste período e favorecer o estado de portador.

### Sinais clínicos

A pulorose é considerada uma doença de ani- mais jovens, acometendo as aves principalmente nos primeiros dias de vida, resultante de transmis- são transovariana. Mesmo quando a doença é sub- clínica, ela se origina de transmissão através dos ovos. Aves mortas ou moribundas podem ser observadas no incubatório ou logo após o nascimento. As aves apresentam sonolência, fraqueza, perda de apetite, retardo no crescimento, amontoamento, material branco ao redor da cloaca, conseqüência de diarréia branca a branco- amarelada e a morte viria a seguir. Em alguns casos, não se observa mortalidade antes dos 5-10 dias após o nascimento. O pico de mortalidade acontece durante a segunda e terceira semana de vida. Nestas circunstâncias, as aves mostram cansaço, amontoam-se ao redor da fonte de aquecimento, ficam com as penas arrepiadas, asas caídas e aspecto ruim. O acometimento dos pulmões torna difícil a respiração. As aves sobreviventes podem apresentar empenamento ruim e retardo de crescimento. Os animais que passaram pela enfermidade podem apresentar desenvolvimento abaixo dos padrões considerados normais. Mas, muitas das aves sobreviventes, de vida longa, conseguem recuperar o desenvolvimento esperado para os padrões da linhagem. Parte das aves que se recuperam serão portadoras e eliminarão a bactéria em seus ovos durante o período de postura. Cegueira, claudicação, devido inflamação das articulações tíbio-társica e humero-radial e sinovites são sintomas menos freqüentes que já foram observados.

Os sintomas em aves adultas nem sempre são evidentes, tornando difícil a suspeita desta doença. As aves acometidas podem apresentar postura abaixo da curva para a linhagem. Quando são poucas as aves acometidas torna-se difícil a suspeita clínica. Surto em aves adultas iniciam-se com queda no consumo de ração, penas arrepiadas, crista pálida e retraída. A infecção por *S. Pullorum* provoca queda de postura, diminuição na fertilidade e na eclodibilidade. No entanto, a percepção desses sinais estará na dependência da quantidade de aves afetadas, podendo passar despercebidos. Os animais poderão apresentar diarréia branco-amarelada a amarelo-esverdeada, depressão e desidratação.

A mortalidade e a morbidade são muito variá- veis. Dependem do número de animais acometidos e poderiam atingir 100% do lote. A doença é mais severa entre aves recém nascidas e é nesta fase que a mortalidade seria acentuada. A morbidade será sempre maior que a mortalidade. Aves que contraem a infecção após 5-7 dias de vida, apre- sentam sintomatologia clínica, mas podem se recu- perar posteriormente. Entre aves em crescimento e adultas o quadro seria menos abrangente e a taxa de mortalidade, embora baixa, seria indicativa de algum processo patológico.

### **Alterações anatomopatológicas**

**Aves jovens** – não se nota alterações nas aves nos casos superagudos. Nos casos agudos, nota-se aumento de volume e congestão de fígado, baço e rins. O fígado apresenta pontos brancos. O saco da gema, nem sempre está alterado. Quando está, nota-se falta de absorção, estando o seu conteúdo de consistência cremosa ou caseosa. Aves com dificuldade respiratória podem apresentar nódulos branco-amarelados no pulmão. Estes nódulos também podem ser encontrados no trato digestivo, no músculo cardíaco e no pâncreas. No coração, nota-se pontos brancos no início, podendo crescer de modo a alterar a forma do coração. O pericárdio pode estar espessado e conter exsudato amarelado ou fibrinoso. Nódulos similares podem aparecer na musculatura da moela e, ocasionalmente, na parede do duodeno e cecos. Os cecos poderão conter material caseoso no seu interior. Aves com problemas articulares contém fluido viscoso amarelado na



articulação. Outras alterações seriam congestão dos órgãos internos, a presença de líquido viscoso no peritônio, espessamento da parede intestinal e exsudato na câmara anterior do olho.

**Aves adultas** - as lesões podem ser mínimas, mas a ave apresenta sorologia positiva. Às vezes, tem-se apenas pequena regressão dos folículos ovarianos. As alterações mais comuns seriam alterações nos folículos ovarianos, folículos císticos, hemorrágicos, atrofiados, contorno irregular com material caseoso, hemorrágico ou necrosado no seu interior. Poderá ocorrer atrofia de ovário, presença de massas encapsuladas dentro da cavidade abdominal em consequência de postura intra-abdominal. Peritonite fibrinosa e peri-hepatite podem ocorrer sem o envolvimento do trato reprodutivo. Pericardite é um achado muito comum. Alterações no pericárdio, epicárdio e fluido pericárdico dependem da duração da doença. O pericárdio poderá estar levemente opaco e o fluido pericárdio aumentado e turvo. O progresso destas alterações leva ao espessamento do pericárdio, aumento do fluido, contendo material exsudativo. Nódulos branco-amarelados, similarmente ao que acontece com os pintainhos, surgirão no músculo cardíaco. Pontos esbranquiçados ou nódulos ocorrem nos testículos dos machos. Pequenos cistos contendo material caseoso, de cor âmbar, podem aparecer em gordura abdominal, moela, intestinos e pâncreas. Ocasionalmente, pulmões e sacos aéreos apresentam granulomas com conteúdo caseoso.

Aves com alterações cardíacas e ovarianas, não precisam, necessariamente, apresentar sinais de enfermidade, sendo detectadas somente em programas de monitoria sorológica seguidos de exame anatomopatológico. A pulorose em lotes de aves adultas pode ser confundida com o tifo aviário.

## Imunidade

A imunidade às salmoneloses aviárias é pouco conhecida. No caso da pulorose, isto deve-se em parte ao grande sucesso do programa de erradicação mediante a detecção e eliminação de portadores. Segundo a literatura, nas infecções sistêmicas por *Salmonella* a resposta imune humoral (altos títulos de IgG) não eliminaria a bactéria do organismo. A produção de IgA atuaria apenas na redução da colonização intestinal. Enquanto que somente a imunidade celular poderia eliminar a infecção sistêmica. Entretanto, no caso da pulorose a imunidade celular, representada pelas células T, é incapaz de destruir todas as bactérias do interior dos macrófagos. Isso se deve a expressão de genes presentes na SPI-2 da *S. Pullorum*, cujos produtos impedem a ação efetiva do sistema imune celular, fazendo com que o organismo da ave passe a alojar a bactéria, em pequenas quantidades, no interior dos macrófagos, caracterizando o estado de ave portadora. Em períodos de estresse, como o início de postura, foi demonstrado que a alta produção de corticosteróides pelo organismo da ave inibe a atividade do sistema imune. Tal situação seria a principal responsável pela transmissão vertical, pois permitiria que a *S. Pullorum* se multiplicasse em altas taxas, infectando o trato reprodutivo e consequentemente o ovo.

Os altos títulos de IgG gerados durante a infecção por *S. Pullorum* são transferidos para o ovo. A imunidade passiva (IgG materno) previne a multiplicação da bactéria no interior do ovo, permitindo o desenvolvimento embrionário e consequentemente a eclosão de pintainhos infectados.

## Diagnóstico

O diagnóstico deve ser feito com base na associação da anamnese, dos achados clínicos, anatomo-patológicos e exames laboratoriais.

A principal suspeita do quadro de pulorose seri- am pintainhos doentes nas segunda e terceira primeiras semanas de vida. O lote apresentaria, desde à chegada na granja, animais encorujados, arre- piados, com as asas caídas, procurando amontoa- rem-se próximos à fonte de calor, diarreia branca a branco-amarelada, morbidade e mortalidade. É possível que haja animais mortos na caixa de trans- porte. À necropsia se pode notar pequenos pontos brancos no coração e no fígado. Em pintainhos, que resistem à morte ou naqueles que sobreviveriam à infecção, as alterações se tornarão mais evidentes, com a visualização de nódulos no coração e em outros locais como intestinos e pulmões, além da possibilidade do aparecimento de quadros de artrite.

Na ave adulta, as alterações poderão ser visualizadas no ovário e também no fígado, baço e coração.

Aves reagentes em testes sorológicos, (por exemplo, ELISA e soroaglutinação rápida em placa com antígeno colorido para pulorose), devem ser submetidas a exame bacteriológico.

O material para análise bacteriológica deve ser colhido do baço, fígado, coração, ovário, do conteú- do intestinal e saco da gema. É importante o exa- me de baço, fígado e ovário. A amostra (suabe ou fragmentos) pode ser cultivada diretamente em pla- ca contendo ágar, ou ser inoculada em caldo. Os mais comuns são os caldos Rapaport-Vassiliadis, selenito e tetracionato e suas modificações, acrescidos de novobiocina. Exceto amostra de material fecal, as demais podem ser inoculadas em caldo nutriente sem substâncias seletivas. Após incubação a 37 a 42°C por 24 horas, o caldo será plaqueado. Os meios mais comuns para plaquea- mento são ágar verde brilhante, ágar de Mac Conkey, SS etc. Meios baseados na pigmentação decorrente de produção de H<sub>2</sub>S devem ser evita- dos, pois a produção dessa substância pela *S. Pullorum* é pequena. A placa será incubada a 37 a 42°C por 24 horas. Com muita freqüência as colônias são pequenas. A seguir procede-se a testes bioquímicos em meios presuntivos como TSI (tríplice açúcar e ferro) e LIA (ágar lisina ferro), ou bateria de testes bioquímicos mais completos como o teste API 50 CH ou similar. Os testes bioquímicos de roti- na, geralmente são executados a 37°C por 24 ho- ras. A confirmação do gênero é assegurada por tes- tes complementares com soros polivalentes anti- antígenos somáticos (O) e anti-antígenos flagelares (H). A definição dos sorotipos e biotipos é obtida com a realização de provas sorológicas com soros anti-antígenos O e H individuais e provas bioquímicas complementares.

Como a *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* são antigenicamente indistinguíveis, a diferenciação é feita por meio de testes bioquímicos como o teste descarboxilação da ornitina e fermentação do ducitol. Devido a detecção de cepas de *S. Pullorum* com comportamento atípico (não descarboxilam a ornitina), técnicas moleculares com base no estudo dos genes *rbfS* e *fliC* têm sido sugeridas para dife- renciação de *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*.

## Sorologia

O teste sorológico mais utilizado é a soroaglu- tinação rápida em placa, realizada com antígeno colorido e sangue total. Este teste é bastan- te prático e pode ser realizado no galpão. Também po- dem ser adotados os testes de soroaglutinação len- ta em tubos e de microaglutinação. O ensaio

imunoenzimático (ELISA) detecta portadores de res- posta sorológica ao agente da pulorose e tifo aviária- rio. Estes testes podem apresentar respostas falso- positivas ou respostas positivas a outras salmonelas, especialmente às do grupo D, que são do mesmo grupo de *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*. A resposta sorológica aos agentes da pulorose e do tifo aviário é indistinguível.

## Diagnóstico diferencial

A ave, desde o nascimento até a terceira semana de vida, está sujeita a enfermidades como encefalomielite aviária, aspergilose, colibacilose e outras salmoneloses. A preocupação com as diver- sas doenças não é tanto por semelhança na sintomatologia, mas deve-se ao período de ocor- rência. Uma análise mais minuciosa ajudaria a nortear as investigações. A definição do diagnósti- co obtém-se com os exames laboratoriais, compre- endendo o isolamento e identificação da *Salmonella*.

Em aves adultas, o quadro pode ser confundido com a doença de Marek e outras enfermidades septicêmicas como tifo aviário, paratifo aviário, pasteurelose e colibacilose. O diagnóstico definiti- vo deve ser obtido com o isolamento e identifica- ção do agente. A diferenciação do diagnóstico en- tre as salmoneloses, identificando-se o sorotipo, é fundamental para a elaboração do programa de controle e combate.

## Tratamento

O tratamento pode reduzir a mortalidade, mas não elimina o portador. Sulfonamidas e nitrofuranos são drogas que atuam sobre *Salmonella*. As sulfonamidas podem reduzir a ingestão de água e alimento e prejudicar o desenvolvimento da ave e a produção de ovos.

As sulfas incluem sulfadiazina, sulfamerazina, sulfatiazol, sulfamerazina e sulfaquinoxalina. A utilização de sulfas nos primeiros 5 a 10 dias de vida reduz a mortalidade. Entretanto, a mortalidade volta a ocorrer após a retirada do medicamento.

Nitrofuranos, assim como as sulfas, reduzem a mortalidade, mas não impedem a sobrevivência de aves infectadas. Estes antimicrobianos podem interferir com a resposta sorológica e, portanto, são contra-indicados por, pelo menos, seis semanas antes do teste de pulorose.

Vários antibióticos como cloranfenicol, clorte- traciclina e apramicina são indicados para reduzir a mortalidade. A pulverização de ovos, antes da in- cubação, com sulfato de neomicina já foi sugerida para reduzir os efeitos da Pulorose em aves recém- nascidas.

O cloranfenicol e os atimicrobianos da classe dos nitrofuranos foram proibidos em 1998, pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, como aditivos alimentares em rações animais.

Resistência para todas as drogas mencionadas já foi observada. Assim, a recomendação de dro- gas antimicrobianas deveria ser precedida de antibiograma.

## Prevenção e controle

Além das medidas gerais de biosseguridade direcionadas a todas as etapas das operações

avícolas, para prevenir a pulorose, é preciso atenção com as granjas reprodutoras e incubatórios. Nestes locais, limpeza, higiene, desinfecção, controle de moscas, roedores, pássaros, destino adequado de resíduos e dejetos, são fundamentais. O exame das aves, no início do período de postura, por meio do “teste de pulorose”, tem se mostrado instrumento importantíssimo de prevenção da transmissão vertical e tem sido considerado o principal responsável pelo sucesso no controle da pulorose. Este teste deveria ser recomendado em 100% das aves reprodutoras.

## Tifo aviário

### Introdução

A primeira descrição do tifo aviário data de 1888. Na ocasião, a enfermidade acometeu 400 aves, matando 200 em dois meses e foi confundida com a cólera aviária. Klein, em 1889, ao isolar o agente da doença, demonstrou tratar-se de outro microrganismo. Durante a necropsia, foi observada uma enterite de caráter infeccioso, com inflamação da mucosa e serosa intestinal e diarreia amarelo esverdeada. O baço e o fígado estavam aumentados. Klein isolou os bacilos do sangue de aves doentes. Eles eram Gram-negativos, imóveis e facilmente cultiváveis. As aves inoculadas por via subcutânea, adoeciam em cinco a seis dias e morriam dois a três dias depois. A enfermidade foi observada em vários países da Europa, nos Estados Unidos da América e África. A denominação de tifo aviário deveu-se à sua similaridade com a febre tifóide humana e para diferenciá-la da cólera aviária. No Brasil, os primeiros registros do tifo aviário datam de 1919 em Minas Gerais e de 1939 em São Paulo.

### Distribuição e ocorrência

É uma enfermidade de distribuição mundial, que tem estado sob controle em países da Europa e da América do Norte. O tifo aviário tem sido descrito em países cuja avicultura industrial está em desenvolvimento e naqueles onde encontram-se aves criadas livremente. Mesmo assim, esta doença tem ocorrido em países da Europa como Alemanha e Dinamarca. Na América do Sul, ocorre em vários países, entre os quais Argentina e Brasil. Neste último, tem ocorrido em alguns períodos com maior intensidade, como aconteceu nos anos 80 e início dos anos 90 do século passado. O tifo aviário é mais comum em granjas de postura comercial, embora possa ocorrer entre aves reprodutoras (para corte e postura comercial). Os mais recentes relatos de isolamento de *S. Gallinarum* são oriundos de criações industriais de frango de corte de países asiáticos, como Coreia e Nepal.

### Etiologia

*Salmonella Gallinarum* é o agente do tifo aviário. Trata-se de uma *Salmonella* imóvel, com características muito semelhantes à *S. Pullorum*. Ambas são indistinguíveis na sorologia básica para identificação do sorotipo. Contudo, bioquimicamente, apresentam algumas diferenças. A *S. Gallinarum* fermenta dulcitol enquanto a *S. Pullorum* não. A *S. Pullorum* descarboxila a ornitina e a *S. Gallinarum* não. Entretanto, cepas de *S. Pullorum* que não descarboxilam a ornitina já foram isoladas.

A configuração antigênica de *S. Gallinarum* é semelhante à de *S. Pullorum*, apresentando os antígenos somáticos 1, 9 e 12. Neste caso, não se conhece variação de antígenos como acontece com o antígeno O12 de *S. Pullorum*.

É passível de confusão o diagnóstico bacterio- lógico do tifo aviário e da pulorose, em virtude da similaridade no comportamento bioquímico e na estrutura antigênica destas duas salmonelas.

## Patogenia e epidemiologia

### Hospedeiros naturais

As galinhas são os hospedeiros naturais do agente do tifo aviário. Mas outros galináceos também são considerados susceptíveis, bem como outras espécies de aves. Palmípedes e pombos parecem ser resistentes. As linhagens leves são consideradas mais resistentes enquanto as semi-pesadas e as pesadas são consideradas susceptíveis à doença. Aves de linhagens leves podem desenvolver a enfermidade clínica. Na ausência da enfermidade, essas aves podem albergar a *Salmonella Gallinarum* dentro do organismo e, em situações de canibalismo, disseminar a bactéria.

Embora seja mais comumente descrito em aves adultas, o tifo aviário pode acometer aves em qualquer idade da vida. Quando acomete aves jovens, a doença pode ser confundida com a pulorose.

*Salmonella Gallinarum*, natural ou experimentalmente, já foi isolada de outros animais como ratos, chimpanzês, raposas, coelhos, cobaias e seres humanos.

### Transmissão

Segundo a literatura especializada, a transmissão de *S. Gallinarum* pode ocorrer por diversas vias, incluindo a via vertical, a qual parece-nos pouco provável. A bactéria pode se espalhar por todo o corpo do animal, durante a fase da doença, principalmente, na fase final, quando a ave está indo a óbito. O contato entre ave doente e ave sadia, canibalismo e presença de aves mortas na granja são fatores importantes na transmissão do tifo aviário. Falta de higiene, falta de limpeza, presença de moscas, pássaros, urubus, roedores, entre outros, podem contribuir para disseminar o agente da doença em propriedades avícolas. Veículos que transportam aves, esterco e ovos, também dispõem como meios eficientes de disseminação da bactéria, especialmente, aqueles que entram em várias granjas sem lavagem e desinfecção prévia. Pessoal que trabalha em granjas ou que transita em propriedades avícolas podem atuar com elementos de disseminação do agente do tifo aviário.

### Sinais clínicos

As manifestações clínicas, geralmente, são observadas em aves adultas. As aves ficam quietas, prostradas, deitam-se, param de se alimentar, apresentam diarreia amarelo-esverdeada a esverdeada, observa-se queda de postura e em poucos dias podem morrer. O curso da doença é de cinco a sete dias, mas pode ser mais longo. A morbidade e a mortalidade podem ser altas. A mortalidade varia de 10 a 80% (ou até mais). Em lotes acometidos pelo tifo aviário, a

mortalidade não ocorre de uma só vez. No início, algumas aves ficam doentes e entre essas, algumas morrem. A seguir, este quadro se repete várias vezes, de modo que grande parte do lote pode ser acometido e a mortalidade final torna-se significativa.

Quando a enfermidade acomete aves jovens, se confunde com a pulorose, sendo diferenciado somente após o isolamento e identificação do agente.

### **Alterações anatomopatológicas**

O tifo aviário é uma enfermidade com características de septicemia e toxemia. Observa-se congestão dos órgãos internos e anemia provocada pela destruição de hemácias pelo sistema retículo-endotelial. Nos quadros agudos, as alterações não são muito proeminentes. O fígado e o baço aumentam de tamanho, três a quatro vezes. O fígado torna-se friável, esverdeado, amarelo-esverdeado a bronzeado e cheio de pontos necróticos (esbranquiçados) e hemorrágicos. A vesícula biliar estará distendida em função do aumento de volume de bile. Os pontos necróticos aparecem no baço e no coração. No baço, nota-se ainda pontos de hemorragia. Nos casos em que o curso da enfermidade é mais longo pode-se observar hidropericardio e também a presença de processos inflamatórios formando nódulos esbranquiçados, semelhantes aos descritos na pulorose, em coração, baço, pulmões, rins, moela, pâncreas, duodeno e cecos. O processo inflamatório no coração poderá atingir o pericárdio que se tornará opaco, assim como o líquido do saco pericárdico. Os rins poderão estar amarelados e o ovário, atrofiado ou com os folículos ovarianos hemorrágicos, murchos, congestos, císticos, disformes, contendo material caseoso ou hemorrágico no seu interior, assim como ocorre na pulorose.

As aves, de linhagens leves, que são consideradas resistentes ao tifo aviário, podem apresentar a enfermidade clínica. De um modo geral, poucas seriam as aves, em um lote, que adoeceriam e chegariam ao óbito. Contudo, aves infectadas experimentalmente, desenvolveram lesões, com queda de postura, sem, no entanto, apresentar mortalidade.

### **Imunidade**

No tifo aviário, a presença de aglutininas não significa proteção. Embora os anticorpos devam participar do processo de eliminação de *S. Gallinarum* pela ave, o sucesso dependerá, principalmente, da imunidade celular. Este controle tem sido atribuído à ação conjunta entre o sistema retículo-endotelial (SRE) e as células T. A *S. Gallinarum*, por não possuir flagelos, induz uma pobre resposta imune intestinal inicial (imunidade inata), com pouca produção de interleucinas pró-inflamatórias; o que facilitaria a infecção sistêmica. A expressão de genes presentes na SPI-2 e dos genes *spv*, presentes na *S. Gallinarum*, também ajudaria a inibir a ação do sistema imune, potencializando a infecção.

De acordo com a literatura, durante a fase aguda do tifo aviário, ocorre acelerada multiplicação de *S. Gallinarum* no interior dos fagócitos. O que resulta em lise celular com liberação da bactéria para o meio extracelular, produzindo um tipo de reação antígeno-anticorpo (reação anafilática de hipersensibilidade), provocando sintomatologia e morte. Este raciocínio foi usado para explicar o quadro de anemia das aves no tifo aviário. A destruição da bactéria pela lise do LPS, culminaria no seqüestro dos fragmentos pelas hemácias e, estas, seriam destruídas pelo SRE (macrófagos). Em um estudo com aves jovens experimentalmente inoculadas com *S. Gallinarum* foi descrita

uma significativa redução dos leucócitos circulantes no quinto dia após a infecção. Esse achado estava correlacionado com o pico de mortalidade das aves. Assim, pressupõe-se que o efeito citopático do LPS bacteriano também seria responsável pela lise dos leucócitos.

## Diagnóstico

O diagnóstico do tifo aviário é feito com base nos achados clínico, anátomo-patológico e exames laboratoriais. Provas sorológicas como o teste de pulorose e soro-aglutinação lenta detectam anticorpos anti-S. Gallinarum. Os resultados são passíveis de confusão com aves infectadas por S. Pullorum ou por outra salmonela que possua antígenos em comum, como aquelas do grupo D. Um teste imunoenzimático (ELISA) pode apresentar resultados mais específicos, mas sem diferenciar a resposta entre aves infectadas por S. Gallinarum e S. Pullorum. Entretanto, para a definição do diagnóstico deve-se realizar o isolamento e identificação da *Salmonella*. O procedimento bacteriológico é o mesmo adotado para S. Pullorum. O comportamento destas duas salmonelas é muito similar. Ambas produzem colônias pequenas em meios seletivos em ágar (S. Pullorum produz colônias menores ainda que S. Gallinarum) e produzem pouco ou quase nada de H<sub>2</sub>S em ágar TSI. Os órgãos de eleição para pesquisa do agente, também são os mesmos inspecionados para o agente da pulorose, destacando-se baço, fígado, ovário e coração.

## Diagnóstico diferencial

O diagnóstico diferencial deve ser feito com relação às outras salmoneloses. Mesmo considerando-se que o quadro seja o tifo aviário, a definição só poderá ser confirmada com o isolamento e identificação do agente. Enfermidades infecciosas como colibacilose, pasteurelose, micoplasmoses e doença de Marek, podem ser confundidas com o tifo aviário. Esta confusão acontece com base na época de ocorrência e nas lesões sistêmicas.

## Tratamento

O tratamento do tifo aviário segue as mesmas recomendações do tratamento da pulorose. Em vista da enfermidade ser mais comum em aves adultas e a mortalidade poder persistir por períodos prolongados, é preciso tomar cuidado para não intoxicar as aves com a administração prolongada de antimicrobianos. Mesmo na presença de um surto de tifo aviário, o maior aliado do tratamento é a adoção de medidas de limpeza e higiene eficazes e a eliminação rápida e correta de aves mortas.

## Prevenção e controle

O melhor programa de prevenção baseia-se na limpeza, higiene e desinfecção da granja. Tais como: cuidados com dejetos, evitar água parada, destino correto e rápido de animais mortos, cuidado com veículos que transportam aves, ração e suas matérias primas, fezes (cama) e ovos, entre outros. Evitar pássaros, roedores, mosquitos, outras espécies de aves, outros animais. Evitar aves de diferentes idades.

Segundo a literatura, o tifo aviário pode ser transmitido verticalmente. Neste caso, as normas adotadas para o controle da pulorose seriam úteis para evitar esta via.

Além das medidas de ordem geral, que são imprescindíveis para o controle do tifo aviário e da pulorose, estão disponíveis vacinas vivas e inativadas (bacterinas) contra o tifo aviário. Dentre as vacinas vivas, a mais conhecida é a 9R. Merece ser lembrado que o programa de vacinação não substitui as medidas gerais de controle e que, em alguns casos, a vacinação utilizando a cepa 9R desencadeou o quadro da doença.

## Paratifo aviário

### Introdução

O paratifo aviário é uma enfermidade reconhecida em aves desde o final do século XIX, quando foi observado em pombos. A enfermidade já foi descrita em diversas espécies de aves. A epidemiologia complexa dessas salmoneloses, englobando várias espécies animais e os seres humanos, torna difícil o seu controle e favorece a infecção de seres humanos (toxinfecção alimentar). O sistema intensivo de criação adotado em avicultura industrial favorece a introdução, instalação, permanência e disseminação dessas salmonelas. Desse modo, a infecção paratífica aviária tornou-se um problema para os avicultores, embora muitas vezes tenha passado despercebida. A situação se agravou com o surgimento de cepas de alguns sorotipos de *Salmonella* que são patogênicas para as aves e muito patogênicas para os seres humanos. Nas décadas de 80 e 90 (século XX), surtos de toxinfecção alimentar em seres humanos por *S. Enteritidis* foram, em sua grande maioria, relacionados a produtos alimentícios de origem avícola. Tal situação reforçou ainda mais a necessidade de se buscar alternativas para evitar a presença dessas salmonelas em aves de exploração comercial.

De acordo com o Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos ou Center for Disease Control and Prevention (CDC), em 2004 nos EUA, foram isolados 35661 salmonelas de seres humanos, desse total 19,2% corresponderam à *S. Typhimurium* e 14,1% à *S. Enteritidis*, os dois sorotipos mais isolados. Os dados do CDC demonstram que ao longo de dez anos a frequência de isolamento de *S. Enteritidis* em pessoas caiu sensivelmente, passando de 9866 casos (26,3% do total) em 1994 para 5012 (14,1%) em 2004. Na Inglaterra e no País de Gales, segundo o Communicable Disease Surveillance Centre (CDSC), a prevalência de *S. Enteritidis* em surtos alimentares causados por *Salmonella* reduziu de 64% em 1992 para 33% em 2002. Segundo o CDSC, a redução no isolamento de *S. Enteritidis* está ligada a programas de controle do paratifo aviário adotados pelos dois países. Nos EUA, as reduções do isolamento de *S. Enteritidis*, possivelmente se deram pelo mesmo motivo.

No Brasil, dos sorovares isolados de seres humanos de 1996 a 2003 no Estado de São Paulo, a *Salmonella Enteritidis* correspondeu a 62% em 1996 e a 67,2% em 2003. Nesse mesmo período, a *Salmonella Typhimurium* representou 3% em 1996 e 6,4% em 2003. Esses dados demonstram que ao longo de oito anos a porcentagem de isolamento de *S. Enteritidis*, em seres humanos, não diminuiu. Sabendo-se que os alimentos de origem avícola são as principais fontes de *S. Enteritidis* para os seres humanos, sugere-se que mais esforços devam ser direcionados para controle do paratifo aviário nos plantéis avícolas nacionais.

### Distribuição e ocorrência



As salmonelas paratíficas são de ocorrência mundial. Estão presentes, praticamente, em todos os países onde haja avicultura industrial.

## Etiologia

Com exceção de *S. Pullorum*, *S. Gallinarum* e de *Salmonella enterica* subespécie *arizonae*, qualquer outra salmonela poderá estar envolvida na etiologia do paratifo aviário. No entanto, as descrições de literatura apontam por volta de cem delas como as mais comuns. Dentre estas, *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* são os mais freqüentes. Outros como *S. Agona*, *S. Hadar*, *S. Heidelberg*, *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. SaintPaul*, também foram descritos.

As salmonelas paratíficas apresentam o comportamento bioquímico do gênero *Salmonella*. Às vezes, encontram-se algumas cepas com características bioquímicas atípicas. Exemplificando, *S. Anatum* que não descarboxila a lisina (LDC-) e *S. Cerro* com produção mínima ou sem produção de  $H_2S$ . As cepas crescem bem nos meios de cultura usuais, de forma mais rápida que os biotipos *Pullorum* e *Gallinarum*, formando colônias maiores em ágar e abundância de  $H_2S$ . Também diferem desses dois biotipos porque possuem flagelos (são móveis).

Obtém-se a definição dos sorotipos mediante a determinação dos antígenos somáticos e flagelares e provas bioquímicas complementares.

## Patogenia e epidemiologia

### Hospedeiros naturais

São salmonelas que podem infectar várias espécies animais. Os perus e as galinhas são muito susceptíveis. Entre outras espécies de aves, as salmonelas paratíficas já foram isoladas de pássaros, papagaios, pombos e palmípedes.

### Transmissão

A transmissão ocorre de forma horizontal e vertical. A transmissão vertical deve-se à contaminação do ovo no trato reprodutivo, do ovário ao oviduto e, ao passar pela cloaca, contaminando-se com fezes.

A transmissão horizontal ocorre das mais diversas formas. Ainda no incubatório, aves infectam-se por contato com aves infectadas. A bactéria penetra na ave pela cavidade oral ou até mesmo pela cloaca, indo para o trato digestivo. Outras formas de infecção seriam por inalação ou através da conjuntiva ocular. Ração e seus componentes, especialmente àqueles de origem animal, são introdutores de salmonelas em propriedades avícolas. Entretanto, os de origem vegetal também podem estar contaminados. A água pode funcionar com um meio de disseminação. Veículos, seres humanos, pássaros, outros animais, moscas e roedores, favorecem a introdução e a disseminação de salmonelas paratíficas em propriedades avícolas. Deve-se ressaltar que *S. Enteritidis* e *S. SaintPaul* foram isoladas de órgãos, respectivamente, de pomba do bando (*Zenaida auriculata*) e de siriema (*Cariama cristata*) capturadas em propriedades avícolas.

### Sinais clínicos

O paratifo aviário é mais comum em animais jovens, embora também ocorra em aves adultas. A contaminação dos ovos pode provocar mortalidade embrionária e morte rápida em aves recém nascidas, sem a manifestação de outros sinais. Os sinais clínicos são raramente observados em aves com mais de 14 dias de idade. No entanto, poderá ocorrer mortalidade e haverá retardo no crescimento. Quando o quadro é severo, poderá ser confundido com a pulorose ou com outra enfermidade bacteriana causadora de septicemia aguda. Os pintainhos ficam tristes, arrepiados, asas caídas, tendem a amontoarem-se e apresentam diarreia. A morbidade e a mortalidade dependerão da intensidade da infecção, do sorotipo e da cepa do sorotipo. Quanto mais invasiva a salmonela, mais agressiva ela será e mais severo será o quadro da doença. Cegueira e claudicação poderão ser observadas. Aves adultas poderão apresentar inapetência, queda de postura e diarreia. Mortalidade não é comum, mas também pode ser observada. O paratifo aviário pode ocorrer em aves adultas após situações de estresse como, por exemplo, a muda forçada.

### **Alterações anatomopatológicas**

Quando o quadro da enfermidade é severo, as aves desenvolvem septicemia aguda e a morte vem rapidamente. Nestas condições, não se observam alterações macroscópicas. Quando o curso da doença se prolonga, observa-se enterite severa acompanhada de lesões necróticas focais na mucosa do intestino delgado. Os cecos apresentarão inicialmente, diminuição de volume, com espessamento de parede e conteúdo líquido que se tornará caseoso de coloração branca a branco-amarelada, podendo conter partes avermelhadas ou enegrecidas. Baço e fígado estarão congestos, edemaciados com hemorragias e pontos necróticos. Os rins estarão congestos e aumentados. Hepatite e pericardite fibrino-purulentas podem ser observadas. Os pintainhos mostrarão gema não reabsorvida, coagulada, necrótica e caseosa. Outras alterações, menos comuns, seriam panofalmitis, artrite purulenta, aerosaculite e onfalite. Aves adultas poderão apresentar atrofia de ovário, folículos alterados (murchos, hemorrágicos e caseosos), morbidade e mortalidade.

### **Imunidade**

As aves recém nascidas são muito susceptíveis à infecção por salmonelas paratíficas. A instalação gradual de uma microbiota intestinal torna a ave menos susceptível a essas salmonelas. O desenvolvimento da imunidade, através da maturação do sistema imune, contribui para tornar as aves mais resistentes, impedindo as manifestações sistêmicas do paratifo aviário.

Quando as salmonelas paratíficas infectam as aves adultas, geralmente encontram um sistema imune responsivo. A liberação de interleucinas pró-inflamatórias e, conseqüente produção de imunoglobulina A (IgA), atração heterófilos, macrófagos e linfócitos para mucosa, são eficientes na prevenção da infecção sistêmica e na redução da bactéria no intestino.

Em aves jovens, o sistema imune ainda não é capaz de eliminar as salmonelas paratíficas do trato intestinal, permitindo, muitas vezes, a infecção sistêmica. A ave fica doente, manifesta os sintomas clínicos, quando não morre se restabelece, podendo se tornar portadora e eliminar a *Salmonella* (por exemplo, *S. Enteritidis*). Uma vez albergando a bactéria, a ave pode transmiti-la, tanto horizontalmente como verticalmente em períodos de estresse.

### **Diagnóstico**

O diagnóstico da enfermidade paratífica deve ser realizado com base no isolamento e identificação do agente.

Os órgãos de eleição para pesquisa das salmonelas são os mesmos mencionados para os agentes do tifo aviário e pulorose. Baço, fígado, coração, ovário, gema e conteúdo cecal, seriam os mais importantes. A gema de pintainhos recém nascidos, o conteúdo cecal e o material da cloaca, devem ser examinados separadamente dos demais materiais como o baço e o fígado. Amostras como as provenientes do conteúdo cecal, fezes ou gema ligada ao intestino contêm outros microrganismos que poderiam competir com as salmonelas durante o seu cultivo. Além desses materiais, pode-se pesquisar a *Salmonella* na medula óssea, pulmão e locais lesionados como a articulação (artrite).

A metodologia de isolamento segue as recomendações fornecidas para os agentes das salmoneloses descritas anteriormente (Waltman, 1998; Paiva *et al.*, 2006). Com frequência, a produção de H<sub>2</sub>S é mais intensa e as salmonelas são móveis. Por isso, meios baseados na pigmentação decorrente da produção de H<sub>2</sub>S, como XLT4, são indicados para a pesquisa das salmonelas paratíficas. A pesquisa de *Salmonella* em materiais que poderiam estar veiculando a bactéria, como as farinhas de origem animal, ração e amostras de fezes armazenadas (não frescas), inicia-se com uma etapa anterior ao cultivo em caldo de enriquecimento. As amostras seriam semeadas em caldo de pré-enriquecimento (proporção de 1:10; uma parte do espécime em 10 partes de caldo PE). Após a incubação por 24 horas a 37 a 43°C, inoculadas nos caldos de enriquecimento (1:10). Os caldos de pré-enriquecimento seriam água peptonada tamponada (APT), solução de Ringer 1/4, caldo lactosado, entre outras.

Provas sorológicas podem ser utilizadas para a identificação de aves que têm ou tiveram contato com salmonelas paratíficas. Provas de aglutinação, microaglutinação e ensaios imunoenzimáticos são capazes de detectar anticorpos vários meses após a infecção. Quando essas provas apresentam reações positivas, elas devem ser comprovadas com o isolamento e identificação da *Salmonella*. Essas provas, embora realizadas com antígenos específicos, podem apresentar reação cruzada para outros sorotipos. Os testes mais comuns são realizados com antígenos de *S. Enteritidis* ou de *S. Typhimurium*.

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) permite identificar salmonelas paratíficas, entretanto devido aos muitos sorovares existentes e às dificuldades em se padronizar a reação para todos eles, essa técnica ainda não substituiu os exames convencionais nas rotinas bacteriológicas.

## Diagnóstico diferencial

Entre as enfermidades que podem ser confundidas com o paratifo aviário, estão as outras salmoneloses, pulorose e tifo aviário e enfermidades bacterianas septicêmicas.

## Tratamento

O tratamento pode ser realizado com a aplicação de drogas antibacterianas que atuam sobre *Salmonella*. O tratamento pode reduzir as perdas por mortalidade, mas não impede a ave de permanecer portadora. Os portadores poderão eliminar *Salmonella* nas fezes por período mais

prolongado que aves sem tratamento.

## Prevenção e controle

A prevenção ou controle da infecção paratífica deve contemplar medidas que possam evitar a transmissão vertical e a horizontal. As medidas gerais de prevenção e controle são imprescindíveis. Todavia, vale destacar alguns aspectos. Os pintainhos devem ser livres de *Salmonella*. Neste caso, as medidas de controle devem ser direcionadas às aves reprodutoras, como monitoramento sorológico e bacteriológico, eliminação de aves portadoras e tratamento dos ovos, ainda no galpão, seguidas de ações no incubatório. A incubação de ovos sujos e trincados favorece a transmissão vertical. As atitudes adotadas no incubatório são ineficazes contra a bactéria presente no interior do ovo. Quando a *Salmonella* chega na granja, em pintainhos recém-nascidos, a disseminação é muito rápida e de difícil controle. Portanto, a aquisição de pintainhos de um dia livre de *Salmonella* é primordial para o sucesso do programa de prevenção. Outra fonte introdutória, muito importante, seria a ração. As matérias primas de origem animal estão freqüentemente contaminadas e aquelas de origem vegetal também podem estar. Seria importante que as matérias primas de origem animal fossem adquiridas de fornecedores que se preocupassem com a qualidade microbiológica do produto final. Entre os tratamentos da ração e seus componentes, os mais conhecidos são a peletização e a adição de ácidos orgânicos. A peletização é um processo eficiente, mas não impede a ração de ser recontaminada. A adição de ácidos orgânicos tem se mostrado eficiente e o produto permanece na ração até o momento de sua ingestão. Existem vários compostos comerciais. A mistura de ácido fórmico e ácido propiônico tem apresentado bons resultados. A adição à ração pronta é melhor que nas matérias primas. O método de exclusão competitiva, na forma de oferecimento a pintainhos recém-nascidos e após tratamento com antimicrobianos, auxilia a prevenir a colonização do trato entérico das aves por *Salmonella*. Medidas complementares devem incluir o controle de roedores, evitar trânsito de pessoal e veículos, evitar a criação de aves de diferentes idades, evitar outras espécies de aves, incluindo pássaros, evitar animais silvestres, controlar moscas, adotar programa de higiene e desinfecção efetivos - lembrar que a ação de desinfetantes pode ser prejudicada pela presença de matéria orgânica - e não reutilizar cama sem tratamento. O emprego de vacinas, probióticos e bacteriófagos são outras alternativas sugeridas para a prevenção da infecção de aves por salmonelas paratíficas.

Merece ressaltar o fato dos roedores serem acometidos por salmonelas paratíficas, como *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, podendo disseminá-las por períodos prolongados, passando-as para os seus filhos e para o ambiente. Cumpre ressaltar a participação de veículos que transportam aves, fezes e ovos, bem como seus ocupantes, na disseminação de salmonelas. Veículos, após serem esvaziados, poderão conter aves mortas, restos de fezes (o transporte exacerba a eliminação da bactéria nas fezes) e ovos quebrados. Esses veículos deveriam ser submetidos a um processo de limpeza, lavagem, higiene e desinfecção, cada vez que fossem desocupados e ao entrarem em granjas.

## Arizonose

Arizonose é uma doença septicêmica aguda, primariamente de peruzinhos, causada por *Salmonella enterica* subespécie *arizonae*. A arizonose era classificada à parte, como sendo

enfermidade provocada por um gênero bacteriano diferente do gênero *Salmonella*. A enfermidade é indistinguível clinicamente das salmoneloses, provoca queda de postura e queda de eclosão. Bioquímica e sorologicamente os cerca de 300 sorotipos conhecidos são diferenciáveis das demais salmonelas. Estas salmonelas estão amplamente distribuídas na natureza e podem ser encontradas em répteis e mamíferos, incluindo os seres humanos. São bactérias que fermentam a lactose e utilizam o malonato. Nos meios de cultivos usuais, podem ser confundidas com coliformes fermentadores da lactose.

A epidemiologia da arizonose é muito semelhante à do paratifo aviário. As aves eliminam a bactéria nas fezes ou por via transovariana. Entre os animais que participam do ciclo epidemiológico, encontram-se os roedores e répteis.

Alta mortalidade em peruzinhos, sinais neurológicos e cegueira, são sinais sugestivos da enfermidade. Estes sinais e as lesões são, também, encontrados no Paratifo Aviário. Estas salmonelas podem ser recuperadas do baço, fígado, sangue, saco da gema não-reabsorvido, intestino, pulmão, cérebro, rins e olhos.

O isolamento e identificação do agente seguem os mesmos passos utilizados para as demais salmonelas. Contudo, a maioria das salmonelas da subespécie arizonae, ao contrário das demais salmonelas, fermentam a lactose entre 7 a 10 dias e são malonato positivas.

## Programa nacional de sanidade avícola

Devido à importância da produção avícola no contexto nacional e internacional e à necessidade de normatização das ações de acompanhamento sanitário, relacionadas ao setor avícola, em 1994 o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento criou o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA). Considerando as enfermidades aviárias de maior impacto listadas pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), o PNSA estabeleceu normas para programas sanitários visando o controle da doença de Newcastle, salmoneloses e micoplasmoses e prevenção da influenza aviária. Este programa sofreu reformas desde sua vigência, estando sujeito a futuras alterações.

A instrução normativa 78 (IN – 78), de novembro de 2003, contém normas para o monitoramento das salmoneloses em criatórios avícolas, e são aplicáveis à estabelecimentos de controles permanentes (linhas puras, bisavoseiros, avoseiros e matrizeiros) e eventuais (aves silvestres ou ornamentais ou exóticas e os incubatórios destes estabelecimentos), que realizam o comércio ou a transferência nacional e internacional de seus produtos, ficando os mesmos obrigados a realizarem o monitoramento de seus plantéis, obedecendo às diretrizes do PNSA. Mesmo sendo de controle eventual, os estabelecimentos de postura comercial, frango de corte e ratitas não seguem essa normativa.

Segundo a IN 78, para proceder ao comércio nacional e internacional e a transferência de seus produtos no âmbito nacional, os núcleos dos estabelecimentos de linhas puras, bisavoseiros e avoseiros deverão apresentar-se livres de *Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Pullorum*, *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*. Os núcleos dos estabelecimentos matrizeiros deverão ter a condição de livres de *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum* e livres e/ou

controlados para *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium. A utilização de vacinas inativadas contra *S. Enteritidis* em matrizes está liberada. É proibido o uso de qualquer tipo de vacina contra salmonelas em estabelecimentos avícolas, em bisavós e em granjas de seleção genética de reprodutoras primárias (linhas puras).

As provas utilizadas no monitoramento e diagnóstico laboratorial nos estabelecimentos mencionados são a Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR) ou teste de pulrose (com sangue total ou soro), a aglutinação Lenta em Tubos (ALT) ou Microaglutinação e o diagnóstico bacteriológico. Para esclarecimentos sobre outras exigências a serem cumpridas nos estabelecimentos avícolas, colheita e encaminhamento de amostras para realização das provas laboratoriais, interpretação de resultados, adoção de medidas de segurança e certificação dos estabelecimentos, vide a instrução normativa 78 (Brasil, 2003).

## Bibliografia

Altekruse SF, Bauer N, Chanlongbutra A, DeSagun R. *et al.* P. *Salmonella* enteritidis in broiler chickens, United States, 2000-2005. *Emerging Infectious Diseases* 2006; 12:1848-1852.

Barrow PA. *Salmonella* infections: immune and non-immune protection with vaccines. *Avian Pathology* 2007; 36:1- 13.

Barrow PA. *Salmonella* infections in poultry – problems and new thoughts on the possibilities of control. *Brazilian Journal Poultry Science* 1999; 1:9-16.

Barrow PA, Lovell MA. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *Avian Pathology* 1991; 20:335-338.

Berchieri A, Wigley P, Page K, Murphy CK, Barrow PA. Further studies on vertical transmission and persistence of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis phage type 4 in chickens. *Avian Pathology* 2001; 30:297-310.

Brasil. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa 78. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 5 nov. 2003. Edição 215.

Davies RH, Wray C. Studies of contamination of three broiler breeder houses with *Salmonella* enteritidis before and after cleaning and disinfection. *Avian Diseases* 1996; 40:626-633.

Fernandes SA, Tavecchio AT, Ghiliardi AC, Dias AM, Almeida IA, Melo LC. *Salmonella* serovars isolated from humans in São Paulo State, Brazil, 1996-2003. *Revista do Instituto de Medicina Tropical* 2006; 48:179-184.

Fierer J, Guiney DG. Diverse virulence traits underlying different clinical outcomes of *Salmonella* infection. *Journal of Clinical Investigation* 2001; 7:775-780.

Gast RK. Paratyphoid infections. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, editors. *Diseases of poultry*. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p. 97-121.

Paiva JB, Sterzo EV, Ribeiro SA, Pereira EA, Berchieri A. Isolamento de *Salmonella*: comparação das etapas de pré- enriquecimento e enriquecimento direto de amostras de fezes armazenadas por 24 e 96 horas. Arquivos do Instituto Biológico 2006; 73:263-269.

Plym Forshell L, Wierup M. *Salmonella* contamination: a significant challenge to the global marketing of animal food products. Revue Scientifique et Technique de Office International des Epizoties 2006; 25:541-554.

Pomeroy BS, Nagaraja KV. Fowl typhoid. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Reid WM, Yoder WH editors. Diseases of poultry. 9th ed. Ames: Iowa State University Press; 1991. p. 87-99.

Rodrigue DC, Tauxe RV, Rowe B. International increase in *Salmonella* enteritidis: a new pandemic? Epidemiology and Infection 1990; 105:21-27.

Saif YM. Diseases of poultry 11th ed. Ames: Iowa State Press; 2003.

Shivraprasad HL. Pullorum disease and fowl typhoid. Revue Scientifique et Technique de Office International des Epizoties 2000; 19:405-424.

Skyberg JA, Longue CM, Nolan LK. Virulence genotyping of *Salmonella* spp. With multiplex PCR. **Avian Diseases** 2006; 50:77-81.

Van Immerseel F, Methner U, Rychlik I, Nagy B. *et al.* Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. Epidemiology and Infection 2005; 133(6):959-978.

Waltman WD. Isolation of *Salmonella* from Poultry Environments. Proceedings of the International Symposium of Food-Borne *Salmonella* in Poultry; 1998; Baltimore, Marylanda. USA: American Association of Avian Pathologists; 1998; p 133-153.~~

### Fotos - Salmoneloses aviárias



Foto 1 - Aves infectadas por *Salmonella* Pullorum. Ave da esquerda - não infectada. As outras duas apresentam lesões no coração. Gentileza: Dr. Paul A. Barrow, University of Nottingham, UK.



Foto 2 - Ovário de ave adulta infectada por *Salmonella Pullorum*, mostrando alteração na forma dos folículos e área hemorrágica (mancha escura na parte superior à direita). Gentileza: Dr. Paul A. Barrow, University of Nottingham, UK.

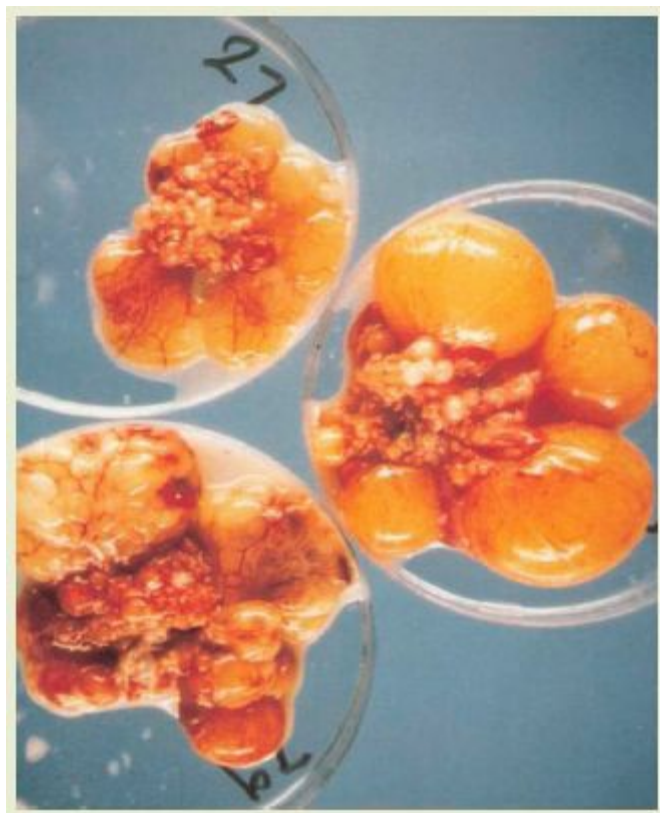


Foto 3 - Ovário de aves adultas infectadas por *Salmonella Enteritidis*. Ovário normal à direita. Os dois à esquerda estão disformes, atrofiados e hemorrágicos. Gentileza: Dr. Paul A. Barrow, University of Nottingham, UK.





Foto 4 - Aves infectadas por *Salmonella* Gallinarum. Ave mais desenvolvida, à direita não infectada. Presença de alterações no coração das duas aves (à esquerda e do meio) e na parte superior da foto. Gentileza: Dr. Paul A. Barrow, University of Nottingham, UK.



Foto 5 - Ave infectada por *Salmonella* Gallinarum, à esquerda e não infectada, à direita. Na ave infectada, notar fígado aumentado de volume e coloração amarelo bronzeada. Gentileza: Dr. Paul A. Barrow, University of Nottingham, UK.



Foto 6 - Ave infectada por *Salmonella* Enteritidis. Área esbranquiçada opaca acima do fígado com perihepatite é o coração com pericardite. Gentileza: Dr. Paul A. Barrow, University of Nottingham, UK.



Foto 7 - Coração de ave infectada por *Salmonella* Gallinarum. Notar a presença de massas esbranquiçadas no miocárdio (A). Coração com hidropericárdio (B).



Foto 8 - Baço de aves infectadas por *Salmonella* Gallinarum. Notar a esplenomegalia nos três baços. Os dois da esquerda apresentando-se também congestionados e o da direita com pontos necróticos (esbranquiçados).



Foto 9 - Fígado de aves infectadas por *Salmonella Gallinarum*. Os fígados 1 e 4 apresentam-se com uma coloração amarelo-bronzeada intensa. No fígado 4, notar também a presença de pontos necróticos. Os órgãos 2 e 3 apresentam-se congestionados. No fígado 3 é possível notar um acentuado aumento de volume com rompimento do lado superior esquerdo.



Foto 10 - Órgãos de ave infectada por *Salmonella Typhimurium*. À direita, o fígado e baço pertencem a uma ave sem infecção. À esquerda, notar o aumento de volume dos dois órgãos (ave infectada). O fígado apresenta pontos necróticos (esbranquiçados) em toda superfície.



Foto 11 - Ave infectada por *Salmonella Typhimurium* à direita e uma ave sem infecção à esquerda. Na ave infectada, notar o fígado aumentado de volume com presença de pontos esbranquiçados na superfície.

<b>Introdução</b>	<b>457</b>
<b>Incidência e distribuição</b>	<b>457</b>
<b>Etiologia e classificação</b>	<b>459</b>
<b>Condições de cultivo e propriedades bioquímicas</b>	<b>459</b>
<b>Estrutura antigênica</b>	<b>459</b>
<i>Antígeno somático - "O"</i>	459
<i>Antígeno flagelar - "H"</i>	459
<i>Antígeno capsular - "K"</i>	460
<i>Antígeno fimbrial - "F"</i>	460
<b>Epizootiologia e patogenia</b>	<b>460</b>
<b>Onfalite</b>	<b>462</b>
<b>Doença respiratória crônica complicada e colisepticemia</b>	<b>462</b>
<b>Salpingite</b>	<b>464</b>
<b>Síndrome da cabeça inchada</b>	<b>465</b>
<b>Celulite</b>	<b>466</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>466</b>
<i>Diagnóstico necroscópico</i>	466
<i>Diagnóstico bacteriológico</i>	466
<b>Tratamento</b>	<b>466</b>
<b>Prevenção e controle</b>	<b>467</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>468</b>

Antonio J. Piantino Ferreira, Terezinha Knöbl

## Introdução

*Escherichia coli* foi descrita pela primeira vez em 1885 por Theodor von Escherich e denominada *Bacterium coli commune*. Colibacilose é o termo comumente empregado para designar as infecções causadas por *Escherichia coli* nos animais. Identificada como parte da microbiota entérica da maioria dos animais, foi considerada durante muito tempo como um microrganismo não patogênico. No entanto, alguns sorogrupos de *E. coli* começaram a ser associados à diversas patologias no homem e nos animais domésticos. *E. coli* O157:H7 é considerado atualmente um dos principais agentes de toxinfecções alimentares relacionados ao consumo de produtos de origem animal, principalmente em países desenvolvidos como Estados Unidos e Japão. Nos países em desenvolvimento, o quadro clínico mais freqüente é a gastroenterite em crianças recém nascidas, responsável anualmente por milhares de mortes.

Os bovinos e suínos são acometidos por enterites logo após o nascimento, apresentando um quadro de diarréia profusa e aquosa, que tende a evoluir para desidratação e morte. Além dos quadros de disenteria e diarréia, *E. coli* tem sido responsável pela ocorrência de infecções localizadas como mastites, cistites e pielonefrites e por infecções sistêmicas como septicemias e meningites, acometendo tanto humanos como animais.

Nas aves, a infecção por *E. coli* é considerada secundária a outros agentes e a manifestação da doença é extra-intestinal. A colibacilose é uma das principais doenças da avicultura industrial moderna, devido aos grandes prejuízos econômicos causados no mundo inteiro por quadros como: colisepticemia, peritonite, pneumonia, pleuropneumonia, aerosaculite, pericardite, celulite, coligranuloma, doença respiratória crônica complicada (DRCC), onfalite, salpingite, síndrome de cabeça inchada (SCI), panoftalmia, osteomielite, ooforite e sinovite.

Estudos relacionados a patogenicidade de *Escherichia coli* mostraram que amostras patogênicas possuem mecanismos de virulência específicos. Baseado nestes fatores de virulência, as bactérias foram classificadas em patotipos, como pode ser observado na Tabela 1.

## Incidência e distribuição

*E. coli* faz parte da microbiota entérica de mamíferos e aves. A colonização do intestino ocorre logo após o nascimento, e embora o papel da microbiota entérica ainda não tenha sido completamente elucidado, existem evidências da participação destes microrganismos na nutrição, servindo como fonte de vitaminas, ocupação dos sítios da mucosa intestinal, impedindo a colonização do epitélio por microrganismos patogênicos. *E. coli* também pode ser facilmente isolada da região da faringe e trato respiratório superior de aves saudáveis.

Tabela 1 - Características de virulência dos principais patótipos de *Escherichia coli*.

Patotipo virulência	Patologia	Características de
EPEC ( <i>E. coli</i> enteropatogênica)	Diarréia em humanos e animais	Presença do gene eae que determina um padrão de aderência em enterócitos com lesão em forma de pedestal conhecida por attaching and effacing. Presença de pili bfp (pili bundle forming)
Sorogrupos específicos: O55; O86; O111; O114; O119; O125; O126; O127; O128; O142.		
ETEC ( <i>E. coli</i> enterotoxigênica)	Diarréia em humanos e animais	Fatores de colonização específicos (CFA/ I a IV). Produção de toxinas ST (termo estável) e LT (termo lábil).
Sorogrupos específicos: O6, O8, O15, O25; O27; O78; O128 e outros.		
EIEC ( <i>E. coli</i> enteroinvasora)	Diarréia em humanos e animais	Plasmídio de virulência (140Mda) Invasão e proliferação em células epitelial in vivo e in vitro Teste de Sereny positivo (inoculação em conjutiva de cobaio).
Amostras imóveis, não fermentadoras de lactose, lisina negativa.		
Sorogrupos específicos: O28ac; O112; O124; O136; O143; O144; O173.		
EHEC ( <i>E. coli</i> enterohemorrágica)	Disenteria em humanos e animais.	Produção de Verocitotoxina (toxina Shiga-like) Doença do edema Presença de gene eae - lesão em pedestal (attaching and effacing)
Produção de enterohemolisina Plasmídio de virulência		

(60MDa)

Sorotipos específicos: O157:H7; O111; O5; O26; O55 e outros.

EaggEC Diarréia em humanos e Padrão de aderência  
em forma de agregados em cultura

(*E. coli* enteroagregativa) animais de célula de cólon humano.

Produção da citotoxina (EAST- toxina estável enteroagregativa)

Sorotipos específicos (Doença do edema dos suínos): O138:K81; O139:K82; O141:K85

UPEC Infecções urinárias em Presença de antígeno capsular (K)

(*E. coli* uropatogênica) humanos e animais (cistite Produção de hemolisina e pielonefrite) Presença de fimbria P

Sorogrupos específicos: O1; O2; O4; O6; O7; O8; O25; O62; O75, etc.

NMEC Meningite em crianças Presença de cápsula K1  
(*E. coli* de meningite neonatal) recém nascidas Presença de fimbria S

Sorogrupos específicos: O1; O6; O7; O16; O18 e O83.

REDEC Diarréia em coelhos Presença de adesina AF/R1 (adhesive factor/ rabbit 1)-

(*E. coli* enteropatogênica para colonização inicial das Placas de Peyer. promove a coelhos) Presença de gene eae - lesão em pedestal (attaching and effacing).

Sorogrupos específicos: O15; O26; O103; O109 e outros.

APEC Doenças extra intestinais Ver Tabela 3

(*E. coli* patogênica para aves) nas aves

No trato digestivo das aves, *E. coli* pode ser encontrada em concentrações acima de 10<sup>6</sup> unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de fezes, sendo que 10 a 20% destas amostras são potencialmente patogênicas para os animais. Há uma excreção contínua de *E. coli* portadora de fatores de virulência através das fezes, o que torna a sua distribuição cosmopolita. A bactéria pode permanecer nas criações por longos períodos, contaminando o alimento e a água, que servirão como via de disseminação da bactéria. A contaminação fecal da casca do ovo é uma das principais vias de transmissão para os pintinhos, resultando em alta mortalidade embrionária. Roedores e aves silvestres também podem funcionar como reservatórios da doença.

Os principais sorogrupos relacionados com a colibacilose aviária são O1:K1, O2:K1, O36 e O78:K80, embora outros sorogrupos como O4, O6, O11, O21, O50, O88, O100 e O119, possam ser isolados. No Brasil, os sorogrupos mais prevalentes são: O2, O21, O36, O50, O78, O88, O119 e O152.

## Etiologia e classificação

*E. coli* pertence a família Enterobacteriaceae. É um bastonete curto, com coloração Gram negativa, não esporulado, cujo tamanho varia de 1,1 a 1,5µm por 2-6µm. É um anaeróbio facultativo, pois possui metabolismo respiratório e fermentativo. A maioria das amostras é móvel, devido a existência de flagelos peritríqueos. Em meios nutrientes sólidos, as colônias apresentam cerca de 1 a 3mm de diâmetro podendo apresentar duas formas denominadas de lisa e rugosa, mas podem existir colônias com características intermediárias e mucóides. Colônias lisas são convexas e brilhantes, possuem bordos regulares, e se dispersam em solução fisiológica 0,85% (solução salina), enquanto colônias rugosas apresentam um aspecto e aparência grosseira, contornos irregular e dificilmente se dispersam em solução salina.

## Condições de cultivo e propriedades bioquímicas

*E. coli* crescem em temperaturas que podem variar de 18 a 44 °C, sendo ideal a temperatura de 37 °C.

A produção de ácido e gás ocorre após a fermentação da glicose, maltose, manose, manitol, xilose, glicerol, ramanose, sorbitol e arabinose. A fermentação do adonitol, sacarose, salicina, rafinose, ornitina, dulcitol e arginina é variável. A maioria das amostras possui capacidade de fermentar a lactose, embora algumas amostras apresentem uma fermentação tardia.

*E. coli* produz reação de vermelho de metila positiva e Voges Proskauer negativa. As provas de motilidade, lisina, e produção de indol são positivas enquanto as provas de oxidase, utilização do citrato, hidrólise de uréia, liquefação de gelatina e produção de H<sub>2</sub>S são negativas.

## Estrutura antigênica

O corpo bacteriano é composto de estruturas antigênicas que contribuem para a determinação dos sorogrupos de *E. coli* e é baseada na identificação dos antígenos somáticos (Öhne - "O"), capsulares (Kapsel - "K"), flagelares (Hauch - "H") e fimbriais (Fimbriae - "F"). Atualmente são



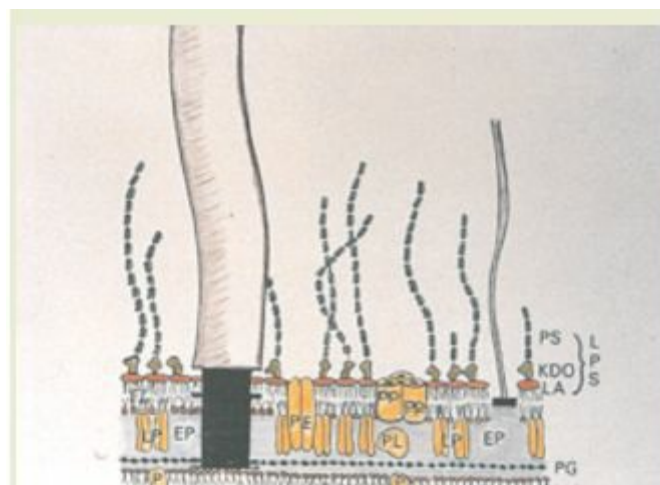
descritos 177 antígenos somáticos, 100 antígenos capsulares e 52 antígenos flagelares (ver [Figura A](#)). Existem ainda amostras rugosas, autoaglutinantes, que não pode ser sorotipadas devido a perda parcial ou total da cadeia de polissacarídeo.

## Antígeno somático - "O"

Corresponde a uma das frações do maior componente da parede celular das bactérias Gram negativas, o lipopolissacárideo (LPS). O LPS é termoresistente e constituído por 3 frações:

- O antígeno somático, cadeia de polissacarídeo que se projeta para o espaço extracelular, e cuja composição é extremamente variável entre as bactérias da mesma espécie, que determina a existência de vários sorogrupos.
- O lipídeo A, altamente conservado entre os membros da família Enterobacteriaceae, é conhecido como endotoxina, sendo liberado durante a fase de multiplicação ou após a morte bacteriana. Atua na ativação de macrófagos e estimula a liberação de vários mediadores da inflamação (citocinas e TNF), causando choque séptico.
- Core, uma fração intermediária composta por oligossacarídeos que ligam covalentemente o lipídeo A ao antígeno somático.

A perda do LPS ocorre através de mutações no cromossomo bacteriano, tornando as colônias rugosas, facilitando a opsonização da bactéria e está associada com a diminuição da virulência (ver [Figura A](#)).



**Figura A** - Figura mostrando a estrutura antigênica- molecular de E coli. A-1= estrutura molecular do flagelo em relação ao corpo bacteriano; A-2= estrutura do polissacarídeo e a sua relação com o lipídeo A; A-3= estrutura do pili ou fimbria que se projeta da membrana externa da bactéria. PS= polissacarídeo; LA= localização do lipídeo A ou endotoxina; PG= peptidoglicano ou citoesqueleto das bactérias Gram negativas; MC= membrana citoplasmática em oposição à membrana externa que ancora o flagelo, pili e LPS.

A identificação deste antígeno é feita através de provas de aglutinação com antisoros padrões, e geralmente os títulos obtidos são altos (>1:2560).

## Antígeno flagelar - "H"

É de natureza protéica, e portanto pode ser destruído pelo aquecimento a 100 °C. A identificação

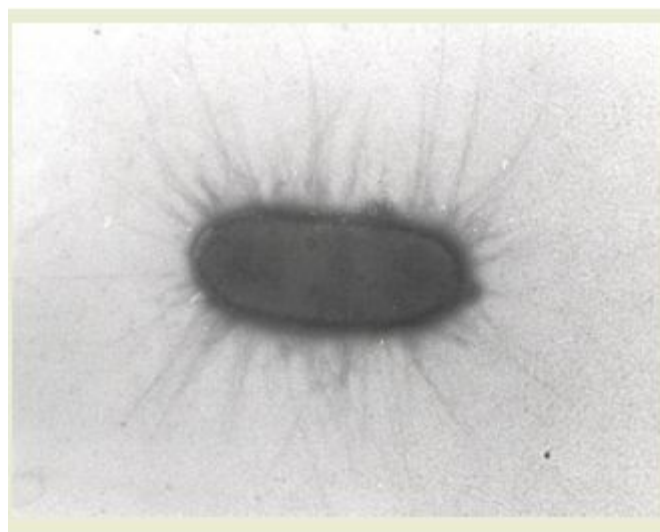
é feita através de testes de aglutinação em tubo após a incubação a 37 °C por duas horas. Os títulos obtidos geralmente são baixos (1:100 - 1:400). Não é utilizado com freqüência na identificação antigênica das amostras de *E. coli*, e a presença de flagelo não tem sido correlacionada com a patogenicidade (ver [Figura A](#)).

### Antígeno capsular - "K"

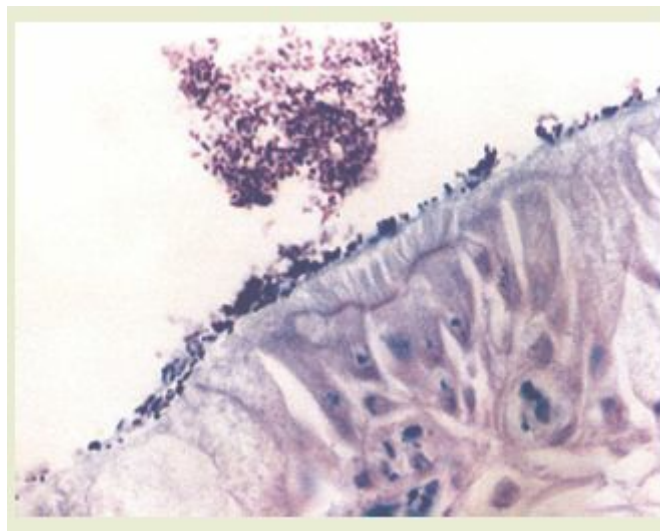
É um ácido polimérico contendo 2% de açúcares reduzidos. A presença do ácido N-acetil neuramínico na cápsula está relacionada a resistência da bactéria aos efeitos bactericidas causados pelo sistema complemento. Vários estudos têm correlacionado a presença do antígeno capsular K1 com a patogenicidade destas amostras em aves. A cápsula é um dos componentes bacterianos de menor imunogenicidade. Pode ser removida pelo aquecimento a 100 °C por cerca de uma hora, embora algumas amostras necessitem de aquecimento a 121 °C por duas horas e meia. Com base no perfil de termo estabilidade, o antígeno K pode ser subdividido em L, A e B. A identificação deste antígeno geralmente é feita através de testes de aglutinação, com títulos que variam entre 1:100 a 1:400.

### Antígeno fimbrial - "F"

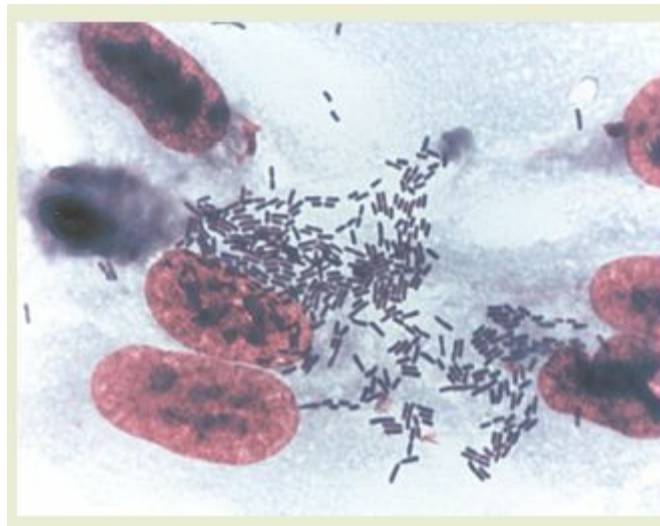
São denominados pelos termos adesinas, pili ou fimbrias, e correspondem a moléculas de natureza protéica, que recobrem a superfície bacteriana, capazes de reconhecer receptores específicos na superfície de células eucarióticas. A expressão de adesinas é considerada um fator de virulência de fundamental importância no processo de aderência e colonização dos tecidos do hospedeiro (ver [Figuras B, C e D](#)). Geralmente as adesinas conferem especificidade da aderência da bactéria em relação a determinados tecidos e órgãos do hospedeiro. Embora essas adesinas apresentem poucas diferenças morfológicas, existem propriedades antigênicas e hemaglutinantes distintas. A utilização do carboidrato D+ manose permite classificar as fimbrias em dois grandes grupos: manose sensíveis, quando a hemaglutinação é inibida pela presença do carboidrato, e manose resistentes, quando a hemaglutinação ocorre na presença de manose. A Tabela 2 ilustra algumas características das adesinas descritas até o momento em amostras de origem aviária.



**Figura B** - Eletromicrografia de uma amostra de *E coli* de origem aviária. Notar na superfície bacteriana a projeção de estruturas finas e longas denominadas de pili ou fimbrias, sendo caracterizado como pili Tipo 1. Coloração negativa - molibdato de amônio - aumento 30.000 X.



**Figura C** - Figura mostrando a aderência de E coli O78 patogênica para aves nas células ciliadas da traquéia e C-1, aderência ao muco secretado pelas células secretórias de muco da traquéia. Giemsa 140X.



**Figura D** - Figura mostrando a aderência de E coli O78 nas células HeLa. Notar a formação de grumos bacterianos ao redor da célula. Giemsa/ May-Grunwald, 1000X.

Vários autores têm sustentado a hipótese de que as adesinas manose sensíveis (pili tipo1 ou tipo 1 like) sejam responsáveis pela colonização de traquéia e sacos aéreos durante a fase inicial da doença, enquanto a colonização de órgãos internos como fígado, coração e o desenvolvimento de septicemias seja dependente da expressão de adesinas manose resistentes como a fimbria P.

## Epizootiologia e patogenia

O aparecimento da colibacilose é o resultado da interação da bactéria com o hospedeiro e o meio ambiente. Apenas amostras patogênicas possuem capacidade de causar doença. A **Tabela 4** mostra os principais fatores de virulência associados à *E. coli* de origem aviária. Dentre as características apresentadas na **Tabela 4**, a expressão de adesinas, a produção de sideróforos e a capacidade de resistir a ação microbicida do soro tem sido consideradas fundamentais na patogenia da doença. Os fatores que apresentam maior correlação com a virulência são a resistência aos componentes do sistema complemento e a capacidade de sequestrar o íon ferro na corrente sanguínea e nos tecidos do hospedeiro. Estes dois fatores contribuem para a

sobrevivência e evolução da doença após a invasão da bactéria.

Aves jovens (com idade entre quatro a nove semanas) são mais susceptíveis aos quadros respiratórios, enquanto as aves adultas são mais predispostas a ocorrência de salpingites. A salpingite tem sido amplamente associada ao nível hormonal da ave em postura. Infecções experimentais têm mostrado que a colonização do oviduto por coliformes é facilitada quando o nível de estrógeno está elevado.

As condições ambientais e de manejo contribuem muito para a ocorrência da doença, pois a bactéria é considerada um patógeno oportunista. Altas concentrações de amônia no galpão, deficiências na ventilação de ambientes avícolas, extremos de temperatura, umidade da cama, criações com alta densidade e deficiência no processo de desinfecção são considerados os principais fatores ambientais predisponentes.

Tabela 2 - Origem e características das adesinas de <i>E. coli</i> isoladas de aves com septicemia.					
Denominação	Origem	Peso Molecular	Padrão de	Aderência	Estrutura
Referências da adesina	tecidos adesina	Estimado kDa	hemaglutinação em		
Tipo 1 O1 R	Galinha	18,4	ND	MS +	ND
Suwanichkul & Panigray, 1986					
Tipo 1 O2 R	Galinha	18,2	ND	MS +	ND
Suwanichkul & Panigray, 1986					
Tipo 1- O78R	Galinha	17,8	ND	MS +	ND
Suwanichkul & Panigray, 1986					
Tipo 1A O2	Galinha	18,5	MS Humano	+	R Dho- Moulin <i>et al.</i> , 1990
Tipo 1A O78	Galinha	17	MS Cobaia	+	R Dho- Moulin <i>et al.</i> , 1990
Tipo 1A O2	Galinha	17	MS Cobaia	+	R Dho- Moulin <i>et al.</i> , 1990

Tipo 1A O2	Galinha	18	MS Cobaia	+	R	Dho- Moulin <i>et al.</i> , 1990
Pili O78-AC/1	Galinha	18	ND	MS +	R	Yerushalmi <i>et al.</i> , 1990
PDI386 Tipo I	Galinha	19	MS Cobaia	+	F	Sekizaki <i>et al.</i> , 1992
Tipo 1	Peru	17	ND	MS +	R	Dominick <i>et al.</i> , 1985
F11 (P)	Galinha	18	MR Human <sup>o</sup> Carneiro	+	R	Bosch <i>et al.</i> , 1993
F41	Bovino, suíno e ave	29,5	MR Humano, cobaia, cavalo, carneiro	+	F	De Graaf & Roorda, 1982
Curli	Humano e ave	17	NHA	+ MR	F	Olsén <i>et al.</i> , 1989;
fibronectina						Provence & Curtis III, 1992.
HAMR 5.7	Ave	33	MR carneiro	+ MR		Amorfa Ferreira, 1996

Dentre os principais agentes infecciosos associados a colibacilose aviária podemos citar: *Mycoplasma gallisepticum* e *M. synoviae*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus paragallinarum*, *Pneumovírus*, vírus da Bronquite Infecciosa (incluindo vírus vacinal), Doença de Marek e de New Castle, Doença infecciosa bursal (Gumboro) e presença de micotoxinas (aflatoxina) na ração. De modo geral, qualquer fator ambiental, nutricional ou infeccioso que possa lesar o epitélio respiratório, assim como, aqueles que interfiram com o sistema imunológico podem tornar a ave susceptível a infecção por amostras de *E. coli* patogênicas.

## Onfalite

A contaminação fecal do ovo é uma das principais vias de transmissão de *E. coli*, devido a penetração de amostras patogênicas da superfície para o interior da casca, causando onfalite e morte do embrião. Os principais agentes envolvidos em quadros de onfalite são *E. coli*, *Proteus sp*, *Bacillus sp* e *Enterococcus sp*, sendo que a *E. coli* pode ser isolada em 70% dos casos de

onfalite. A taxa de infecção pode ultrapassar 25% se a galinha também estiver infectada, pois além da contaminação fecal existe a possibilidade de transmissão ovariana. A mortalidade embrionária é maior quando a infecção ocorre no período final de incubação. A Figura K mostra um embrião com onfalite, produzida experimentalmente com *E. coli* isolada de pintinhos com um dia de idade.

No quadro de onfalite, a parede do saco vitelínico torna-se edemaciada. O tecido conectivo externo fica margeado por uma camada de células inflamatórias, com presença de heterófilos e macrófagos, uma camada de células gigantes, e uma zona de necrose e massa bacteriana. A gema torna-se acastanhada, podendo conter massas caseosas. Nesta condição, o percentual de mortalidade embrionária é bastante elevado, mesmo que o pintinho consiga nascer, a disseminação da bactéria nos primeiros quatro dias pode resultar em casos de pericardite. O pintinho não é capaz de absorver o saco vitelínico e o seu ganho de peso estará comprometido. As perdas econômicas são elevadas nos surtos de onfalite causadas pela *E. coli*, podendo estender-se por um período de até três semanas após o nascimento da ave. Os pintinhos acometidos apresentam um desenvolvimento deficiente e geralmente são eliminados do lote por não atingirem os índices zootécnicos exigidos para a criação. Estas aves também contribuem para a manutenção de diferentes patógenos (vírus, bactérias e parasitas) na granja, pois são suscetíveis a várias enfermidades, tornando-se focos permanentes de disseminação de agentes infecciosos.

## Doença respiratória crônica complicada e colisepticemia

A doença respiratória crônica ocorre comumente em aves com quatro a nove semanas de idade, que evolui para uma septicemia. Geralmente este quadro depende da associação com outros agentes que causem lesão do epitélio do trato respiratório superior, com perda dos cílios e acúmulo de muco, favorecendo a colonização e multiplicação de *E. coli* (ver [Figura J](#)). A presença de elevados níveis de amônia e uso de formaldeído em ambientes avícolas pode causar uma irritação severa no epitélio traqueal, aumentando a produção de muco e perda dos cílios. Isto tem favorecido a ocorrência de doença respiratória em frangos de corte no período de 5 a 12 dias após o início da exposição. O uso de vacinas vivas contra a doença de Newcastle e bronquite infecciosa podem provocar lesões no trato respiratório facilitando o aparecimento de reações respiratórias, e assim, tornando a ave mais suscetível a infecção por *E. coli*.

A porta de entrada da bactéria mais freqüente é o trato respiratório superior, ocorrendo a colonização e multiplicação do agente na traquéia ([Figura C](#)), com posterior disseminação para os sacos aéreos e tecidos adjacentes. As principais lesões encontradas são: traqueíte ([Figura J](#)), aerossaculite ([Figuras G e H](#)), pericardite e peri-hepatite ([Figura F](#)). Estas lesões são freqüentemente encontradas nos abatedouros e denominadas de "tríade de condenação de carcaça", associado à infecção por *Mycoplasma gallisepticum* ([Figuras F, G e H](#)). As aves acometidas podem apresentar pneumonia, pleuropneumonia e peritonite, evoluindo rapidamente para septicemia e com isto elevando a mortalidade de aves no plantel.



**Figura E** - Figura mostrando o aspecto normal do fígado e coração de uma ave.



**Figura F** - Pericardite e perihepatite - figura mostrando o aspecto do fígado e coração de uma ave com perihepatite e pericardite. Notar a presença de fibrina sobre o fígado e o espessamento do pericardio com intensa congestão dos vasos e coloração amarelada indicando um processo inflamatório. Notar também a intensa congestão dos vasos da musculatura subcutânea, indicando septicemia.



**Figura G** - Aerossaculite - figura mostrando o espessamento das membranas do saco aéreo torácico direito com deposição de fibrina, onde nota-se a alteração da coloração destas membranas.



**Figura H** - Aerossaculite abdominal - figura mostrando a deposição de fibrina na membrana do saco aéreo abdominal. Nota-se que o processo inflamatório ainda é inicial, pois a membrana não se encontra totalmente espessada.

A colisepticemia pode ser facilmente reproduzida através de inoculação experimental, auxiliando na compreensão da patogenia da doença. A aerossaculite pode ser observada cerca de uma hora e meia após a inoculação. Os sacos aéreos tornam-se espessados com presença de exsudato caseoso (**Figuras G e H**). Microscopicamente, as alterações são devido a presença de edema e infiltrado heterofílico, com macrófagos e células gigantes ao redor de áreas de necrose. Observa-se proliferação de fibroblastos e acúmulo de heterófilos nas áreas de presença do exsudato caseoso. A pericardite instala-se cerca de seis horas após a inoculação e as lesões macroscópicas incluem o espessamento do pericárdio, com edema na região do epicárdio, e presença de exsudato fibrinoso, de coloração amarelada (**Figura F**). Microscopicamente, observa-se uma miocardite, com acúmulo de células linfóides. A pericardite-miocardite pode causar redução da pressão arterial sangüínea de 150mmHg para 40mmHg. A bacteremia pode ser observada 48 horas após a inoculação, embora um quadro de septicemia aguda possa se instalar nas primeiras seis horas, causando a morte das aves com ausência de lesões. As aves sobreviventes ao quadro septicêmico podem apresentar outras lesões menos freqüentes que incluem: salpingite, panofalmitite,



meningoencefalite, celulite, osteomielite e sinovite, esplenomegalia, fígado com coloração esverdeada e congestão do tecido muscular.



**Figura I** - Síndrome da cabeça inchada - ave apresentando infecção por E coli em um quadro de SCI. A figura mostra o tecido subcutâneo com intensa deposição de fibrina.



**Figura J** - Traqueíte - figura mostra a traquéia de um frango com traqueíte, onde isolou-se E coli e vírus da bronquite infecciosa das galinhas. Notar a intensa hemorragia decorrente da multiplicação bacteriana na mucosa traqueal.



**Figura K** - Embrião de galinha com onfalite. Notar o aumento de volume na região umbilical (onfalo) do embrião após inoculação experimental de *E. coli* isolada de pintinhos com onfalite.

## Salpingite

A salpingite caracteriza-se pela formação de massa caseosa composta por heterófilos e bactérias no oviduto, que aumenta de tamanho progressivamente, persistindo por vários meses. As aves afetadas geralmente vêm à óbito em aproximadamente seis meses e as sobreviventes raramente voltam à produção normal de ovos. Os folículos ovarianos sofrem um processo de degeneração tornando-se flácidos. Nessa situação é comum ocorrer o rompimento de folículos na cavidade peritoneal, causando uma peritonite fibrinosa que resulta em morte aguda das aves.

As aves adultas geralmente são menos susceptíveis aos quadros respiratórios, mas podem apresentar alterações reprodutivas devido à ocorrência de salpingites.

A bactéria pode atingir o oviduto de duas formas: a proximidade do oviduto com as membranas do saco aéreo abdominal esquerdo ou por infecções ascendentes à partir da cloaca, semelhante às infecções do trato urinário em humanos e outros mamíferos.

Mostrou-se recentemente que amostras recombinantes de *E. coli* portadoras de pili tipo 1 aderiam ao muco vaginal e, portanto, este pili poderia influenciar na colonização do epitélio vaginal e do trato urinário de mamíferos, favorecendo o aparecimento de infecções por via ascendente. Não existem estudos que demonstrem a presença de pili tipo 1 em amostras de origem aviária com aderência em muco e colonização do trato reprodutivo de galinhas pela via ascendente. No entanto, estudos desenvolvidos em nosso laboratório mostraram a aderência *in vitro* de amostras de *E. coli* isoladas de aves com salpingite, utilizando como modelo experimental o epitélio do oviduto de galinha e de franga, obtendo-se os seguintes resultados: 63,33% de amostras aderiram-se aos dois epitélios, 23,33% aderiram-se apenas em epitélio de galinha e 13,3% de amostras negativas para o teste, sugerindo que a aderência *in vivo* no oviduto poderia sofrer variações de acordo com o estado hormonal da ave. Recentemente, determinou-se que estas amostras apresentavam o pili tipo 1 e fimbria P.

O aumento dos níveis de estrógeno no organismo induz a um processo fisiológico de hipertrofia tecidual no aparelho reprodutivo dos mamíferos. Sugere-se assim, que a ave em postura sofra uma

hipertrofia do tecido uterino, com aumento da secreção glandular, favorecendo a ocorrência de infecções por *E. coli* via ascendente. Estudos de infecções experimentais por *E. coli* tem mostrado que o sucesso em reproduzir quadros de salpingite nas galinhas é maior quando se realiza um implante de estilbestrol, sendo amplamente associada aos níveis elevados de estrógeno, facilitando a colonização do epitélio do oviduto. Quando não há a mudança hormonal, torna-se mais difícil a reprodução experimental da salpingite em aves em produção, devido a secreção de substâncias microbidas presentes no albumen e também devido a presença de anticorpos anti *E. coli*.

## Síndrome da cabeça inchada

A Síndrome da Cabeça Inchada (SCI) foi descrita pela primeira vez na África, por Morley & Thomson em 1984, que atribuíram o aparecimento do quadro

patológico em aves a uma infecção mista causada por *E. coli* em associação com um coronavírus não determinado. Desde então, muitos estudos têm associado a ocorrência da SCI com a infecção das aves por pneumovírus. A SCI caracteriza-se como um quadro respiratório agudo que resulta no aparecimento de uma sinusite com edema peri e infra-orbitário, podendo comprometer o sistema nervoso central com aparecimento de torcicolo, opistótomo e incoordenação motora. Os sinais clínicos da doença duram geralmente de duas a três semanas, sendo observado neste período uma taxa de mortalidade em torno de 3 a 4%, e uma redução da produção de ovos em cerca de 2 a 3%. As lesões encontradas na necropsia incluem edema facial, celulite e presença de exsudato caseoso de coloração amarelada no espaço aéreo dos ossos do crânio. O exame histopatológico revela um processo de desciliação do epitélio com hiperplasia das glândulas mucosas, além de presença de edema e exsudato inflamatório heterofílico, margeado por células gigantes e áreas de granuloma e necrose focal. As áreas lesadas podem estender-se em direção ao nervo óptico e meninges.

Embora a patogenia da doença ainda não tenha sido completamente elucidada, acredita-se que *E. coli* atue como agente secundário à infecção, invadindo o tecido subcutâneo após um quadro inicial de rinite causada pelo pneumovírus, sendo responsável pelo aparecimento das lesões e pela severidade da doença. Um estudo histopatológico demonstrou que galinhas infectadas com pneumovírus apresentavam alterações no tecido nasal, com hipertrofia das glândulas mucosas e aumento da secreção de muco, além de edema e infiltração de células inflamatórias na lâmina própria, resultando na substituição do epitélio colunar pseudoestratificado por uma cobertura plana de células epiteliais desprovidas de cílios. Desta forma, o acúmulo de muco na região nasal favorece a infecção secundária por *E. coli*. A produção de uma citotoxina ativa em células HeLa e Vero em 72% das amostras de *E. coli* isoladas de aves com SCI foi descrita recentemente. Esta citotoxina foi denominada VT2y devido a similaridade dos efeitos biológicos e soroneutralização com o antisoro anti VT2. Especula-se que o aparecimento do edema subcutâneo esteja associado à ação da VT2y no endotélio vascular. A presença de fimbrias P e pili tipo 1 tem sido associado à amostras de *E. coli* isoladas de aves com SCI. A capacidade de aderência mediada por fimbrias e a secreção de toxinas tem sido muito estudada em amostras de *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC) isoladas de bovinos e suínos, onde a presença das adesinas K88, K99, F41, F42 e muitas outras, aliado à presença de toxinas como LT ou ST estão intimamente ligadas aos principais fatores de virulência das ETEC, provocando diarréias nestes animais.

# Celulite

A celulite é uma das patologias associadas a infecção por *E. coli* que acomete frangos de corte, resultando em um grande número de condenações em abatedouros, devido ao aspecto repugnante da carcaça. A lesão é resultante do acúmulo de exsudato heterofílico, com aspecto caseoso, no tecido subcutâneo das aves, principalmente na região abdominal.

A maioria das amostras de *E. coli* isoladas de celulite produzem aerobactina, colicinas e pertencem aos sorogrupos O2 e O78, embora sorotipos menos patogênicos possam reproduzir experimentalmente a doença quando se promove uma escarificação da pele e deposição da cultura no tecido subcutâneo. Alguns estudos tem relacionado a ocorrência da celulite com surtos de colibacilose no lote ou a má qualidade dos pintinhos em criações de alta densidade.

## Diagnóstico

### Diagnóstico necroscópico

As alterações anatomopatológicas são relevantes na elucidação da doença. A colibacilose interfere em todas as etapas de produção de aves comerciais contri- buindo para a diminuição da qualidade de aves. As aves acometidas desenvolvem lesões em diferentes órgãos, como fígado, coração, oviduto, folículos ova- rianos, membranas do sacos aéreos, pulmão, seios nasais, saco da gema, sistema nervoso central e teci- dos adjacentes, articulações e tecido subcutâneo. Dessa forma, as alterações anatomopatológicas mais freqüentes são perihepatite, pericardite, aerosaculite, onfalite, pneumonia fibrinosa, ooforite, salpingite, meningoencefalite, sinusites e artrite caseosa. Recen- temente, associou-se a infecção por *E. coli* à celulite em frangos de corte. O diagnóstico diferencial deve ser realizado, já que outras bactérias podem causar lesões semelhantes, como *Mycoplasma* (aeros- saculite), *Chlamydia* (aerossaculite e pericardite), *Pasteurella* e *Salmonella* (pericardite e perihepatite) e infecções por *Ornithobacterium rhinotracheale*, em- bora esta enfermidade não tenha sido descrita no Brasil.

### Diagnóstico bacteriológico

Fragmentos ou suabes dos órgãos acometidos devem ser cultivados em caldos nutrientes (caldo BHI ou nutriente) e incubados a 37 °C por 24 horas. Em seguida deve-se semear o crescimento do caldo nutriente em meios seletivos. Também pode ser feito cultivo direto nos meios seletivos, no entanto, deve- se considerar que poderá ocorrer pouco crescimento de colônias. Os meios seletivos mais indicados para o isolamento de *E. coli* são o ágar Mac Conkey, ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), ágar Hoekten, ágar Verde Brillhante (AVB). *E. coli* apresenta colônias rosadas ou avermelhadas no ágar Mac Conkey, colônias esverdeadas com aspecto metálico no meio EMB, colônias amareladas no meio AVB e Hoekten. Em seguida, seleciona-se três a cinco colônias para a identificação bioquímica. Utiliza-se rotineiramente os testes bioquímicos que indiquem a produção de ácido e gás a partir da glicose, *E. coli* não produz H<sub>2</sub>S, urease, L-triptofano desaminase, não utiliza o citrato como fonte de carbono, utiliza a lisina e produz indol. Após a identificação bacteriológica, pode-se estabelecer a determinação dos sorogrupos com antisoros específicos (O1, O2, O36, O78 e outros) que contribuirão para a determinação dos fatores de virulência (ver [Tabela 3](#)).

Tabela 3 - Fatores de virulência associados a amostras de *E. coli* isoladas de aves (APEC).

Fator de virulência	Referência Bibliográfica
Sorogrupos O1, O2, O21, O36, O45, O78	Glantz <i>et al.</i> , 1962; Castro <i>et al.</i> , 1990; Monroy, 1992; Blanco <i>et al.</i> , 1998
Presença de cápsula K1, K80	Czirok <i>et al.</i> , 1990;
Pourbakhsh <i>et al.</i> , 1997; Jann & Jann, 1997	
Produção de colicinas (Col V)	Ferreira, 1989; Vidotto <i>et al.</i> , 1990
Produção de Sideróforos (Aerobactina)	La Font <i>et al.</i> , 1987; Dho-
Moulin & Fairbrother, 1999	
Presença de fimbrias (fimbria P, S, Tipo1)	Ferreira, 1996; Vidotto <i>et al.</i> , 1997; Knöbl, 1999
Produção de citotoxinas	Benez, 1993; Parreira <i>et al.</i> , 1998.
Endotoxina (LPS)	Hewett & Roth, 1993
Resistência sérica	Ferreira, 1989; Dho-Moulin
& Fairbrother, 1999.	
Invasão celular	Vidotto <i>et al.</i> , 1990

O isolamento de *E. coli* de órgãos internos da ave já indica que a amostra possa ser virulenta para a espécie aviária, no entanto, alguns estudos têm demonstrado que a determinação dos fatores de virulência associado à inoculação in vivo em pintinhos de um dia de idade seja fundamental para estabelecer-se uma classificação da virulência destas bactérias, pois sabe-se que muitas amostras podem ser de origem fecal e não estar associada a doença em aves. Isto geralmente ocorre quando

as aves são submetidas ao desafio por agentes imunossupressores (doença de Gumboro, micotoxicose, leucose, doença de Marek e outras), pois muitas amostras de *E. coli* que invadem o organismo da aves são oportunistas não possuindo mecanismo que permitam a sua sobrevivência na corrente sangüínea e outros órgãos.

As técnicas de reação da polimerase em cadeia (PCR) e as sondas de DNA têm sido muito úteis na pesquisa de genes que codificam vários fatores de virulência ([Tabela 3](#)).

## Tratamento

O tratamento com antibióticos e quimioterápicos é uma das formas de diminuir o impacto da colibacilose. O sucesso do tratamento é maior quando a administração do medicamento é feita na fase inicial da doença. As drogas mais freqüentemente empregadas são: quinolonas de terceira geração (Enrofloxacina e Danofloxacina), Sulfonamidas (Sulfadiazina, Sulfaquinoxalina e Sulfaclopiridazina), Macrolídios (Eritromicina), Lincosamídeos (Espectinomicina), Tetraciclina (Tetraciclina, Oxitetraciclina, Clortetraciclina), Pencilinas (ampicilina e fosfomicina) e Aminoglicosídeos (Apramicina e Gentamicina).

A realização de teste de suscetibilidade a drogas antimicrobianas deve preceder o tratamento da colibacilose aviária, pois nota-se um elevado índice de resistência aos medicamentos antimicrobianos, devido ao uso indiscriminado e prolongado, concentrações sub-terapêuticas e indicações terapêuticas ineficientes. As principais limitações relacionadas ao tratamento da colibacilose são os custos da medicação e a existência de amostras resistentes a diversas drogas antimicrobianas. Pode-se observar na [Tabela 4](#), um elevado perfil de resistência aos antimicrobianos que foram utilizados amplamente no tratamento de doenças bacterianas. Esta tabela mostra os resultados dos testes de resistência de 160 amostras de *E. coli* isoladas de aves de diversas regiões produtoras de aves no Brasil. Dessa forma, há poucas alternativas para o tratamento de infecções por *E. coli*.

Tabela 4 - Sensibilidade a antimicrobianos de 160

amostras de *E. coli* isoladas de aves com quadros de onfalite, salpingite e doença respiratória crônica, no ano de 1994\*.

Antimicrobiano	Sensibilidade
----------------	---------------

Danofloxacina	98 %
---------------	------

Gentamicina	98 %
-------------	------

Enrofloxacina	97 %
---------------	------

Apramicina	95 %
Espectinomicina	80 %
Ácido oxolínico	70 %
Cloranfenicol	64 %
Trimetoprim	60 %
Canamicina	55 %
Neomicina	56 %
Tetraciclina	16 %
Doxiciclina	16 %
Nitrofurantoina	7,7 %
Sulfanamidas	1,3 %
Espiramicina	1,3 %
* Estudo desenvolvido no Laboratório de Ornitopatologia - FMVZ-USP.	

## Prevenção e controle

A prevenção e o controle da colibacilose baseiam-se principalmente em medidas inespecíficas de manejo, pois a ocorrência da doença apresenta aspectos multifatoriais, como manejo, ventilação, nutrição das aves, imunossupressão, densidade de criação, aplicação de vacinas vivas (doença de Newcastle, BIG e outras), amônia, estresse ambiental e outros fatores.

Uma das principais medidas de controle em criações de frangos de corte é a melhoria das condi-

ções de ventilação dos galpões, da concentração de gases de amônia e redução da poeira em suspensão. O uso de bebedouros do tipo bico (nipple) para frangos foi uma medida de grande impacto na redução de doenças respiratórias. Outra medida que tem se mostrado eficiente no controle de doenças respiratórias é o aumento do intervalo entre os lotes. Um levantamento realizado nos Estados Unidos mostrou melhoria dos parâmetros produtivos e sanitários após 14 dias de descanso no galpão.

O uso de sistemas de filtração de ar, aliada aos processos de limpeza e desinfecção contínua de equipamentos em incubatórios tem reduzido a mortalidade embrionária.

Em matrizeiros, a recomendação é intensificar o número de coleta dos ovos, desprezando-se os ovos postos sobre a cama, e realizar a desinfecção dos mesmos, evitando-se assim o impacto da onfalite na qualidade de pintinhos de um dia de idade.

A utilização de probióticos e produtos de exclusão competitiva podem auxiliar na eliminação de amostras de *E. coli* patogênicas do sistema digestivo das aves.

Vários estudos têm mostrado a interferência de determinados fatores nutricionais na modulação de processos infecciosos de origem bacteriana. Melhorias do estado imunológico das aves têm sido correlacionados com os níveis de vitaminas A, E, D e C e também com a adição de substâncias imuno- moduladoras na ração e água de bebida. A suplementação da dieta de pintos com níveis elevados de sulfato ferroso aumentou a resistência a colisepticemia experimental. No entanto, a administração de ferro exógeno aumentou a mortalidade, a bacteremia e a severidade das lesões.

Vacinas inativadas (bacterinas) têm sido utilizadas em algumas regiões do Brasil para minimizar o impacto da salpingite em matrizes e aves de postura comercial. A utilização de bacterina oferece uma boa proteção quando o desafio é realizado com uma amostra homóloga. Vacinas sonicadas têm produzido títulos de anticorpos protetores durante vários meses nas matrizes imunizadas, e a imunidade passiva dos pintinhos manteve-se durante duas semanas, protegendo-os do desafio com amostra homóloga.

No entanto, o grande número de sorogrupos patogênicos presentes no campo tem dificultado o controle da salpingite, onfalite e DRC através de vacinação, uma vez que a proteção cruzada entre diferentes sorogrupos é pequena e o desafio das aves com amostra heteróloga geralmente é pouco eficaz. A busca por antígenos comuns a vários sorogrupos tem resultado no desenvolvimento de vacinas experimentais que utilizam o pili bacteriano como método de controle da colibacilose.

Como o controle da colibacilose depende de vários fatores, este poderá tornar-se efetivo se existir uma associação entre manejo eficiente, desinfecção e uso de vacinas adequadas, o que contribuirá para minimizar os prejuízos decorrentes da doença.

## Bibliografia

Abe C, Schmitz S, Moser I, Boulnois G, High N, Orskov I, Orskov F, Jann K. Monoclonal antibodies with fimbrial F1C, F12, F13, and F14 specificities obtained with fimbrial from *Escherichia coli* O4:K12:H-. Microbial Pathogenesis 1987; 2:71-7.



Andreatti Filho RL. Destino de amostras patogênicas e apatogênicas de *Escherichia coli* em aves experimentalmente inoculadas e estudo de lesões [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1989.

Barnes HJ, Gross WB. Colibacillosis. In: Calnek BW. Disease of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p. 131-41.

Barnes HJ. Pathogenesis of respiratory *Escherichia coli* and *Pasteurella multocida* infections in poultry. Proceedings of the Symposium Respiratory Diseases of Chicken and Turkeys; 1994; San Francisco. p.26-35.

Beachey EH. Bacterial adherence: adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. Journal Infectious Diseases 1981; 143:325-45.

Benez SM. Estudo dos efeitos citotóxicos dos sobrenadantes estéreis de culturas de *Escherichia coli* de origem aviária: experimentação in vitro e in vivo [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1993.

Blanco JE, Blanco M, Mora A, Blanco J, Jansen WH, Garcia V, Vazquez ML, Blanco J. Serotypes of *E. coli* isolated from septicemic chickens in Galicia (Northwest Spain). Veterinary Microbiology 1998; 61:229-35.

Blood DC, Henderson JA, Radostits OM. Doenças causadas por bactérias. In: Blood D, Henderson JA, Radostits OM. Clínica veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1983. p. 446-511.

Bosch JFVD, Hendriks JHIM, Gladigau I, Willems HMC, Storm PK, De Graaf FK. Identification of F11 fimbriae on chicken *Escherichia coli* strains. Infection and Immunity 1993; 61:800-6.

Brenner DJ, Family I. Enterobacteriaceae. In: Krieg NR, Holt G. Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p.408-20

Carlson HC, Whenham GR. Coliform bacteria in chicken broiler house dust and their possible relationship to coli- septicemia. **Avian Diseases** 1968; 12:297-302.

Castro AGM, Ferreira AJP, Carvalho AM, Bottino JÁ. Sorogrupos de *Escherichia coli* de origem aviária. Arquivos do Instituto Biológico 1990; 57:74.

Catelli E, Cook JKA, Chesher J, Orbell SJ, Woods MA, Baxendale W, Huggins MB. The use of virus isolation, histopathology and immunoperoxidase techniques to study the dissemination of a chicken isolate of avian pneumovirus in chickens. **Avian Pathology** 1998; 27:632-40.

Czirok E, Dho M, Herpay M, Gado I, Milch H. Association of virulence markers with animal pathogenicity of *Escherichia coli* in different models. Acta Microbiológica et Hungarica 1990; 37:207-17.

De Graaf FK, Roorda I. Production, purification, and characterization of a fimbrial adhesive antigen F41 isolated from enteropathogenic *Escherichia coli* strain B41M. Infection and Immunity

1982; 36:751-8.

Dho M, Lafont JP. *Escherichia coli* colonization of the trachea in poultry: comparacion of virulent and avirulent strains in gnotoxenic chickens. **Avian Diseases** 1982; 26:187-97.

Dho-Moulin M, Bosch JF, Girardeau JP, Brée A, Barat T, Lafont JP. Surface antigens from *Escherichia coli* O2 and O78 strains of avian origin. *Infection and Immunity* 1990; 58:740-5.

Dho-Moulin M, Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary Research* 1999; 30:299-316.

Dominick MA, Schmerr MJF, Jensen AE. Expression of type 1 pili by *Escherichia coli* strains of high and low virulence in the intestinal tract of gnotobiotic turkeys. *American Journal Veterinary Research* 1985; 46:270-5.

Dozois MC, Chanteloup N, Dho Moulin M, Bree A, Desaultels C, Fairbrother JM. Bacterial colonization and in vivo expression of F1(Type 1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic *Escherichia coli*. **Avian Diseases** 1994; 38:231-39.

Dozois MC, Fairbrother JM, Harel J, Bossé M. Pap and pil-Related DNA sequences and other virulence determinants associated with *Escherichia coli* isolated rom septicemic chickens and turkeys. *Infection and Immunity* 1992; 60: 2648-56.

Ferreira AJP. Fatores de patogenicidade de *Escherichia coli* de origem aviária: Estudo comparativo entre amostras patogênicas e apatogênicas [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1989.

Ferreira AJP. Caracterização de uma hemaglutinina adesina manose resistente de *Escherichia coli* de origem aviária [doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1996.

Gaastra W, Graaf FK. Host specific fimbrial adhesins of no invasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Microbiology Review* 1982; 46:129-61.

Glantz PJ, Narotsky S, Bubash G. *Escherichia coli* serotypes isolated from salpingitis and chronic respiratory disease of poultry. *Avian Diseases* 1962; 6:322-8.

Gyimah JE, Panigrahy B, Williams JD. Immunogenicity of an *Escherichia coli* multivalent pillus vaccine in chickens. *Avian Diseases* 1986; 30:687-9.

Gyimah JE, Panigrahy B. Adhesin receptor interations mediating the attachment of pathogenic *Escherichia coli* to chicken tracheal epithelium. **Avian Diseases** 1988; 32:74-8.

Harry EG, Hemsley LA. The relationship between enviromental contamination with septicaemia strains of *Escherichia coli*. *Veterinary Record* 1965; 77:241-45.

Harry EG. The effect on embryonic and chick mortality of yolk contamination with bacteria from the hen. *Veterinary Record* 1957; 69:1433-40.

Heller ED, Uni Z, Bacon LD. Serological evidence for major histocompatibility complex (B complex) antigens in broilers selected for humoral immune response. **Poultry Science** 1991; 70:726-32.

Hewett JA, Roth RA. Hepatic and extrahepatic pathobiology of bacterial lipopolysaccharides. **Pharmacological Reviews** 1993; 45:381-411.

Hoepelman AIM, Tuomanen EI. Consequences of microbial attachment: directing host cell functions with adhesins. **Infection and Immunity** 1992; 60:1729-33.

Jann K, Jann BJ, Schmidt G. SDS polyacrylamide gel electrophoresis and serological analysis of pili from *Escherichia coli* of different pathogenic origin. **FEMS Microbiology Letters** 1981; 11:21-5.

Jann K, Jann BJ. Capsules of *Escherichia coli*. In: Sussman M, editor. *Escherichia coli: mechanisms of virulence*. Cambridge: Cambridge University Press; 1997. p.113-43.

Klemm P. Fimbriae: adhesion, genetics, biogenesis, and vaccines. Copenhagen: CRC Press; 1994.

Knöbl T. Ocorrência de fímbrias P, S e tipo 1 em *Escherichia coli* isoladas de aves com onfalite, salpingite, SCI e DRCC [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1999.

La Font JP, Dho M, D'Hauteville HW, Bre A, Sansonetti PJ. Presence and expression of aerobactin genes in virulent avian strains of *Escherichia coli*. **Infection and Immunity** 1987; 55:193-7.

Monroy MAR. Fatores de patogenicidade de *Escherichia coli* isolada de Gallus gallus (Linnaeus, 1758) com salpingite [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1992. Morley AJ, Thomson DK. Swollen-head syndrome in broiler chickens. **Avian Diseases** 1984; 28:238-43.

Nakamura K, Mase M, Tanimura N, Yamaguchi S, Yuasa N. Attempts to reproduce swollen head syndrome in specific pathogen-free chickens by inoculating with E coli and/or turkey rhinotracheitis virus. **Avian Pathology** 1998; 27:21- 7.

Naveh MW, Zusman T, Skutelsky E, Ron EZ. Adherence pili in avian strains of *Escherichia coli*: effect on pathogenicity. **Avian Diseases** 1984; 25:651-61.

Ofek I, Doyle RJ. Regulation and expression of bacterial adhesins. In: Ofek I, Doyle RJ. *Bacterial adhesion to cells and tissues*. New York: Chapman & Hall; 1993. p.239-320.

Olsén A, Jonsson A, Normark S. Fibronectin binding mediated by a novel class of surface organelles on *Escherichia coli*. **Nature** 1989; 338:652-5.

Parreira VR, Arns CW, Yano T. Virulence factors of avian *Escherichia coli* associated with swollen head syndrome. **Avian Pathology** 1998; 27:148-54.

- Pourbankhsh SA, Dho-Moulin M, Brée A, Desaultels C, Doize BM, Fairbrother JM. Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic *Escherichia coli*. *Microbial Pathogens* 1997; 22:331-41.
- Pourbankhsh SA, Boulianne M, Martineau-Doizé B, Fairbrother JM. Virulence mechanisms of avian fimbriated *Escherichia coli* experimentally inoculated chickens. *Veterinary Microbiology* 1997; 58:195-213.
- Provence DL, Curtiss III R. Role of *crl* in avian pathogenic *E coli* : a knockout mutation of *crl* does not affect hemagglutination activity, fibronectin binding, or *curl* production. *Infection and Immunity* 1992; 60:4460-7.
- Sekizaki T, Miyazaki S, Ito H, Asawa T, Nonomura I. Isolation and characterization of type I fimbriae from a chicken pathogenic *Escherichia coli* serotype O78. *The Journal of Veterinary Medical Science* 1992; 54:145-9.
- Silva EN. Características de patogenicidade em amostras de *Escherichia coli* de origem aviária [livre-docência]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1986.
- Silva GM. Estudo dos fatores de patogenicidade e origens de amostras de *Escherichia coli*, isoladas de pintos de um dia de idade (*Gallus gallus*) apresentando quadros de onfalite [doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1993.
- Sussman M. *Escherichia coli* and human disease. In: Sussman M. *Escherichia coli* mechanisms of virulence. Cambridge: University Press; 1997. p.3- 48.
- Sussman M. The virulence of *Escherichia coli*. Londres: Academic Press; 1985.
- Sussman M. *Escherichia coli*: Mechanisms of virulence. Cambridge: University Press; 1997. p.639.
- Suwanichkul A, Panigrahy B, Wagner RM. Antigenic relatedness and partial amino acid sequences of pili of *Escherichia coli* serotypes O1, O2, and O78 pathogenic to poultry. **Avian Diseases** 1987; 31:809-13.
- Suwanichkul A, Panigrahy B. Biological and immunological characterization of pili of *Escherichia coli* serotypes O1,O2, and O78 pathogenic to poultry. **Avian Diseases** 1986; 30:781-7.
- Vidotto MC, Mueller EH, Freitas JC, Alfieri AA, Guimarães IG, Santos DS. Virulence factors of avian *Escherichia coli*. **Avian Diseases** 1990; 34:531-8.
- Vidotto MC, Navarro HR, Gaziri LCJ. Adherence pili of pathogenic strains of avian *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology* 1997; 59:79-87.
- Wadström T, Trust TJ, Brooks DE. Bacterial surface lectins. *Proceedings of the 5th Lectin*

Meeting; 1982; Vern, Alemanha. p. 470-94.

Willshaw GA, Scotland SM, Rowe B. Verocytotoxin producing *Escherichia coli*. In: Sussman M. *Escherichia coli: mechanisms of virulence*. Cambridge: University Press; 1997. p.421-48.

Wooley RE, Spears KR, Brown J, Nolan LK, Fletcher OJ. Relationship of complement resistance and selected virulence factors in pathogenic avian *Escherichia coli*. **Avian Diseases** 1992; 36(3):679-84.

Wray C, Woodward MJ. Laboratory diagnosis of *Escherichia coli* infections. In: Gyles CL, editor. *Escherichia coli* in domestical animals and humans. Wallingford: CAB International; 1994. p. 595-628.

Yerushalmi Z, Smოდодinsky NI, Naveh MW, Ron EZ. Adherence pili of avian strains of *Escherichia coli* O78. *Infection and Immunity* 1990; 58:1129-31.

## Estafilococose e Estreptococose

<b>Estafilococose e Estreptococose</b>	<b>475</b>
<i>Importância econômica e em saúde pública</i>	475
<i>Etiologia</i>	475
<i>Estrutura antigênica, propriedades de virulência e patogenicidade</i>	476
<i>Epizootiologia e patogenia</i>	479
<i>Período de incubação e sinais clínicos</i>	479
<i>Mortalidade e morbidade</i>	479
<i>Lesões</i>	480
<i>Diagnóstico</i>	480
<i>Tratamento</i>	482
<i>Prevenção e controle</i>	482
<b>Bibliografia</b>	<b>482</b>

## Estafilococose e Estreptococose

Antonio J. Piantino Ferreira, Claudete S. Astolfi Ferreira

### Estafilococose e Estreptococose

As infecções causadas por *Staphylococcus sp* ou *Streptococcus sp* podem ocorrer tanto em aves comerciais como em silvestres (patos, gansos, pombos, faisões e outras espécies) e têm sido associadas a várias patologias como: osteomielite, salpingite, ooforite, onfalite, artrite, septicemia, conjuntivite, blefarite, foliculite, bursite, dermatite gangrenosa (diátese exsudativa) e celulite. Diferentes espécies de estafilococos e estreptococos são encontrados na pele normal, trato respiratório superior e trato entérico da maioria dos animais e aves.

As infecções por estafilococos ou estreptococos ocorrem de forma secundária devido a infecções bacterianas como pasteurelose, micoplasmose e coriza infecciosa das galinhas. Por vírus, como adenovírus, doença de Gumboro, leucose linfóide ou mielóide, doença de Marek, anemia infecciosa das aves (CAV) e micotoxinas. A infecção foi descrita há pelo menos cem anos e recentemente foi associada à artrite viral, otite ou blefarite heterofílica fibrinosa em reprodutoras pesadas.

### Importância econômica e em saúde pública

A estafilococose tem sido associada a vários surtos em aves comerciais, pois estes ocorrem devido a problemas de manejo ou a infecções diversas. Como as aves podem ser reservatórios desta bactéria, estas podem representar um potencial significativo nos surtos de intoxicações por *S. aureus* enterotoxigênicos. Diferentes amostras de *S. aureus* produzem enterotoxinas que causam diarreia, vômitos e dores de cabeça na ingestão de alimentos contaminados.

A estreptococose apresenta pouco impacto econômico em aves comerciais, exceto em surtos ocorridos em aves silvestres ou a imunossupressão. Também não apresenta importância significativa à saúde pública *Streptococcus sp* que comumente são isolados de aves.

Há poucas descrições de surtos de estafilococose ou estreptococose no Brasil, no entanto, sabe-se que estes ocorrem principalmente em reprodutoras e poedeiras em produção e podem ter um grande significado econômico. São provocados por *S. aureus* e outras espécies de *Staphylococcus*.

### Etiologia

O gênero *Staphylococcus* é o principal gênero da família *Micrococcaceae*, e apresenta aproximadamente 29 espécies. Destas, apenas três a quatro espécies apresentam potencial patogênico para as aves comerciais e silvestres, sendo a espécie mais importante e patogênica para as aves o *Staphylococcus aureus*. Também já foram isoladas de infecções em aves *S.*

epidermidis, *S. hyicus*, *S. intermedius* e *S. gallinarum*. A [Tabela 1](#) apresenta diferenciação dos gêneros de *cocos* Gram positivos.



Tabela 1 - Diferenciação de gêneros de *cocos* Gram-positivos, anaeróbios facultativos.

Características Streptococcus	Staphylococcus Enterococcus	
Motilidade -	d	-
Crescimento em:		
10°C D	+	D
45°C D	+	D
pH 9,6 D	+	ND
NaCl 6,5%	+	D
Bile 40% D	+	D
Reação de catalase -	-	+
Morfologia Cadeias ou pares	Grupos ou pares	Cadeias ou pares
<p>D - Há uma proporção entre as espécies que apresentam um comportamento diferente. d - 11 a 89% das amostras são positivas. ND Não determinado. - 90% ou mais das amostras são negativas. + 90% ou mais das amostras são positivas.</p>		

Em relação a morfologia apresentam-se na forma cocóide em grumos semelhantes à “cachos de uva”, Gram positivos. Culturas envelhecidas podem tornar-se Gram negativas devido à presença de autolisinas que destroem a superfície celular. As espécies de *Staphylococcus* são facilmente isoladas em meios de cultura contendo 5 a 8% de sangue de carneiro ou coelho, podendo apresentar atividade hemolítica dependendo da origem do sangue. *S. aureus* em crescimento anaeróbio facultativo por 24 horas, apresenta-se como colônias circulares, lisas, de 1 a 3mm de diâmetro, podendo ser pigmentadas variando de esbranquiçada ao alaranjado em meios sem sangue, como ágar nutriente ou BHI.

As propriedades bioquímicas encontram-se na [Tabela 2](#), que apresenta a capacidade de crescer a 15°C e 45°C, presença de pigmento, produção de ácido a partir de carboidratos, redução do nitrato, produção de coagulase, presença de proteína A (clumping factor), produção de hialuronidase, fibrinolizina, hemolisina, termonuclease e resistência a novobiocina. As espécies potencialmente patogênicas para as aves são consideradas anaeróbias facultativas.

Tabela 2 - Propriedades bioquímicas de <i>Staphylococcus</i> .				
Características	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. intermedius</i> <i>S. gallinarum</i>
Pigmento	-	+	-	d
Cresc. NaCl:				
10%	+	+	w	+
+	ND			
15%	-	d	-	ND
-	d			
Crescimento:				
15°C	+	+	-	+
+	ND			
45°C	-	+	+	+
-	+			

Produção ácido:					
Xilose		-	+	-	
-	-				
Arabinose		-	-	-	+
-	-				
Celobiose		-	+	-	
-	-				
Fucose		-	w	-	
-	-				
Rafinose		-	+	-	
-	-				
Salicina		-	+	-	
-	-				
Maltose		+	w	+	+
Manitol		+		-	-
d	+				
Trealose		+		-	+
+	+				
Lactose		+		d	+
d	d				
Galactose		+		d	+
+	+				
Melezitose		-	+	d	
-	-				

Turanose d	+	+	d	-
Ribose +	+	+	d	+
Xilitol	-	-	- d	
Hialuronidase ND	-	+	d	+
Cresc. sulfato amônio -	ND	-	-	ND
Arginina dihidrolase ds	-	+	+	+
Urease d	+	+	+	
Coagulase +	-	+	-	d
“Clumping factor” d	-	+	-	-
Fibrinolisina d	-	de	d	
Hemolisina d	w	+	-	-
DNase	+	+	- ND	

Resistência novobiocina			
(MIC $\geq$ 1,6 mg/ml)	-	-	-
	-	-	+
d - 11 a 89% das amostras são positivas. ND - Não determinado. de - Diferenciação de ecotipos. w -Reação fraca.			

O gênero *Streptococcus* pertence à família Streptococcaceae e apresenta 40 espécies, sendo que *S. suis*, *S. dysgalactiae*, *S. equi* subsp *zooepidemicus*, *S. pyogenes*, *S. bovis* e *S. agalactiae* já foram descritas em aves. As espécies *Streptococcus faecalis*, *S. faecium*, *S. durans*, *S. gallinarum* e *S. avium* atualmente classificam-se no gênero *Enterococcus*, com o mesmo nome da espécie.

*Streptococcus* sp são células esféricas ou ovóides, Gram-positivas, que se arranjam aos pares ou em cadeias, crescem em ágar sangue formando colônias de 0,5 a 1mm de diâmetro, podem produzir b hemó- lise, sem pigmentação com exceção do *S. agalactiae*. As amostras que podem infectar aves são hemolíticas.

As propriedades bioquímicas apresentam-se na **Tabela 3**, que contém a fermentação de carboidratos, produção de ácido láctico, crescimento nas temperaturas de 10°C e 45°C, crescimento na presença de bile a 40%, crescimento em NaCl 6,5%, fosfatase alcalina, teste de VP, a e b hemólise, grupo de Lancefield.

Tabela 3 - Propriedades bioquímicas de <i>Streptococcus</i> .				
Características	<i>S. suis</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. zooepidemicus</i>
<i>S. pyogenes</i>	<i>S. bovis</i>			
Cresc. NaCl 6,5%	ND	-	d	
	-	-		
Cresc. 40% bile	+	-	d	
	-	+		
Crescimento:				
10°C	ND	-	d	
	-	-		

45°C		ND	-	-
-	-	d		
pH 9,6		ND	-	-
-	-	d		
optoquina 0,25%		ND	+	+
	+		+	+
$\alpha$ hemólise		+	+	-
-	-	dw		
$\beta$ hemólise		d	-	d
+	+	-		
Hidrolise:				
Arginina		ND	+	+
+	+	-		
Hipurato		-	-	+
-	-	-		
Esculina		+	-	-
-		+		
Produção ácido:				
Inulina		+	-	-
-		d		
Lactose		+	+	d
+	+	+		
Manitol		-	-	-
-	-	d		

Rafinose	-	-	-	-
-		ND		
Ribose		ND	ND	+
+	-	-		
Salicina		+	d	d
ND	+	+		
Sorbitol		-	d	-
+	-	d		
Trealose		+	+	+
-	+	d		
Fosfatase alcalina dihidrolase	+		+	+
+	+	-		
Teste de VP		ND	-	+
-	-	ND		
Grupo Lancefield		D,R,S	C	B
C	A	D		
d - 21 a 79% das amostras são positivas. ND - Não determinado. dw - 21 a 79% das amostras são fracamente positivas.				

Atividade frente a agentes físicos e químicos A maioria das espécies de *Staphylococcus* e *Streptococcus* é suscetível à ação de diferentes tipos de desinfetantes e ao calor, no entanto a presença de secreções ou exsudatos poderá dificultar a ação dos mesmos. A amônia quaternária, glutaraldeído e dióxido de cloro apresentam atividade bacteriostática ou bactericida dependendo da concentração bacteriana ou da presença de material orgânico (exsudatos). Em algumas situações a atividade sanitizante é suficiente para diminuir o potencial infectante de amostras de *S. aureus* e *Streptococcus sp.*

A associação de princípios ativos de desinfetantes (bacteriostáticas ou bactericidas) diminui a viabilidade de *Staphylococcus sp* e *Streptococcus sp.*

### Estrutura antigênica, propriedades de virulência e patogenicidade

## Estrutura Antigênica

Staphylococci e Streptococci, assim como outras bactérias Gram positivas apresentam uma membrana citoplasmática seguida de uma parede celular contendo uma densa camada estrutural de peptídeoglicano, polissacárides e ácido teicóico.

- A membrana citoplasmática é composta de glicolipídeos (mono e diglicosíldiglicerídeo) e fosfolipídeos (lisil-fosfatidilglicerol, fosfatidil-glicerol e cardiolipina).
- A parede celular é formada por peptídeoglicano ou mureína que é um polímero poroso, insolúvel, de grande força e rigidez. É uma molécula gigante que envolve a célula como uma rede. Difere levemente em sua composição e estrutura química de uma espécie a outra, mas a estrutura básica contém N-acetilglucosamina, ácido N-acetilmurâmico e um peptídeo contendo quatro aminoácidos. Para formar a rede rígida ao redor da célula, o tetrapeptídeo ligado a um peptídeoglicano liga-se cruzadamente a outro tetrapeptídeo de outro peptídeoglicano. Contém também polissacárides, ácido teicóico que são polímeros de glicerol fosfato e ribitol fosfato, que podem ligar-se tanto aos peptídeoglicanos como à membrana citoplasmática. Existe também uma proteína importante ao desenvolvimento da virulência da maioria das amostras de *S. aureus*, que é a proteína A e a proteína M presente em *Streptococcus pyogenes*.

Vários estudos têm mostrado uma grande variedade de combinações que compõem a parede celular destas bactérias, permitindo uma variabilidade antigênica e algumas vezes atuando na modulação da virulência das mesmas.

## Propriedades de virulência e patogenicidade

As bactérias Gram positivas, incluindo *S. aureus* e diferentes espécies de *Streptococcus*, são excelentes produtoras de enzimas que são exportadas ativamente, podendo estar presentes no meio extracelular ou ligadas a membrana celular. Dessa forma, hidrolisam proteínas de origem animal, como hemoglobina, fibrina, albumina (ovoalbumina), caseína e polipeptídeos como gelatina. Assim, estas proteases, lipases e esterases sendo produzidas podem contribuir para o aumento de virulência.

*S. aureus* produz coagulases importantes que aumentam a virulência e auxiliam no diagnóstico bacteriológico. Durante a rotina laboratorial, deve-se levar em consideração que outras espécies de Staphylococci, principalmente os de origem animal, como *S. intermedius* coagulase positiva e *S. hyicus* coagulase variável podem apresentar resultados controversos, por esta razão deve-se realizar uma identificação preliminar para coagulase em *S. aureus*. Muitas amostras de *S. aureus* produzem uma fibrinolissina ou estafiloquinase que pode ser confundida com amostras coagulase-negativa devido a capacidade de hidrolizar o fibrinogênio (fibrina).

*S. aureus* produzem quatro tipos de hemolisina (exotoxina). As hemolisinas são classificadas em  $\alpha$ -hemolisina (hemólise total),  $\beta$ -hemolisina (hemólise parcial),  $\gamma$ -hemolisina (hemólise modulada pelo tipo de sangue e composição do meio) e  $\delta$ -hemolisina. As amostras de Staphylococci produzem frequentemente  $\beta$ -hemolisina que é caracterizada como uma fosfolipase C específica para a esfingomielina. As hemolisinas apresentam propriedades líticas para diferentes células e tecidos contribuindo para a virulência de *Staphylococcus sp* associado à diferentes patologias. A



toxina esfoliativa é uma exotoxina que contribui para o aumento da virulência em infecções cutâneas causando a necrolise tóxica epidermal (Diátese exsudativa)

A produção de enterotoxinas ocorre entre as amostras de *S. aureus*, causando intoxicação no homem por meio de alimentos contaminados. Não há relatos na literatura de intoxicação em aves, através de farinhas de carne, sangue e outros. Já foram identificadas e caracterizadas biológica e imunologicamente cinco tipos de enterotoxinas. São denominadas de A, B, C, D e E. A enterotoxina C, pelas propriedades antigênicas e ponto isoelétrico, subdivide-se em C1, C2 e C3.

A termonuclease, uma enzima que cliva o DNA e RNA tem sido utilizada para a detecção de *S. aureus* em alimentos. Amostras de *S. intermedius* e *S. hyicus* produzem termonuclease, assim, desenvolveu-se um teste de soroinibição que diferencia a termonuclease de *S. aureus* de outras amostras de *Staphylococcus sp.* O fator de disseminação de *S. aureus* nos tecidos musculares está ligado à produção de hialuronidase.

Outro fator de virulência importante é a proteína A ou Clumping factor de *S. aureus* que inibe a fagocitose por macrófagos, pois como esta proteína é capaz de ligar-se ao fragmento Fc da IgG, o receptor para este fragmento presente na membrana de macrófagos não consegue atuar sobre o complexo imune IgG-bactéria. Ela é também um superantígeno, portanto é capaz de interagir tanto com moléculas MHC classe II de células apresentadoras de antígeno como com o receptor para antígeno de célula T CD4+, fazendo com que ocorra a ativação de LT CD4+ e em consequência a produção de grandes quantidades de citocinas que podem levar à síndrome do choque tóxico.

Os pigmentos carotenóides responsáveis pela cor do *S. aureus* podem eliminar radicais livres de oxigênio e permitir que o organismo sobreviva a ação microbicida destes.

A patogenicidade de amostras de *S. aureus* está ligada à capacidade de expressar os fatores de virulência principalmente as amostras coagulose positiva, pois amostras coagulose negativa são menos virulentas.

## Epizootiologia e patogenia

Todas as espécies aviárias são suscetíveis à infecção por Staphylococci e Streptococci, devendo ser considerada a possibilidade de ocorrer infecção em diferentes espécies aviárias por bactérias que seriam espécie-específicas.

A infecção ocorre na maioria das vezes, quando há queda na resistência devido a infecção por outros patógenos, imunossupressão e lesões na pele ou nas mucosas. Dependendo da capacidade de expressão de fatores de virulência poderá ocorrer uma infecção localizada ocorrendo uma intensa multiplicação bacteriana no local lesado e migração de células inflamatórias; septicemias, pois estas bactérias apresentam alta capacidade de migrar da pele ou mucosa para os tecidos internos, devido à produção de hialuronidase por *S. aureus* que destrói o ácido hialurônico presente no tecido conjuntivo e coagulase, elastase por *Streptococcus sp* e estas bactérias podem escapar da ação de células fagocíticas pela presença da proteína A e proteína M, respectivamente, em *S. aureus* e *S. pyogenes*; dependendo da capacidade de multiplicação bacteriana e da ação do sistema imunológico poderá ocorrer a morte da ave. Assim, a sobrevivência e multiplicação da bactéria, nos tecidos, depende da capacidade de expressão destes fatores contribuindo para a

exacerbação da doença.

## Período de incubação e sinais clínicos

O período de incubação é variável, pois depende da integridade do sistema imune, principalmente em associação com outras enfermidades, como doenças imunossupressoras, artrites, soluções de continuidade na pele (ferimentos) e deficiências nutricionais (deficiência de selênio e vitamina E). Em geral, o período de incubação varia de três a quatro dias, para observar-se alterações clínicas como anorexia e sonolência. Experimentalmente, a capacidade de disseminação da bactéria está diretamente ligada ao potencial de virulência e à concentração de  $10^5$  a  $10^7$  UFC/ml de bactérias, que são inoculadas nas aves e o período de incubação é de 48 a 72 horas para o aparecimento dos sintomas. Devendo a via de inoculação ser intravenosa, pois as vias respiratória ou intramuscular nem sempre permitem o desenvolvimento de sinais clínicos. Em muitas situações, há apenas lesões localizadas no ponto de inoculação quando se utiliza a via intramuscular e subcutânea.

As aves infectadas apresentam penas eriçadas, dificuldade de locomoção, queda nas asas (asas caídas), queda na produção de ovos e hipertermia com aparecimento de tremores.

Com a evolução da doença, há sonolência com a observação de mortalidade no lote. É comum observar lesões localizadas na barbela e na articulação tíbio - társica ou no coxim plantar, após a infecção por *Pasteurella*, *Haemophilus* (coriza infecciosa) e artrite (vírus de artrite). Necrose condral bacteriana provocada por *S. aureus* foi identificada como uma importante causa de fraqueza nas pernas em frangos de corte.

## Mortalidade e morbidade

A morbidade e mortalidade devido à infecção por estafilococos ou estreptococos são reduzidas em lotes comerciais de aves. Sendo mais freqüente em aves ornamentais, esportivas e silvestres (zoológicos). No entanto, deve-se levar em consideração a presença de doenças intercorrentes que possam colaborar na invasão dos tecidos por *Staphylococcus sp* e *Streptococcus sp*.

Nota-se um aumento de incidência de infecções por *Staphylococcus sp* e *Streptococcus sp* quando há problemas no manejo de equipamentos (comedouros automáticos e ninhos) em galpões de reprodutoras devido aos ferimentos na pele e pernas. Assim como, no momento da vacinação parenteral (bouba e vacinas oleosas), pois a bactéria presente na pele ou ambiente avícola poderia contaminar a ave ou também através de transporte pelo homem durante o manejo das aves. Em aves comerciais existe uma maior freqüência de problemas de perna, como fraqueza, fragilidade óssea e artrite, enquanto que em aves silvestres e ornamentais, há septicemias. As dermatites grangrenosas e septicemias apresentam incidência baixa em aves comerciais, ocorrendo em aves ornamentais, mas quando isto acontece geralmente é fatal. Tem sido observado, no Brasil, em lotes de reprodutoras pesadas, a ocorrência de blefarite, edema ocular com presença de exsudato caseoso que leva a perda do globo ocular, onde isolou-se *Staphylococcus*.

## Lesões

Em infecções por *Staphylococcus sp* (*S. aureus*, *S. hyicus*, *S. epidermidis*) em aves comerciais observa-se osteomielite com fragilidade de cabeça do fêmur durante o deslocamento da articulação femoral à necropsia. Os cêndilos articulares encontram-se quebradiços, frágeis e com coloração alterada para o amarelo, há congestão com presença de exsudato caseoso. Também pode ser encontrado artite, sinovite, periartrite quando associado à artrite viral e infecção por *Mycoplasma synoviae*. Encontra-se nas articulações afetadas edema, aumento da temperatura local e presença de exsudato inflamatório.

As lesões presentes em infecções sistêmicas consistem em necrose e congestão vascular nos órgãos internos como baço, fígado (ver **Figura D**), rins e pulmão. As lesões decorrentes da dermatite gangrenosa são alterações na coloração da pele com crepitação à palpação. São encontrados em reprodutoras pesadas, uma infecção ocular que leva a perda do globo ocular (ver **Figura A**), que pode ser uni ou bilateral. Observa-se inicialmente um edema ocular (palpebral) que evolui com presença de exsudato caseoso e conseqüente aumento de volume do espaço periocular (ver **Figuras B e C**), há perda da função visual, geralmente unilateral como pode ser observado nas **Figuras A, B e C**. Isto tem sido a causa de perdas significativas em lotes de reprodutores pesadas em produção. Abscessos no coxim plantar são muito comuns em granjas onde há problemas com a cama (fragmentos de madeira de tamanho grande ou de madeira muito dura), pois podem ocorrer lesões leves e escoriações severas que permitem a entrada de bactérias patogênicas, com quadro de abscessos que podem evoluir para osteomeilites, artrites e septicemias.



**Figura A** - Mostra a perda do globo ocular após infecção com o *Staphylococcus hyicus* por heterofilica fribriosa.



**Figura B** - Apresenta edema palpebral com presença do exsudato caseoso.



**Figura C** - Mostra aumento de volume do espaço periocular Blefarite.



**Figura D** - Fígado apresentando congestão passiva, necrose focal e lesões puntiformes de coloração esbranquiçada.

Nota-se em casos de infecção sistêmica, uma alteração na coloração do fígado com coloração esverdeada e acastanhada. O órgão pode apresentar pontos esbranquiçados de tamanhos variados, desde 1 a 4mm (ver [Figura D](#)) com hepatomegalia e necrose focal. Estes mesmos focos necróticos

também podem ser encontrados no tecido esplênico. Estas alterações hepáticas podem resultar na elevação de condenação de carcaças em abate-douros. As lesões provocadas por *Staphylococcus* têm sido associadas a necroses e infiltrado heterofílico e formação de granulomas.

*Streptococcus* causa esplenomegalia e hepatomegalia com ou sem focos necróticos, aumento do tamanho dos rins, peritonites e onfalite. Em casos de infecção sistêmica, o fígado apresenta-se dilatado com congestão de sinusóides e aumento de heterófilos. Observa-se áreas de necrose e infarto com acúmulo de heterófilos e trombozes. A esplenomegalia é caracterizada por congestão e hiperplasia reticuloendolial. *Streptococcus* sp (*S. equi* subsp. *zooepidemicus*, *S. suis*, *S. disgalactiae* e *S. bovis*) causam várias infecções que evoluem para o estado crônico, como artrite fibrinosa, tenosinovite, osteomielite, salpingite, pericardite e perihepatite fibrinosa, miocardite e endocardite valvular. As alterações microscópicas na endocardite valvular são caracterizadas por deposição de fibrina e aderência de heterófilos, macrófagos e fibroblastos. Há lesões no fígado caracterizadas por áreas de infarto com trombose venosa portal evoluindo para necrose.

## Diagnóstico

### Diagnóstico necroscópico

As alterações anatomopatológicas são importantes no direcionamento do diagnóstico bacteriológico da doença. Deve-se então realizar o diagnóstico diferencial com doenças bacterianas como colibacilose, coriza, pasteurelose e micoplasmose. O diagnóstico diferencial entre estafilococose e estreptococose deve ser feito preferencialmente pelo isolamento e caracterização do agente.

### Diagnóstico bacteriológico

Os fragmentos ou suabes dos órgãos acometidos devem ser cultivados em caldo BHI ou semeados diretamente em ágar sangue de carneiro 5 a 8%.

O material deve ser incubado a 37°C por 24 a 48 horas. Quando necessário submete-se a incubação em anaerobiose, pois algumas espécies apresentam crescimento nestas condições. Após 24 horas, observa-se colônias de 1 a 3mm de diâmetro com hemólise total (b) ou parcial (a) em *Staphylococcus aureus* e outras espécies como *S. hyicus* não produzem hemólise. As colônias de *Streptococcus* sp geralmente apresentam-se com diâmetro de 0,5 a 1,5 mm e são  $\alpha$ -hemolíticos (total) e  $\beta$ -hemolíticos (parcial) em ágar sangue. Após o isolamento em cultura pura, deve-se realizar a coloração de Gram e os testes bioquímicos para a caracterização das espécies de *Staphylococcus* e *Streptococcus*, como pode ser observado nas [Tabelas 2 e 3](#). Deve-se realizar a prova de coagulase (Oumping factor seguido do teste de coagulase em tubo) e catalase para diferenciar *S. aureus* de outras espécies de *Staphylococcus* e de *Streptococcus*, respectivamente. O emprego de técnicas sorológicas não é uma prática comum no diagnóstico de estafilococose e estreptococose.

### Diagnóstico diferencial

O diagnóstico diferencial deve ser realizado, pois as alterações anatomopatológicas são muitas

vezes semelhantes à infecções causadas por *Escherichia coli* (infecção sistêmica), *Pasteurella multocida* (infecção sistêmica), *Mycoplasma synoviae* (problemas de perna e artites), artrite viral (artrites), tifo aviário, pulorose e deficiências nutricionais e a mortalidade e morbidade podem ser semelhantes a estas infecções. O isolamento e identificação dos agentes infecciosos é a melhor opção para estabelecer-se o diagnóstico destas enfermidades.

## Tratamento

O uso de medicamentos antimicrobianos é a forma mais eficaz de controlar as infecções causadas por diferentes espécies de *Streptococcus* e *Staphylococcus*. Devido ao aumento substancial de resistência aos antibióticos, recomenda-se a realização de testes de suscetibilidade a drogas antimicrobianas. Estes agentes geralmente são suscetíveis à penicilina, ampicilina e eritromicina, estreptomicina, tetraciclina, oxitetraciclina, novo- biocina, enrofloxacina e danofloxacina. O uso de suplementos vitamínicos associados à substâncias imunoestimulantes são uma opção na terapia antimicrobiana que acelerará a recuperação clínica do lote.

## Prevenção e controle

As infecções causadas por estafilococos e estreptococos são consideradas secundárias e dependem de agentes imunossupressores (doença de Gumboro, anemia infecciosa das aves, doença de Marek, leucose linfóide e mielóide), doenças respiratórias (BIG, doença de Newcastle e vírus vacinais). Assim como, as deficiências de manejo, deficiências nutricionais, problemas de manejo de equipamentos (comedouros, bebedouros, gaiolas e ninhos) são fatores predisponentes que tornam as aves suscetíveis à infecções por estes agentes.

O controle das enfermidades aliadas aos programas de vacinação eficientes, nutrição balanceada, manejo adequado e monitoria de doenças contribuem para diminuir as infecções por estes microrganismos em aves comerciais. O uso de vacinas contra estafilococos e estreptococos não é uma prática usual na avicultura, embora possa ser utilizada no controle destas infecções quando há resistência múltipla aos medicamentos disponíveis. Geralmente, o uso de bacterinas inativadas homólogas são eficazes no controle da enfermidade em reprodutoras pesadas em produção, evitando-se assim maiores perdas devido a mortalidade.

## Bibliografia

Jensen MM, Skeeles JK. **Staphylococcosis**. In: Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MW, Pearson, JE, Reed WM, editors. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. Kennett Square, Pennsylvania, USA: The American Association of Avian Pathologists; 1998.

Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR. **Microbiology concepts and applications**. New York: McGraw-Hill; 1993.

Tizard I. **Veterinary immunology an introduction**. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1996.

Wages DP. **Streptococcosis**. In: Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MW, Pearson JE, Reed WM. editors. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. Kennett Square, Pennsylvania, USA: The American Association of Avian Pathologists; 1998.

<b>Introdução</b>	<b>485</b>
<b>Histórico</b>	<b>486</b>
<i>Distribuição e ocorrência</i>	487
<i>Patogenicidade e virulência</i>	488
<i>Imunidade</i>	489
<i>Transmissão e patogenia</i>	490
<i>Manifestações clínicas</i>	490
<i>Alterações anatomopatológicas</i>	490
<i>Diagnóstico</i>	491
<i>Prevenção e controle</i>	492
<i>Tratamento</i>	495
<b>Bibliografia</b>	<b>495</b>

Elmiro Rosendo do Nascimento, Virginia Léo de Almeida Pereira

## Introdução

As micoplasmoses aviárias são enfermidades causadas por micoplasmas, os menores procariontes (bactérias) conhecidos, que se assemelham, em tamanho, aos grandes vírus (cerca de 300nm). Esses microrganismos têm predileção pelas membranas mucosas e serosas das aves, onde provocam problemas respiratórios, articulares e urogenitais. As formas clássicas dessas enfermidades são a Doença Crônica Respiratória (DCR) das galinhas, a Sinusite Infecciosa dos perus, a Sinovite Infecciosa e Aerossaculite das aves.

Desprovidos de parede celular, os micoplasmas foram considerados, por muito tempo, parasitas exclusivos do ambiente extra-celular. Atualmente, admite-se a existência de espécies de vida intracelular e outras que o fazem opcionalmente. A ausência de parede celular nos micoplasmas os torna naturalmente resistentes aos antibióticos que atuam impedindo a síntese da parede celular das bactérias, a exemplo das penicilinas (Razin & Tully, 1995).

Reconhecem-se *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *Mycoplasma synoviae* (MS) e *Mycoplasma meleagridis* (MM) como patógenos indiscutíveis e de preocupação para a indústria avícola, enquanto *Mycoplasma Iowae* (MI) é considerado um agente emergente (Yoder Jr., 1991a; Kleven, 2003a). Todos esses micoplasmas podem causar doenças sub-clínicas ou aparentes em galinhas, perus e em outras aves (Yoder Jr., 1991a; Nascimento *et al.*, 1982; Kleven 2003a).

As perdas econômicas atribuídas às micoplasmoses por MG, MS e MM, são devidas à queda na produção e qualidade dos ovos, à má eclodibilidade (altas taxas de mortalidade embrionária e refugos), à queda na eficiência alimentar, às altas taxas de mortalidade e condenação de carcaças e ao alto custo da medicação (Vardaman *et al.*, 1973; Carpenter *et al.*, 1981; Balém & Fiorentin, 1990; Yoder Jr., 1991a; Kleven, 2003a). As perdas por MS podem se manifestar por indícios de imunossupressão, levando a um aumento no coeficiente de mortalidade na fase final do lote em cerca de 1% a 10%, quando comparado à mortalidade em frangos de corte livres de MS (Kleven, 2003b). Alguns autores acham que a infecção por MS não afeta a produção de ovos, enquanto outros informam que pode haver queda na postura, de 5-10%, e na eclodibilidade, em 5 a 7% (Miller Jr., 1994; Stipokvits & Kempft, 1996). Segundo estudos realizados nos EUA, uma galinha infectada com MG produz 15,7 ovos a menos que outra sadia (Carpenter *et al.*, 1981).

No Brasil, como estimativa de prejuízos pelas infecções micoplásmicas, calcula-se que anualmente 30 mil toneladas de carne de frango são perdidas na fase final de produção, por problemas respiratórios, o que acarreta um prejuízo de 30 milhões de dólares por ano (Anônimo, 1994). A prevalência da infecção por MS em planteis avícolas tem-se acentuado a partir da década de 80, o que tem coincidido com a intensificação do combate a infecção por MG, segundo



observação prévia (Balém & Fiorentin, 1990). Para que se tenha uma avaliação melhor da magnitude desse problema, é importante mencionar que a infecção por MG, isoladamente, está sendo considerada como uma das doenças que mais causa prejuízos à avicultura industrial (Mohamed *et al.*, 1987; Balém & Fiorentin, 1990; Miller, 1994).

## Histórico

Microrganismos do gênero *Mycoplasma*, causadores de doenças em plantas, no homem e em outros animais, foram cultivados pela primeira vez em 1898 em referência ao agente etiológico da Pleuropneumonia Contagiosa dos Bovinos (PPCB). Com o passar do tempo, eles receberam a denominação de pleuropneumonia like organisms (PPLo), organismos semelhantes àqueles causadores da PPCB (Davis *et al.*, 1973).

Acredita-se que a Micoplasmose Aviária foi primeiramente descrita em perus por Dodd, na Inglaterra, em 1905, sob a denominação de Pneumoenterite Epizootica, mas se tornou conhecida após 1938, com Dickinson e Hinshaw, sob a denominação de Sinusite Infecciosa dos Perus. A micoplasmose em galinhas foi descrita por Nelson em 1935. Delaplane e Stuart, em 1943, isolaram e cultivaram o agente da DCR e da Sinusite Infecciosa dos Perus. Em 1952, Markham e Wong associaram o agente etiológico da DCR à Sinusite Infecciosa dos Perus, enquadrando-o como membro do grupo PPLo, posteriormente denominado MG. MS, segundo informação prévia, foi descrito por Olson em 1954 como causador da Sinovite Infecciosa que acometia perus àquela época. A infecção por MS com manifestações articulares começou a ser observada em granjas de frangos de corte durante as décadas de 50 a 60. Somente em 1970 foi descrita a forma respiratória, em que o MS pode ou não estar associado ao MG ou a outros agentes como *Escherichia coli* ou a vírus da Doença de Newcastle e a Bronquite Infecciosa, inclusive os vacinais, complicando os quadros clínico e patológico (Rosales, 1991; Kleven, 2003a).

A associação da aerossaculite "tipo um dia" por MM em perus após nascimento foi observada primeiramente por Adler *et al.*, 1958.

No Brasil, o primeiro diagnóstico publicado da DCR foi realizado em São Paulo (Garust & Nobrega, 1956). Ainda nesse estado, verificou-se que a DCR ocupava o 10º lugar entre as doenças diagnosticadas no Instituto Biológico (Bueno *et al.*, 1962) e que, de 1961 a 1967, a prevalência da DCR havia aumentado, o que a levou a alcançar o 5º lugar entre as doenças diagnosticadas (Bueno *et al.*, 1971). Em Minas Gerais, nos anos de 1967 e 1968, obteve-se, por sorologia, as prevalências respectivas de 25,7% e 32,8% para MG e, por ocasião desse mesmo estudo, isolaram-se 110 cepas de campo de micoplasma, a partir de um total de 387 aves e embriões cultivados (Resende *et al.*, 1968). Dentre esses isolados foram obtidas cepas de MG (Resende *et al.*, 1969a) e MM (Resende *et al.*, 1969b). Posteriormente, isolou-se MG de casos de Sinusite Infecciosa em perus (Reis *et al.*, 1969), quando se constatou que, nessas aves, a infecção por MG era muito mais elevada do que por MM (Reis *et al.*, 1973). Ainda em Minas Gerais, foi realizado um levantamento sorológico para MG, em 2.223 galinhas de 57 municípios, onde foi constatada uma prevalência de 33,4% (Oliveira, 1973).

No Rio de Janeiro, conforme arquivos do Setor de Ornitopatologia-EMBRAPA, as micoplasmoses ocuparam o primeiro lugar entre as doenças diagnosticadas nos anos de 1980 a

1985. Durante esse período, obteve-se o isolamento de MG de embriões, provenientes de ovos bicados e não nascidos, de galinhas (Nascimento *et al.*, 1982a) e perus (Nascimento *et al.*, 1984) e de codornas (Nascimento & Nascimento, 1986). Isolou-se também MM de perus (Nascimento *et al.*, 1982b), M. iners de galinhas (Nascimento & Nascimento, 1984), além de outros micoplasmas aviários não tipificados (Nascimento *et al.*, 1984a, 1984b). Ainda no Rio de Janeiro, desenvolveram-se trabalhos sobre a elaboração de antígenos de MM para sorrea- glutinação rápida (SAR) e Inibição da Hemaglu- tinação (HI) para MG, MM e MS (Nascimento & Nascimento, 1982). Também foi obtida no Rio de Janeiro a erradicação de MG e MS com a utilização de tratamento antibiótico em ovos aliado a outras medidas de manejo (Fiorentin *et al.*, 1992; Migaki *et al.*, 1993; Nascimento, 2005).

Outros trabalhos pioneiros no Brasil originaram- se do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves da Embrapa, Concórdia - SC a exemplo de pesquisas sobre a eficiência da cepa MG-F como vacina viva em galinhas (Balém *et al.*, 1992), sobre a patogenicidade de amostras de MS em embrião de galinha e em pomba-rola (Fiorentin *et al.*, 1992, Fiorentin & Jeanisch, 1994), diagnóstico e patogenicidade de MG em galinhas (Fiorentin *et al.*, 1994), elaboração de antígenos com amostras de MG e MS isoladas no Brasil (Fiorentin & Silveira, 1994a, 1994b) e produção de anticorpo monoclonal para MG (Silveira *et al.*, 1993).

O diagnóstico de MG e MS pelo uso de reação em cadeia da polimerase - PCR teve a participação pioneira de pesquisadores brasileiros (Nascimento & Yamamoto, 1991; Nascimento *et al.*, 1991; Nascimento *et al.*, 1993; Nascimento *et al.*, 1994; Silveira *et al.*, 1996).

## Distribuição e ocorrência

As micoplasmoses aviárias têm distribuição universal, de acordo com informações prévias sobre MG, MS, MM, MI e outros micoplasmas (Yoder Jr., 1991a; Kleven, 2003a). Dentro da classe Mollicutes (micoplasmas) 20 espécies com características individuais ([Tabela 1](#)) e pertencentes a três diferentes gêneros (Acholeplasma, Mycoplasma e Ureaplasma), já foram isoladas de aves (Nascimento *et al.*, 1982b; Kleven, 2003a). O reservatório natural do MG e do MS são as membranas mucosas do trato respiratório superior e genital (com menor frequência) das galinhas e perus. O habitat natural do MM são as mem- branas mucosas do trato genital (cloaca e oviduto) e respiratório dos perus e, no caso do MI, são as mucosas do trato intestinal e genital dos perus, podendo ocorrer também em galinhas.

Tabela 1 - Micoplasmas aviários, seus hospedeiros e suas principais características bioquímicas.

Micoplasmas	Hospedeiro	Glicose
Arginina      Fosfatase		
M. gallisepticum +	Galinha PeruCodorna -	-

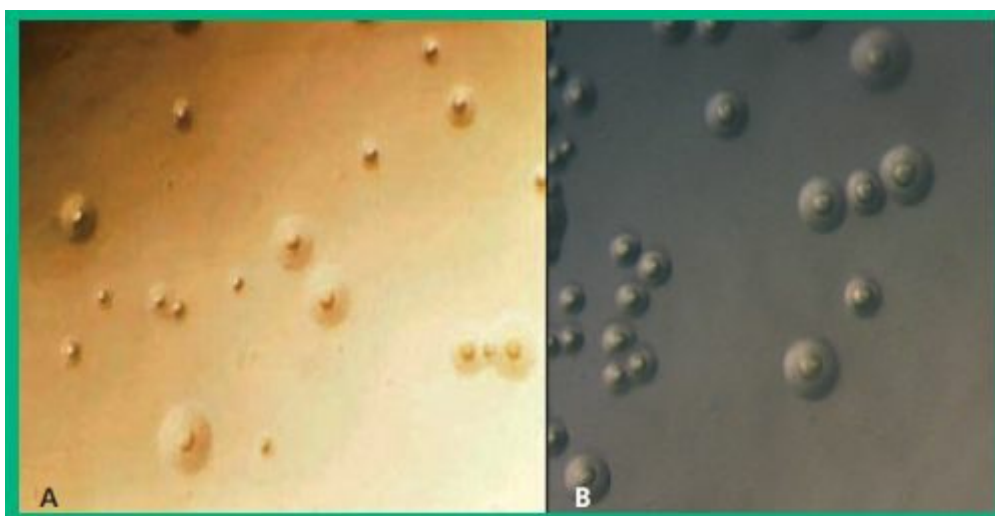
M. synoviae			Galinha PeruCodorna
+	-	-	
M. meleagridis			Peru
-	+	+	
M. iowae*			Galinha Peru
+	+	-	
M. gallopavonis			Peru
+	-	-	
M. cloacale			Peru
-	+	-	
M. gallinarum			Galinha
-	+	-	
M. gallinaceum			Galinha
+	-	-	
M. pullorum			Galinha
+	-	-	
M. iners			Galinha
-	+	-	
M. lipofaciens			Galinha
+	+	+	-
M. glycophilum			Galinha
+	-	+ ou -	
M. columbinasale			Pombo
-	+	+	
M. columbinum			Pombo

-	+	-	
M. columborale		Pombo	
+	-	-	
M. anatis		Pato	
+	-	+	
M. anseris		Ganso	
	-	+	-
Ureaplasma spp.		Galinha	
-	-	Nt	
U. gallorale		Galinha	
-	-	Nt	
Acholeplasma laidlawii		Vários	
+		-	-
<p>+ = reação positiva para a fermentação de glicose, hidrólise de arginina ou atividade da fosfatase.- = reação negativa para os mesmos testes bioquímicos acima.* = crescimento em presença de sais da bile.Nt= não testado. Etiologia.</p>			

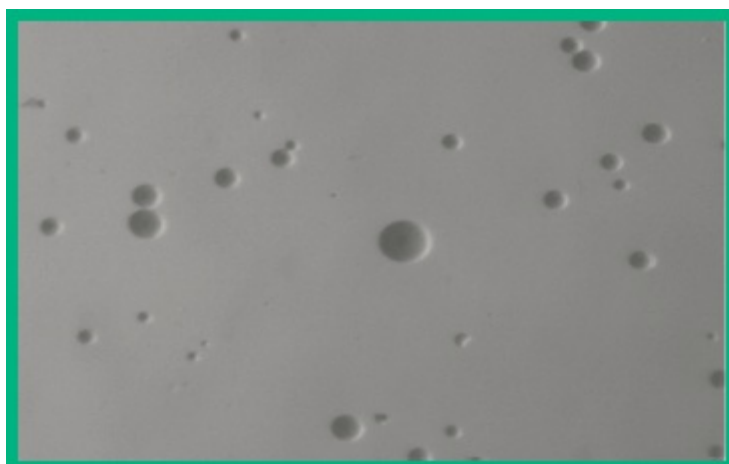
Mycoplasma é a denominação trivial para os microrganismos da divisão Tenericutes e da classe Mollicutes (Mollis = macio, cutis = pele), caracterizados pela ausência de parede celular, decorrente da falta de informação genética para sua síntese - fato este que mais os distingue das bactérias verdadeiras. Dentro da classe Mollicutes existem cinco ordens e seis famílias, mas as únicas de interesse para as aves, além de serem as de maior importância para os outros animais, inclusive o homem, são as famílias Mycoplasmatacae, com os gêneros Mycoplasma e Ureaplasma e a Acholeplasmatacae, com o gênero Acholeplasma (Yamamoto, 1990).

Os microrganismos do gênero Mycoplasma, principais Mollicutes de interesse aviário, têm formato cocóide, cocobacilar ou pleomórficos, medem 200 a 300nm, são Gram negativos, mas se coram pelo Giemsa ou outros corantes similares (Yoder Jr., 1991a; Kleven, 2003a). Os micoplasmas têm outras particularidades, como colônias na forma mamilar ou de ovo frito ([Figura 1](#)), capacidade de reter o corante de Dienes ao contrário das outras bactérias ([Figura 2](#)), variam de 0,1 a 1,0mm de diâmetro quando cultivados em meio sólido, apresentam crescimento para dentro do ágar, com início pela parte central da colônia, filtrabilidade em presença de filtros de 300 a 450nm de poro, neutralização em cultivo por anticorpos específicos, o que permite sua

identificação por soroneutralização, cujo teste pode ser denominado de Inibição de Crescimento ou Inibição de Metabolismo e incapacidade de reversão à forma típica de bactéria com parede celular e necessidade de lipídios, principalmente colesterol, para o crescimento (Razin & Tully, 1983).



**Figura 1** - Colônias de *Mycoplasma synoviae* (A) e *Mycoplasma gallisepticum* (B) em Meio sólido de Frey modificado. Colônias em forma de ovo frito ou mamilar. Aumento 100X.



**Figura 2**- Colônias de *Mycoplasma synoviae* em Meio sólido de Frey modificado coradas em azul quando submetidas ao teste de Dienes. Aumento de 100X.

Apesar da ausência de parede celular, os micoplasmas podem sobreviver sob forma desidratada por vários dias, desde que protegidos da luz solar. As melhores formas de se manter os micoplasmas são o congelamento a  $-70^{\circ}\text{C}$  ou a liofilização, contudo, pode-se obter a sobrevivência deles, por vários anos, com o cultivo líquido adicionado de 50% de glicerina e subsequente estocagem em congelador comum ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) (Nascimento & Nascimento, 1984). Existem várias cepas de MG, diferenciadas fenotípica e genotipicamente (Khan et al., 1987, 1989; Kleven, et al., 1990; Nascimento et al., 1991), que apresentam graus diversificados de patogenicidade e virulência entre elas e que podem também diferir quanto a imunogenicidade provocada nas aves por elas infectadas. Em relação aos demais micoplasmas, também se constata diversidade de cepas, quanto aos graus de patogenicidade (no caso do MS), além de variações quanto patogenicidade e composição cromossômica, em se tratando de MM (Kleven, 1991, 2003b; Yamamoto, 1991; Chin et al., 1993).

## Patogenicidade e virulência

Os micoplasmas não apresentam membrana nuclear e possuem membrana plasmática tríplice composta de proteínas, glicoproteínas, glicolipídeos e fosfolipídeos que constituem os determinantes antigênicos mais importantes, capazes de estimular o sistema imune do hospedeiro nas repostas humoral e celular, bem como de funcionar como fatores tóxicos e mitogênicos (Yamamoto, 1990; Razin *et al.*, 1998).

A infecção depende, em primeiro lugar, de propriedades dos micoplasmas que os tornam capazes de se fixar às membranas mucosas, principalmente do trato respiratório, alimentar e urogenital e de evitar o sistema de defesa do hospedeiro (Whitford *et al.*, 1993). Em MG e outros micoplasmas foram observadas, por microscópio eletrônico, estruturas terminais especializadas e projeções fimbriares, com funções de motilidade e aderência às células das membranas mucosas do hospedeiro. Um agente se fixa a um tipo de célula do hospedeiro por meio de laços ligante-receptor. O ligante, geralmente, é uma proteína, mas o receptor pode variar e, no caso do MG, é a sialoglicoproteína. Algumas cepas de MG secretam toxinas, neurotrópicas e letais para perus e galinhas.

Outros fatores produzidos pelos micoplasmas (hemolisinas, fatores ciliostáticos, proteases, nucleases) ao interagirem com as células hospedeiras, podem levar à morte celular ou induzir a uma infecção crônica. As hemolisinas têm sido identificadas como sendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Várias reações imunológicas induzidas pelos micoplasmas também contribuem para agravar o mecanismo de patogenicidade. O poder mitogênico dos micoplasmas sobre os linfócitos B e T pode ser responsável pela infiltração linfocitária que ocorre após o estabelecimento da infecção do sistema respiratório, dos tecidos articulares, dos sistemas urogenital ou do digestivo.

Contrariamente, os heterófilos são as primeiras células de defesa a comparecerem e proliferarem no local inicial de um processo de infecção bacteriana aguda. Podem ocorrer, também, consequências como destruição do tecido parasitado por ação das linfoxinas decorrentes de células T-citotóxicas, ou imunossupressão temporária por ação de células T-supressoras proliferadas pela ação mitótica dos micoplasmas (Whitford *et al.*, 1993). Estudos com aves SPF inoculadas com MS e vacinadas contra a doença de Newcastle demonstram a interferência da infecção deste micoplasma sobre a resposta humoral à vacinação dessa virose (Silva, 2003).

Outros mecanismos de patogenicidade, como a íntima associação dos micoplasmas com as células do hospedeiro, podem levar à lise de células infectadas pela ação de anticorpos anti-micoplasma e do sistema complemento. Doenças por imunodeficiência têm sido verificadas em galinhas após a infecção por MS ou MG, devido a anticorpos e células imunes direcionadas contra antígenos comuns ao micoplasma e ao hospedeiro, presentes principalmente em eritrócitos (mímica biológica) ou por deposição de complexos imunológicos (Fator Reumatóide).

Além desses mecanismos para produção de doença, o micoplasma pode passar à forma latente e aguardar um estado de debilitação do hospedeiro ou mesmo o seu deslocamento (infecção por vírus ou bactérias) do local de permanência (habitat), para iniciar um quadro mórbido (Whitford *et al.*, 1993; Chin *et al.*, 2003; Kleven, 2003a). O estado de latência, onde o micoplasma não é reconhecido pelo sistema imune do hospedeiro, é explicado pela sua localização intracelular, que pode ser de forma espontânea, a exemplo do M. penetrans ou forçada, a exemplo do MG e outros, devido a pressão ambiental, principalmente aquela exercida por antimicrobianos nos tecidos do

hospedeiro (Yamamoto, 1990; Razin *et al.*, 1998).

Os micoplasmas são mais suscetíveis a mutações que outras bactérias (Woese *et al.*, 1985). Isso pode ser explicado pela deficiência no sistema de reparo do DNA desses Mollicutes (Ghosh *et al.*, 1977). As modificações freqüentes nos antígenos de superfície facilitam o escape do micoplasma do sistema imune do hospedeiro, facilitando sua sobrevivência quando aderido a mucosa do trato respiratório das aves, conforme comprovado para MG (Markhan *et al.*, 1996). As proteínas de superfície que mais sofrem variações são as de citoaderência ou citoadesinas, como pMGA (hemaglutininas), MGC1, MGC2 e PvpA para Mg e MSPA e MSPB para MS (Razin *et al.*, 1998; Bencina, 2002).

## Imunidade

A imunidade mediada por células e a imunidade humoral têm grande importância na proteção das aves contra MG (Mukherjee *et al.*, 1990; Czifra, 1999).

A aderência dos micoplasmas às membranas das células alvo dos hospedeiros ou ainda a possibilidade de multiplicação no interior das mesmas podem torná-las alvo dos linfócitos T citotóxicos (Winner *et al.*, 1998). A resposta linfo-proliferativa ocorre logo após o início da infecção e declina em torno da quarta semana. A idade da ave influencia a intensidade da resposta linfo-proliferativa, sendo mais intensa em aves mais jovens, possivelmente devido ao estado funcional dos linfócitos ou das células apresentadoras de antígenos.

A resposta humoral tem sido estudada em aves naturalmente infectadas e vacinadas. Em geral, o nível de anticorpos circulantes não está correlacionado com proteção efetiva, mas pode estar relacionado com a redução da gravidade das lesões. Isto sugere que a proteção é mediada principalmente pela resposta local de IgG e IgA, que está associada com o grau de proteção (Yagihashi & Tagima, 1986; Ellakany *et al.*, 1998)

Estudos de inoculação de MG em aves SPF têm sido feitos para avaliar a dinâmica da resposta imune, verificando que a mobilização celular na traquéia inicia-se antes da resposta sorológica (Chhabra & Goel, 1980; Nascimento *et al.*, 2003; Demarque *et al.*, 2004, 2005) e que a detecção da resposta humoral ocorre em tempo e intensidade diferentes, de acordo com o teste sorológico e a cepa de MG utilizados (Nascimento *et al.*, 2006). Após a ligação do MG à membrana das células do trato respiratório do hospedeiro por meio das proteínas de ligação, ocorre a indução de diferentes classes de imunoglobulinas contra esses polipeptídeos. Isto representa a primeira linha de defesa contra MG, dificultando a ligação dos micoplasmas às células do trato respiratório das aves.

## Transmissão e patogenia

A transmissão dos micoplasmas geralmente ocorre dentre ou entre espécies de hospedeiros estreitamente relacionados; i.é, com raras exceções, eles são hospedeiro-específicos (Yoder Jr., 1991a; Kleven, 2003a). Os micoplasmas são transmitidos horizontalmente por aerossóis, venerealmente durante o acasalamento ou inseminação artificial, por contágio direto com outras aves ou indireto por intermédio de pessoas, animais, ração, água, fômites. Verticalmente, esses microrganismos são transmitidos pelo ovo, o qual se infecta ao tocar os sacos aéreos abdominais

lesados após a liberação pelo oviduto e antes de atingir o infundíbulo. Subseqüentemente pode haver a contaminação do oviduto pelo ovo infectado, facilitando a infecção de futuros ovos.

O período de incubação varia de 6 a 21 dias em infecção experimental. Pode aparecer sinusite em perus, espécie de maior suscetibilidade, em períodos de 6 a 10 dias. Entretanto, em condições naturais, é muito difícil determinar a data de exposição das aves envolvidas. Em condições naturais, tem-se observado que aves infectadas verticalmente pelo ovo desenvolvem infecção em torno de 6 a 10 dias de idade, mas quando a transmissão é horizontal, são necessários 15 a 21 dias para o início da infecção (Yoder Jr., 1991a; Whitford *et al.*, 1993; Kleven, 2003a).

## Manifestações clínicas

As doenças causadas por micoplasmas podem ser agudas, mas elas são normalmente crônicas e é comum a infecção inaparente, somente evidenciada por teste diagnóstico.

Os sinais clínicos e lesões das micoplasmoses em aves estão primeiramente confinados ao trato respiratório, seguido do sistema articular e, menos freqüentemente, de outras partes. As doenças classicamente conhecidas são DCR das galinhas e Sinusite Infecciosa dos perus, causadas por MG, a Sinovite Infecciosa por MS e Aerossaculite das aves por MM, MG e MS.

A DCR é a infecção por MG do trato respiratório superior das galinhas, acometendo também outras aves que podem apresentar edema facial ([Figura 6](#)), passando a emitir um estertor respiratório, conhecido como "ronqueira" entre os criadores. Essa ronqueira, característica de galinhas com DCR, também pode ser observada em perus, principalmente nas horas frescas e silenciosas do dia. Quando os sacos aéreos são também atingidos e apresentam depósitos de fibrina, quer pelo envolvimento de outros agentes, como vírus respiratórios ou *Escherichia coli*, têm-se usado a denominação de DCR Complicada. Entretanto, as infecções inaparentes são as mais comuns e mais preocupantes, devido aos prejuízos que causam (Yoder Jr., 1991a, 1991b; Kleven, 2003a; Ley, 2003).

A infecção por MS em galinhas e perus pode provocar, com mais evidência, problemas locomotores como edema articular nas patas e pés que podem resultar em aumento de casos de calos no osso do peito. As aves aparecem com retardo no crescimento, penas arrepiadas e palidez nos casos mais graves. MS também pode provocar aerossaculites, mas normalmente as aves infectadas são assintomáticas e apenas evidenciadas nas condenações ao abate. Quedas na produção de ovos podem estar relacionadas à infecção por MS (Vardaman *et al.*, 1973; Miller Jr., 1994; Stipkovits & Kempft, 1996; Kleven, 2003b).

Na infecção por MM raramente são observados sinais clínicos em aves adultas, mas provoca altos coeficientes de aerossaculites em peruzinhos. MM, em geral, age sinergicamente com MI e MS nos casos de aerossaculite e sinusite. Também têm sido descritos casos de anormalidades ósseas como deformações nas vértebras cervicais e encurtamento do osso tarso-metatarso, além de retardo no crescimento e empenamento irregular (Chin *et al.*, 2003).

## Alterações anatomopatológicas

Macroscopicamente são encontradas inflamações catarrais nas fossas e seios nasais, faringe,



traquéia e brônquios nos casos de doença respiratória por MG, MS e MM. Os sacos aéreos apresentam-se espessados e opacos e podem conter depósitos de fibrina (**Figura 6**). A condenação de carcaça normalmente é devida a presença de aerossaculite, perihepatite fibrinosa e pericardite com aderência quando há complicação com infecções secundárias (**Figura 7**). Pneumonias e lesões do oviduto (salpingite) também podem ser observadas. Histopatologicamente podem ser observadas infiltrações difusas a nodulares de células mononucleares na traquéia e sacos aéreos, hiperplasia das glândulas mucosas e reações linfocelulares, sendo essas as alterações mais evidentes nos órgãos afetados. No pulmão, são observadas áreas de pneumonia intersticial, alterações linfocelulares e, em menor frequência, granulomas. Os sacos aéreos são os órgãos mais afetados, devido ao processo respiratório das aves que faz passar o ar inspirado primeiro pelos sacos aéreos e grandes brônquios para depois liberá-lo aos pulmões (Yoder Jr., 1991a, 1991b; Chin *et al.* 2003; Ley, 2003; Kleven, 2003a, 2003b).

As lesões macroscópicas causadas na infecção por MS incluem edema das articulações com a presença de exsudato amarelo acinzentado envolvendo as membranas sinoviais da bainha dos tendões, do espaço articular e da base do esterno. Com a progressão da doença, o exsudato pode tornar-se caseoso e estender-se aos sacos aéreos e músculos adjacentes. Os rins podem aparecer aumentados em tamanho e pálidos. Em perus, as lesões articulares não são tão evidentes quanto em galinhas, com a presença de exsudato ao corte. Microscopicamente, infiltrados heterofílicos e fibrinosos são observados, principalmente nas articulações de pernas e pés. As membranas sinoviais encontram-se hiperplásicas com formação de vilos e infiltração difusa a nodular, de linfócitos e macrófagos (Kleven, 2003b).

## Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo da infecção por micoplasmas pode ser: epidemiológico, pela análise dos dados concernentes a morbidade, mortalidade e parâmetros de produção, coletados durante a investigação de um surto ou em um monitoramento; clínico, pela observação dos sinais e sintomas, anatomopatológico, através da interpretação das lesões macro e microscópicas e etiológico, feito pelo isolamento e tipificação sorológica com anti-soro para cada espécie de micoplasma por métodos de imunofluorescência ou imunoperoxidase ou técnicas moleculares, como a Polymerase Chain Reaction - PCR (Charlton *et al.*, 1996). Os testes sorológicos também podem ser utilizados no diagnóstico, nesse caso, os tradicionalmente empregados são Soroaglutinação Rápida (SAR), como triagem, passando-se para Soroaglutinação lenta (SAL), Inibição da Hemaglutinação (HI) e/ou ELISA. Estes podem ou não ser seguidos pelo cultivo de espécime clínico ou PCR com vistas a identificação do micoplasma envolvido (Stipkovits & Kempft, 1996).

Conforme preconizado para SAR (BRASIL 2001; Stipkovits & Kempft, 1996), se o soro proveniente de uma ave apresentar reação a diluição igual ou superior a 1:10, o resultado é considerado positivo, já à diluição de 1:5, deve ser considerado suspeito e, se a reação somente ocorrer em soro não diluído, o resultado deve ser considerado negativo. Entretanto, tem-se verificado, na prática, que não há confiabilidade nos resultados negativos à SAR e que qualquer aglutinação, mesmo em soro não diluído, deve ser considerada com resultado suspeito. Recentemente, comprovou-se que galinhas reprodutoras negativas à SAR para MG, mesmo na ausência de aglutinação em soros não diluídos, estavam positivas no HI, isolamento e PCR (Nascimento *et al.*, 1994). A SAR detecta principalmente anticorpos do tipo IgM, que aparecem

três a cinco dias após o início da infecção e que persistem por 70 a 80 dias.

O teste de HI é considerado positivo quando o título obtido for igual ou superior a 1:40, suspeito se o título ocorrer entre 1:20 e 1:40 e negativo se for inferior a 1:20. O teste de HI detecta principalmente anticorpos do tipo IgG, que aparecem 7 a 10 dias após o início da infecção e persistem por até aproximadamente 6 meses. Devido a falta de testes sorológicos para MI, a sorologia não é usada no diagnóstico dessa micoplasmose (Kleven, 2003a).

Para o isolamento, coletam-se fragmentos de tecidos lesados, principalmente sacos aéreos e traquéias, exsudato sinovial e ocular, suabes da traquéia, sacos aéreos, líquido sinovial e exsudato dos seios nasais. Suabes da traquéia ou da fenda palatina, imersos em cerca de 1,5ml em meio líquido, constituem excelentes espécimes, principalmente quando usados em cultivo e/ou PCR para auxiliar os teste de SAR e HI no monitoramento da infecção por MG ou MS. No caso de MM e MI, o cultivo de amostras coletadas de embriões refugos ou que bicam a casca do ovo e não nascem ("pipped embryo") constitui também um excelente material no diagnóstico e monitoramento (Razin & Tully 1983, Kleven *et al.*, 1991; Whitford *et al.*, 1993; Stipkovits & Kempft, 1996). Em vista disto, é comum a utilização de ovo embrionado, livre de micoplasma, com sete a oito dias de incubação para se fazer uma passagem do espécime, sob forma líquida (caldo de suabe, outros líquidos ou homogeneizado de tecido suspenso em caldo ou PBS em volume 10 vezes superior), em volume de 0,2ml no saco da gema, seguido de cultivo da gema ou líquido alantóide dos embriões mortos 24 horas pós-inoculação (PI) ou à necropsia cinco dias PI.

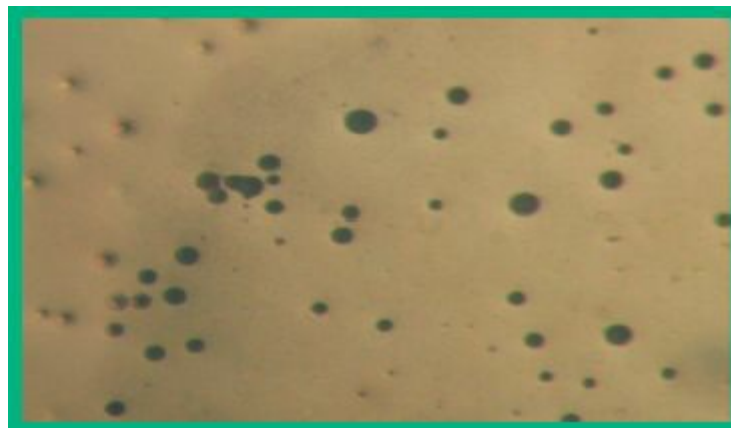
Para o cultivo, utiliza-se o meio de Frey (Frey *et al.*, 1968) modificado, onde para o volume de 1L de caldo tem-se:

Caldo básico Difco ou outro fabricante	21,0 g
Glicose	3,0 g
Soro suino inativado	120,0 ml
Nicotinamida, adenina dinucleotídeo (NAD)	0,1 g
Hidrocloridrato de cisteína	0,1 g
Extrato de levedura fresco, a 25%*	100,0 ml
Vermelho de fenol (solução a 1%)	2,5 ml
Acetato de tálio (solução a 10%)**	5,0 ml
Penicilina G potássica ou sódica**	1.000.000unidades
Água destilada, q.s.p	1.000,0 ml
*Opcional, mas deve ser usado quando o meio não contiver NAD e cisteína-HCl. **Para espécimes muito contaminados, aconselha-se o dobro desses antimicrobianos.	

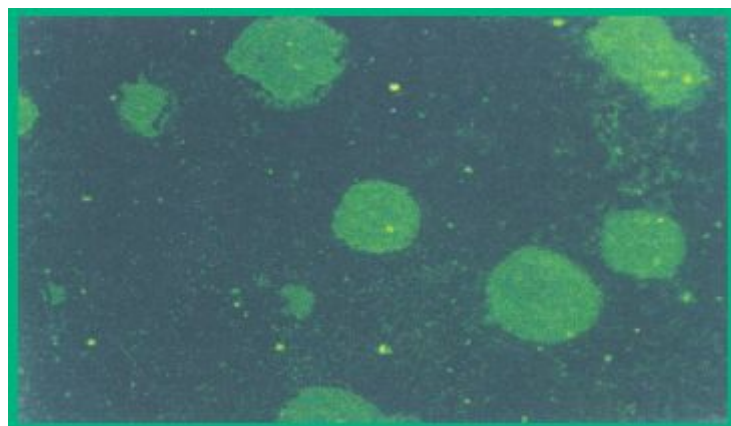
Para obtenção de meio sólido, acrescenta-se 1% de ágar purificado, como "Noble Agar". Bacto-agar também pode ser usado. O ágar diluído em água é autoclavado, esfriado até 50°C, quando os outros ingredientes, também à mesma temperatura, serão adicionados. O NAD e a Cisteína devem ser diluídos em um volume aproximado de 15ml de água destilada cada e misturados, por cerca de 15 minutos, antes de adicionados ao restante do meio. Esses ingredientes, o soro, a glicose, a penicilina e o acetato de tálio somente podem ser esterilizados por filtração. O restante deles

pode ser esterilizado por filtração ou autoclavagem a 121°C por 15min. O NAD e a cisteína são usados para cultivo do MS, que tem preferência por soro suíno. MG e MM, por outro lado, preferem soro eqüino. Uma boa prática para cultivo de espécime clínico é a utilização de um meio, conforme anteriormente descrito, mas com 50% de soro suíno e 50% de soro eqüino.

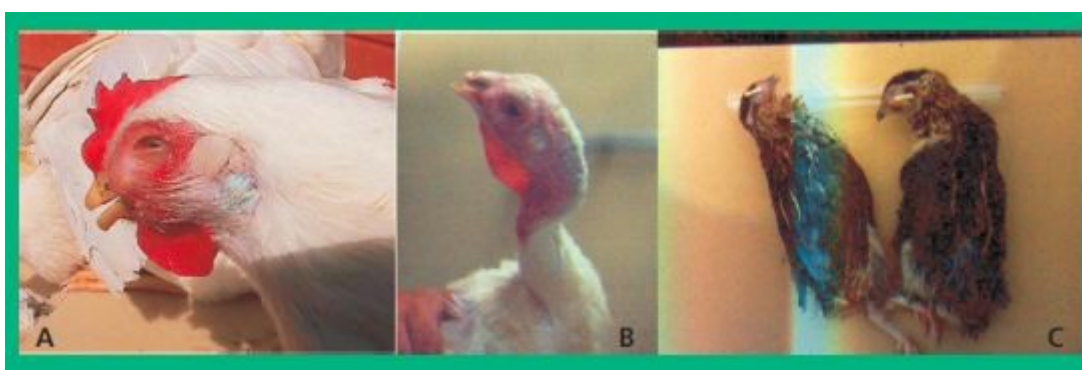
O micoplasma isolado é primeiramente submetido às provas bioquímicas: teste de Dienes, Mollicutes coram-se em azul (**Figura 2**) e outras bactérias, incluindo formas-L de bactéria ficam incolores; digitonina, verifica a dependência de colesterol, não observada no gênero *Acholeplasma*; fermentação de glicose, hidrólise de arginina e fosfatase (**Tabela 1**). Depois, ele é submetido às provas sorológicas para fins de tipificação (Razin & Tully, 1983; Yamamoto, 1990; Whitford *et al.*, 1993). As provas de tipificação tradicionalmente utilizadas são Imunofluorescência Direta ou Indireta de colônias em blocos de agar ou em Impressões de lamínulas (**Figura 3**), Imunoperoxidase (**Figura 4**) e Inibição de Crescimento (Yamamoto, 1990). Mais recentemente, são utilizados os testes baseados em Biologia Molecular, tais como: Perfil Proteico (Khan *et al.*, 1987), Análise do DNA por Enzima de Restrição (Kleven *et al.*, 1990; Johara *et al.*, 1992) Sonda (Khan *et al.*, 1989) e PCR (Nascimento *et al.*, 1991,1993; Zhao & Yamamoto, 1993; Nascimento *et al.*, 1999), os quais podem ser empregados tanto para diagnóstico quanto para tipificação.



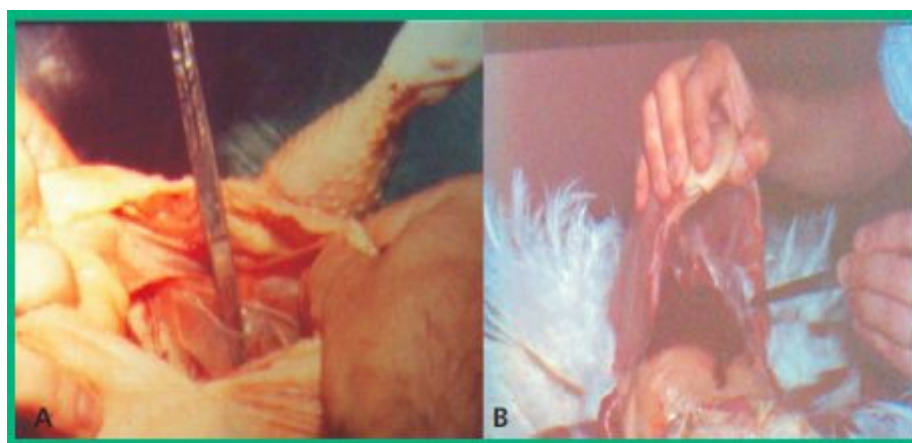
**Figura 3-** Colônias de *Mycoplasma synoviae* em Meio sólido de Frey modificado, escurecidas quando positivas à Imunoperoxidase. Aumento 100X.



**Figura 4 -** Colônias de *Mycoplasma synoviae* em Meio sólido de Frey modificado, fluorescentes quando submetidas à Imunofluorescência indireta. Aumento 100X.



**Figura 5** - Edema facial provocado pela Infecção por MG. A. Galinha (*Gallus gallus*), B. Peru (*Meleagris gallopavo*), C. Codorna (*Coturnix coturnix japonica*).



**Figura 6**- A. Frango de corte ao abate, Aerosaculite por MG. B. Peru, Aeressaculite á necropsia.

## Prevenção e controle

Os prejuízos decorrentes da convivência com as infecções micoplásmicas provocaram a adoção de algumas estratégias de controle. Tornou-se imprescindível a aquisição de aves de um dia (pintos e peruzinhos), ou ovos férteis, livres de MG, MS e/ ou MM para os sistemas de engorda (frango ou peru), postura e reprodução (matrizes e avós). Em se tratando dos estoques genéticos, a condição de ave livre de micoplasma (MG, MS e MM) pode ser obtida com o tratamento dos ovos férteis por soluções de antibiótico por ovo-injeção ou ovo- imersão ou por aquecimento (Ghazikhanina, 1980; Migaki, 1993; Charlton *et al.*, 1996; BRASIL 2001).

Os micoplasmas são sensíveis a maioria dos desinfetantes (amônia quaternária, compostos iodados, fenólicos, álcool), bem como aos antimicrobianos que interferem na síntese dos aminoácidos, ácidos nucleicos e metabolismo dos lipídios (Kleven, 2003a). Em sistemas de produção de frango de corte, nos quais as aves de reposição são livres de micoplasma, basta o criador cumprir as medidas de biosseguridade preconizadas para a avicultura e fazer uso da antibioticoterapia, caso surjam lotes com micoplasmose, especialmente no caso de perus. Em sistemas fechados de produção, onde se têm aves de reprodução que geram os pintos de corte utilizados para engorda, pode-se optar por programas de vacinação ou tratamento das matrizes, associados ao tratamento preventivo dos frangos obtidos de mães infectadas com micoplasma, desde que este procedimento seja economicamente viável (Tanner *et al.*, 1993; Ortiz *et al.*, 1995; Kleven, 2003a). Para implementação do controle da infecção micoplásmica, assim como de outras enfermidades aviárias importantes, programas voluntários para criadores de aves reprodutoras

têm sido desenvolvidos por órgãos governamentais em parceria com a iniciativa privada, a exemplo do National Poultry Improvement Plan - NPIP nos EUA (EUA, 1996) e do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) em nosso País (BRASIL, 1994; Villa, 1998). De acordo com esses programas, as aves reprodutoras (matrizes, avós e núcleos genéticos), devem ser acompanhadas por monitoramento sorológico ou micoplasmológico para MG, MS ou MM, seguindo procedimentos epidemiológicos de amostragem e monitoramento com periodicidade não superior a três meses.



**Figura 7** - Frango de corte, Pericardite e Perihepatite por MG à necropsia.

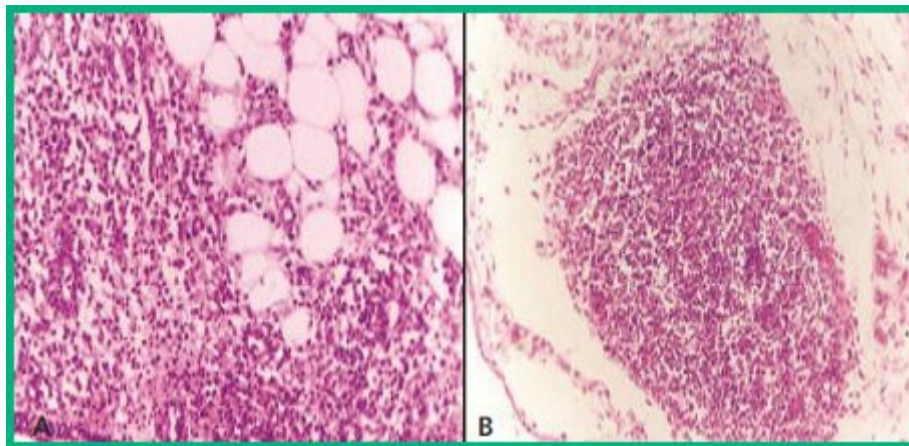
Os testes utilizados no monitoramento são os mesmos usados no diagnóstico: SAR, SAL, HI e ELISA, além do diagnóstico microbiológico, que envolve isolamento e tipificação ou PCR. Estes, normalmente são feitos no 1º dia de vida ou em ovos férteis, para aves de reprodução, postura e frangos e perus de corte. Desta forma, verifica-se a presença de anticorpos maternos para MG, MS ou MM com a utilização de métodos imunológicos (em soro ou gema) direcionados para IgG, sendo mais efetivos HI ou ELISA. Adicionalmente, pode-se realizar o cultivo de traquéia e sacos aéreos de um número de 10 a 20 ovos ou aves recém-nascidas. Para aves reprodutoras e poedeiras, além do diagnóstico no 1º dia de vida, realizam-se testes a intervalos não superiores a 90 dias (EUA, 1996). Adicionalmente, podem-se testar frangos de corte, antes e durante o abate.

O número amostral corresponde à quantidade mínima de aves a ser testada, que deverá ser ajustada caso haja limitações econômicas ou técnicas, conforme as Normas Técnicas para o Controle e Certificação de Núcleos ou Estabelecimentos Avícolas Livres de Micoplasmoses Aviárias (BRASIL, 2001).

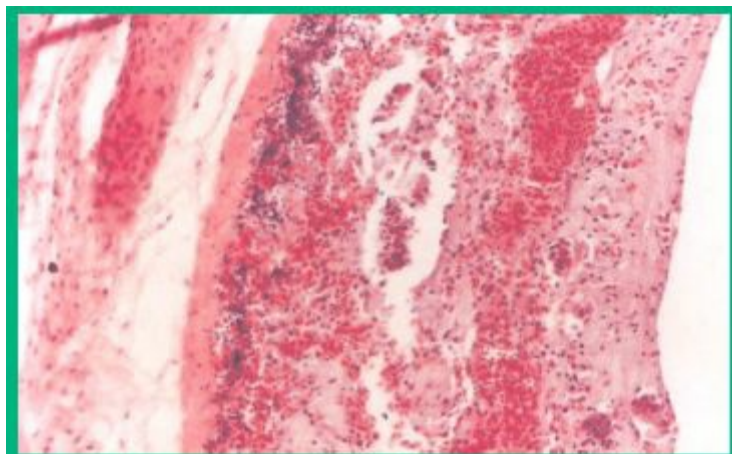
Deste modo, às 12 semanas de idade, inicia-se o monitoramento com a coleta de sangue e análise por SAR, ELISA, HI e outros num total de 300 aves para MG e 100 para MS, selecionadas aleatoriamente, com representação de cada galpão ou box. Quando essas aves reprodutoras atingirem 5% de postura, novo teste sorológico deve ser realizado em 150 delas para MG e 100 para MS, além da obtenção de soros e suabes de traquéia de 20 aves por lote, respectivamente para HI e PCR ou Isolamento. O monitoramento continuará sendo realizado a cada três meses até a eliminação do lote.

Monitorando-se as aves reprodutoras desta maneira, é possível detectar a infecção micoplásmica de forma precoce e tomar providências, antes que o problema se alastre e

prejudique a comercialização de pintos de um dia.



**Figura 8** - A. Galinha (*Gallus gallus*), saco aéreo. Infiltração mononuclear difusa com envolvimento da gordura adjacente por MG. H.E.100X. B. Infiltração mononuclear nodular por MS. H.E. 100X.



**Figura 9** - Galinha (*Gallus gallus*). Traquéia com traqueíte hemorrágica acompanhada de forte edema e infiltração de células mononucleares. H.E., 100X

Atualmente, existem vacinas comerciais contra MG, inativadas e vivas, a disposição dos criadores de aves. No passado, as vacinas inativadas para MG, bacterinas, não lograram boa aceitação, mas atualmente, elas são recomendadas em determinadas situações, principalmente pela inexistência de risco, por não serem infecciosas para aves não vacinadas, não dificultarem o diagnóstico micoplasmológico e nunca apresentarem problema de reversão de patogenicidade. A vacina viva é aconselhável para poedeiras e não deve ser usada em reprodutoras (galinhas e perus) por prejudicar o diagnóstico e, principalmente, o monitoramento epidemiológico (Balém *et al.*, 1992; BRASIL, 1994; BRASIL, 2001; EUA, 1996). As vacinas vivas contra MG, cepas F, ts11 ou 6/85, apesar de não evitarem a transmissão transovariana, podem diminuir a queda na produção de ovos em cerca de 8 a 10 ovos por ave, caso os plantéis sejam infectados por MG (Carpenter, 1981; Yoder Jr., 1991; Villa, 1994; Lay, 2003). A vacina MG-70, desenvolvida no Brasil, está sendo utilizada com eficiência ao evitar a queda na produção em galinhas poedeiras, conforme informações de campo (Nascimento *et al.*, 2006). A eficiência das vacinas vivas reside no estímulo de respostas imunes de base celular e humoral e como instrumento de exclusão competitiva em relação a cepas de campo nas granjas avícolas. A cepa F é a mais antiga e a mais estudada na substituição de cepas selvagens, mas continua transmitindo-se entre os lotes de

galinhas mesmo após a suspensão da vacinação. A utilização da cepa ts-11 pode desalojar a cepa F de plantéis avícolas (Ley, 2003). Trabalhos a esse respeito com a 6/85 e a MG-70 não estão disponíveis ainda, mas ambas obtiveram resultados semelhantes à ts-11 em relação a resposta sorológica e lesões microscópicas em traquéias e sacos aéreos (Nascimento *et al.*, 2003; Demarque, 2004; Demarque, 2005; Nascimento *et al.*, 2006).

O maior inconveniente no uso desses produtos é que confundem o diagnóstico sorológico e podem dificultar a pesquisa etiológica, aspectos relacionados aos programas de controle governamentais.

Em certas situações, pode ser recomendada a combinação de tratamento antimicrobiano com o uso de vacina inativada (Stipkovits & Burch, 1994). Existe vacina inativada em emulsão oleosa (Whithear, 1996) e vacina viva, cepa MS-H (Kleven *et al.*, 1991, 2003b) para infecção por MS, mas devido à característica de baixa virulência natural desse micoplasma, torna-se difícil comprovar o efeito benéfico da sua utilização a campo.

## Tratamento

O tratamento de aves reprodutoras com antimicrobianos não erradica os micoplasmas do plantel de reprodutores, apesar de diminuir o coeficiente de manifestação clínica e, conseqüentemente, a taxa de transmissão transovariana a um nível que pode chegar a ser inferior a 0,1% (Ortiz *et al.*, 1995). É um procedimento recomendado também para poedeiras e perus, principalmente oriundos de plantéis contaminados (Stipkovits & Burch, 1994), mas pouco eficiente em frangos de corte, devido ao curto tempo de vida dessas aves.

A terapia com antimicrobianos, principalmente com aqueles que se acumulam em altas concentrações nas membranas mucosas do trato respiratório, como tiamulin e enrofloxacina, afeta o diagnóstico etiológico da micoplasmose aviária, por inibir ou reduzir a resposta imune e por indisponibilizar os micoplasmas do trato respiratório superior, chegando, em muitos casos, a níveis zero de anticorpos e isolamento tanto em frangos de corte quanto em aves de reprodução ou postura. Há, porém, reversão desse quadro com a suspensão do tratamento (Kempf, 1991; Kempf *et al.*, 1992; Tanner, 1993; Stipkovits & Burch, 1994). O declínio ou ausência da reação sorológica e da taxa de isolamento pode se dar devido a localização intracelular do micoplasma, por pressão antimicrobiana, onde não há reconhecimento do sistema imunológico do hospedeiro, conforme preconizado (Razin *et al.*, 1998).

Devido à falta de um sistema de controle capaz de prevenir a infecção e, conseqüentemente, a transmissão transovariana, programas de erradicação baseados no tratamento de ovos férteis infectados com antibiótico já foram utilizados para eliminar os micoplasmas das aves reprodutoras, i.é, galinhas e perus (Fiorentin *et al.*, 1992b; Ghazikhanina *et al.*, 1980; Nascimento & Nascimento, 1994; Nascimento *et al.*, 2005). Apesar da adoção de tais programas, infecções por MG, MS, e MM, especialmente MG e MS, continuam a ocorrer em frangos de corte, galinhas poedeiras, perus e aves reprodutoras.

## Bibliografia

Adler HE, Fabricant J, Yamamoto R, Berg J. Symposium on chronic respiratory diseases of

poultry. I. Isolation and identification of pleuropneumonia-like organisms of avian origin. *American Journal of Veterinary Research* 1958; 19:440-447.

Balém L, Fiorentin L. O *Mycoplasma synoviae* e seu impacto econômico sobre a Avicultura. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1990; Campinas, São Paulo. Brasil. p.135-140.

Balém L, Silva EN, Andreatti Filho RL. Proteção de galinhas pela cepa vacinal conn-F de *Mycoplasma gallisepticum* na forma liofilizada e como cultura fresca. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 1992; 44(1):49-56.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Sanidade Avícola no âmbito da SDA e cria o Comitê Consultivo do Programa de Sanidade Avícola. Publicado no Diário Oficial da União e 22/09/1994, Seção 1, Página 14309.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Normas Técnicas para o Controle e a Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas para a Micoplasmose Aviária (*Mycoplasma gallisepticum*, *synoviae* e *melleagridis*) Publicado no Diário Oficial da União de 24/08/2001, Seção 1, Página 68.

Bueno RC, Baquer SR, Nakano M. Doenças de aves em São Paulo (análise de 24.217 casos). *Arquivos do Instituto Biológico* 1971; 29:231-270.

Bueno RC, Nakano M, Baquer SR. Doenças de aves em São Paulo (análise de 28.174 casos). *Arquivos do Instituto Biológico* 1962; 29:231-270.

Carpenter TE, Mallinson ET, Miller KF, Gentry RF, Schwartz LD. Vaccination with F-strain *Mycoplasma gallisepticum* to reduce production losses in layer chickens. *Avian Diseases* 1981; 25:404-409,

Charlton BR, Bermudez AJ, Boulianne M, Eckroade RJ, Jeffrey JS, Newman LJ, Sander J E, Wekenell PS. Whiteman and bickford's avian disease manual. 4th ed. Pennsylvania, EUA : American Association of Avian Pathologists; 1996.

Chhabra PC, Goel MC. Immunological response of chicken to *Mycoplasma gallisepticum* infection. *Avian Diseases* 1980; 25 (2):279-93.

Chin RP, Yan Ghazikhanian G, Kempf I. *Mycoplasma meleagridis* Infection. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of poultry. Ames: Iowa State University Press; 2003. p. 744-56

Chin RP, Zhao S, Yamamoto R, Nascimento ER. Comparison of polymerase chain reaction and isolations procedures in the diagnosis of *Mycoplasma gallisepticum* from clinical specimens. 42nd Western Poultry Disease Conference;1993; Sacramento, California. EUA. p.81-82.

Czifra G. Identification of *Mycoplasma* antigens with diagnostic and protective properties [tesis]. Uppsda: Swedish University of Agricultural Sciences;1999.



Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS, Wood WB. Infecções bacterianas e micóticas: mycoplasmas (PPLO) e formas L. São Paulo: EDART;1973. p.296-297.

Delaplane JP, Stuart HO. The propagation of a virus in embryonated chickens eggs causing a chronic respiratory disease of chickens. American Journal of Veterinary Research 1943; 4:325-32.

Demarque K. Histopatologia e morfometria da traquéia de aves (*Gallus gallus*) expostas a diferentes cepas de *Mycoplasma gallisepticum* [dissertação]. Niterói (RJ): Universidade Federal Fluminense; 2004.

Demarque KC, Nascimento ER, Tortelly R, Pereira VLA, Polo PA, Zuanaze MAF. Morfometria da traquéia de galinhas SPF inoculadas com diferentes cepas de *Mycoplasma gallisepticum*. Revista Brasileira de Ciência Avícola 2005; supl 7: 229-229.

Dickinson EM, Hinshaw WR. Treatment of infectious sinusitis of turkeys with oxytetracycline and silver nitrate. Journal of American Veterinary Association 1938; 93:151-56.

Ellakany H, Fabian K, Németh I, Stipkovits L. Antibody response detected by immunoblot in respiratory tract washing of chickens after infection with *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Pathology** 1998; 27:547-54.

Fiorentin L, Balém L, Fialho FB. Patogenicidade de amostras de *Mycoplasma synoviae* isoladas no Brasil. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1992a; Campinas, São Paulo. Brasil. p. 207.

Fiorentin L, Jeanisch FRF, Fialho F. Patogenicidade de *Mycoplasma gallisepticum* isolados no Brasil. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1994b; Campinas, São Paulo. Brasil. p. 87-88.

Fiorentin L, Jeanisch FRF. Tentativa de infecção experimental da pomba-rola (*Columba picui*) com *Mycoplasma synoviae* isolado no Brasil. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1994a; Campinas, São Paulo. Brasil. p. 91-92.

Fiorentin L, Nascimento ER, Balém L, Nascimento MGF, Avila VS, Schmidt GS. Erradicação de micoplasmas em plantéis de galinhas de linhas puras. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas;1992b; Campinas, São Paulo. Brasil. p. 205.

Fiorentin L, Silveira RM. Comportamento de antígenos de *Mycoplasma gallisepticum* para soroaglutinação rápida, elaborados com cepas isoladas no Brasil. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1994a; Campinas, São Paulo. Brasil. p. 67-68.

Fiorentin L, Silveira RM. Comportamento de antígenos de *Mycoplasma synoviae* para soroaglutinação rápida, elaborados com cepas isoladas no Brasil. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1994b; Campinas, São Paulo. Brasil. p. 69-70.

Frey ML, Hanson RP, Anderson DP. A medium for the isolation of avian mycoplasmas. American Journal of Veterinary Research 1968; 29:2163-2171.

Garust AT, Nobrega P. Doença crônica respiratória no Brasil. Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo 1956; 23:35-38.

Ghazikhanian G, Yamamoto R, Mccapes RH, Dungan WM, Ortmayer HB. Combination dip and injection of turkey eggs with antibiotics to eliminate *Mycoplasma meleagridis* infection from a primary breeding stock. Avian Diseases 1980; 24:57-70.

Ghosh A, Das J, Maniloff J. Lack of repair of ultraviolet light damage in *Mycoplasma gallisepticum*. Journal of Molecular Biology 1977; 116:337-44.

Johara MY, Nascimento ER, Yamamoto R. Heterogeneity among *Mycoplasma gallisepticum* strains detected by DNA Probe. 41st Western Poultry Disease Conference; 1992; Sacramento, California. EUA. p.75-76.

Kempf I, Gesbert F, Guittet M, Bennejean G, Cooper AC. Efficacy of danafloxacin in the therapy of experimental mycoplasmosis in chicks. Research in Veterinary Science 1992; 53:257-259.

Kempf I. Influence of the administration of antibiotics on the diagnosis of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. Point-Veterinaire 1991; 23:767-773.

Khan MI, Kirkpatrick BC, Yamamoto R. *Mycoplasma gallisepticum* species and strain-specific recombinant DNA probes. Avian Pathology 1989; 18:135-146.

Khan MI, Lam KM, Yamamoto R. *Mycoplasma gallisepticum* strain variations detected by sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis. Avian Disease 1987; 31:315-320.

Kleven SH, Khan MI, Yamamoto R. Fingerprinting of *Mycoplasma gallisepticum* strains isolated from multiple- age layers vaccinated with live F-strain. Avian Disease 1990; 34:984-990.

Kleven SH, Rowland GN, Olson NO. *Mycoplasma synoviae* infection. Calneck BW, Burnes HJ, Beard CW, Yoder Jr. HW. Diseases of poultry. 9th ed. Ames : Iowa State University Press; 1991. p. 223-231.

Kleven SH. El Desafio de las infecciones respiratorias mixtas. Indústria Avícola 1994; 41:4-8.

Kleven SH. *Mycoplasma synoviae*. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of poultry. Ames: Iowa State University Press; 2003b. p. 756-66.

Kleven SH. Micoplasmosis. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of poultry. Ames : Iowa State University Press; 2003a. p. 719-21.

Ley DH. *Mycoplasma gallisepticum* infection. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of poultry. Ames: Iowa State University Press; 2003. p. 722-44.

Markham FS, Wong SC. Pleuropneumonia-like organisms in the etiology of turkey sinusitis and chronic respiratory disease of chickens. Poultry Science 1952; 31:902-4.

- Markham JF, Scott PC, Whithear KG. Field and laboratory studies on a live attenuated *Mycoplasma synoviae* vaccine. *International Organization for Mycoplasma Letters* 1996; 4:286.
- Migaki TT, Avakian AP, Barnes HJ, Ley DH, Tanner AC, Magonigle RA. Efficacy of danafloxacin and tylosin in the control of mycoplasmosis in chicks infected with tylosin-susceptible or tylosin-resistant field isolates of *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Diseases* 1993; 37:508-14.
- Miller OJr. Mycoplasmosis: national survey of U.S. commercial poultry flocks. 43rd Western Poultry Disease Conference; 1994; Sacramento, CA. EUA. p.58.
- Mohammed HO, Carpenter TE, Yamamoto R. Economic impact of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial layer flocks. *Avian Diseases* 1987; 31:477-82.
- Mukherjee F, Tiwary BK, Prasad RL, Jha GJ, Roy MK. Role of T and B cells in immune response to *Mycoplasma* infection in normal and immunocompromized chicken. *Indian Journal of Animal Science* 1990; 60:1027-31.
- Nascimento ER, Ferreira Neto SM, Galletti MCM, Nascimento MGF, Lignon GB, Mendonça GA. Chicken *Mycoplasma gallisepticum* infection diagnosed by agent detection, hemagglutination inhibition, but not agglutination. AVMA Conference/AAAP Meeting; 1999; New Orleans. USA. p. 56
- Nascimento ER, Nascimento MGF, Araujo LMG, Souza AM. Isolamento de micoplasma em aves sintomáticas de diferentes tipos de explorações avícolas. XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1984a; Belém, PA. Brasil. p.305.
- Nascimento ER, Nascimento MGF, Araujo LMG. Isolamento e classificação de *Mycoplasma gallisepticum* em aves. XVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1982a; Camboriú, SC. Brasil. p.76.
- Nascimento ER, Nascimento MGF, Souza AM. Relação entre infecção por micoplasma e diagnóstico de outras enfermidades em aves. XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1984b; Belém, PA. Brasil. p.306.
- Nascimento ER, Nascimento MGF. Eradication of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* from a chicken flock in Brasil. 43rd Western Poultry Disease Conference; 1994; Sacramento, Califórnia. USA. p.58,
- Nascimento ER, Nascimento MGF. Isolamento de *Mycoplasma iners* de aves (*Gallus gallus*). XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1984; Belém, Brasil. p.308.
- Nascimento ER, Polo PA, Pereira VLA, Barreto ML, Nascimento MGF, Zuanaze MAF, Côrrea ARA, Silva RCF. Serologic response of SPF Chikens to live Vaccines and other strains of *Mycoplasma gallisepticum*. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2006; 8:45-50.
- Nascimento ER, Yamamoto R, Damassa AJ, Ortmayer HB, Nascimento MGF. PCR versus isolamento e sorologia no diagnóstico da infecção por *Mycoplasma gallisepticum* em galinhas e

perus. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1994; Santos, SP. Brasil. p.89-90.

Nascimento ER, Yamamoto R, Herrick KR, Tait RC. Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Diseases** 1991; 35:62-69.

Nascimento ER, Yamamoto R, Khan MI. *Mycoplasma gallisepticum* F-vaccine strain-specific polymerase chain reaction. **Avian Diseases** 1993; 37:203-211.

Nascimento ER, Yamamoto R. Simplification of *Mycoplasma gallisepticum* - polymerase chain reaction. 40th Western Poultry Disease Conference; 1991; Acapulco, Mexico. p.94-95.

Nascimento ER, Nascimento MGF, Santos MW, Dias PGO, Resende OA, Silva RCF. Eradication of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* from a chicken flock by antimicrobial injections in eggs and chicks. *Acta scientiae* 2005; 33(2):119-24.

Nascimento ER, Polo PA, Pereira VLA, Silva RCF, Platenik MO, Nascimento MGF, Zuanaze MAF. Comparison of vaccines and other *Mycoplasma gallisepticum* strains on seroconversion of SPF chickens. XIII Congress of the World Veterinary Poultry Association, Annual Meeting of the American Association of Avian Pathologists; 2003; Denver, CO. USA: American Association of Avian Pathologists; 2003. v.1. p.204-205.

Nascimento MGF, Nascimento ER, Araujo LMC. Isolamento de *Mycoplasma gallisepticum* de "pipped embryo". XVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1982b; Camboriú, SC. Brasil. p.78.

Nascimento MGF, Nascimento ER, Araujo LMG. Isolamento de *Mycoplasma meleagridis* de diferentes órgãos em perus. XVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1982; Camboriú, SC. Brasil. p. 75.

Nascimento MGF, Nascimento ER. Estocagem e sobrevivência de várias espécies de micoplasma à -20°C. XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1984; Belém, PA. Brasil. p. 307.

Nascimento MGF, Nascimento ER. Infectious sinusitis in Coturnix quails in Brazil. **Avian Diseases** 1986; 30:228-230.

Nascimento MGF, Nascimento ER. Obtenção de antígeno para diagnóstico de *M. meleagridis* em perus. XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1982; Camboriú, SC. Brasil. P.73.

Oliveira RL. Micoplasmoses animais. Frequência de *M. gallisepticum* em galinhas em Minas Gerais. *Arquivos da Escola de Veterinária* 1973; 25:271.

Olson NO, Bletner JK, Shelton DC, Munro DA, Anderson GC. Enlarged joint condition in poultry caused by an infectious agent. **Poultry Science** 1954; 33:1075.

Ortiz A, Froyman R, Kleven SH. Evaluation of enrofloxacin against egg transmission of *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Diseases** 1995; 39:830-836.

Projeto identifica problema que afeta a produção de frangos no Brasil. *Revista Nacional de Carne*

1994; 207:21-35.

Razin S, Tully JG. Methods in mycoplasmaology: mycoplasma characterization. New York: Academic Press; 1983. v.1, p.504.

Razin S, Tully JG. Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology: molecular characterization. San Diego: Academic Press 1995; 1:215-265.

Razin S, Yogev D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. Microbiology and Molecular Biology 1998; 62:1094-1156.

Reis R, Resende M, Ornellas-Santos PP, Yamamoto R, Oliveira RL. Micoplasmoses animais. I. Frequência de *M. meleagridis* e *M. gallisepticum* em perus em Minas Gerais. Arquivos da Escola de Veterinária 1973; 24:197-199.

Reis R, Resende M, Ornellas-Santos PP. Sinusite infecciosa dos perus em Minas Gerais. Arquivos da Escola de Veterinária 1969; 21:119-124.

Resende M, Reis R, Gettelfinger JP. Micoplasma de origem aviária. I. Isolamento e agrupamento sorológico. Arquivos da Escola de Veterinária 1968; 20:175-185.

Resende M, Reis R, Ornellas-Santos PP. Micoplasma de origem aviária. II. Caracterização do *Mycoplasma gallisepticum*. Arquivos da Escola de Veterinária 1969a; 21:151-156.

Resende M, Reis R, Ornellas-Santos PP. Micoplasma de origem aviária. III. Identificação de *Mycoplasma meleagridis*. Arquivos da Escola de Veterinária 1969b; 21:157-161.

Rosales AG. Enfermidades Respiratórias en el Pollo de Engorde. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1991; Campinas, São Paulo. Brasil. p. 163-76.

Silva RCF. Vacinação contra a doença de Newcastle em aves (*Gallus gallus*) SPF infectadas por *Mycoplasma synoviae* [dissertação]. Niterói,RJ: Universidade Federal Fluminense; 2003.

Silveira RM, Fiorentin L, Marques EK, Nardi NB. Desenvolvimento de anticorpo monoclonal e seu uso para a identificação laboratorial de *Mycoplasma gallisepticum*. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1993; Santos, São Paulo. Brasil. p.48.

Silveira RM, Fiorentin L, Marques EK. Polymerase chain reaction Optimization for *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* Diagnosis. **Avian Diseases** 1996; 40:218-222.

Stipkovits L, Burch DGS. Comparative studies on the efficacy of *Mycoplasma gallisepticum* bacterin and tiamulin treatment of breeder hens. 9th European Poultry Conference; 1994; Glasgow. United Kingdom. v.1, p.171-172.

Stipkovits L, Kempft I. Mycoplasmoses in poultry. Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties 1996; 15:1495-525.

Tanner AC, Avakian AP, Barnes HJ, Ley DH, Migaki TT, Magonigle RA. A comparison of

danafloxacin and tylosin in the control of induced *Mycoplasma gallisepticum* infection in Broiler chicks. **Avian Diseases** 1993; 37:515-522.

United States Department of Agriculture. National poultry and improvement plan and auxiliary provisions: APHIS 91- 55031. Washington, DC; 1996.

Vardaman TE, Reece FN, Deaton JW. Effect of *Mycoplasma synoviae* on broiler performance. **Poultry Science** 1973; 52:1909-1912.

Villa MFG. Programa Nacional de Sanidade avícola: 1994 a 1998. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1998; Campinas, São Paulo. Brasil. p.34-46.

Whitford WH, Rosembush RF, Lauerman LH. Mycoplasmosis in animals: Laboratory Diagnosis. Ames: Iowa State University Press; 1993.

Whithear KG. Control of avian mycoplasmoses by vaccination. *Revue Scientifique et Technique*, Office International des Epizooties 1996; 15:1527-53.

Winner F, Citti C, Rosengarten R. News aspects on pathogenic mechanisms of *Mycoplasma gallisepticum*. International symposium on infectious bronchitis and pneumovirus infections in poultry; 1998; Rauschholzhausen, Germany. p. 332.

Woese CR, Stackebrandt E, Luwig W. What are mycoplasmas: the relationship of tempo and mode in bacterial evolution. *Journal of Molecular Evolution* 1985; 21:305-16.

Yagihashi T, Tagima M. Antibody response in sera and respiratory secretions from chickens infected with *Mycoplasma gallisepticum*. **Avian Diseases** 1986; 30:543-50.

Yamamoto R. Mollicutes. In: Biberstiein EL, Zee YC. Review of veterinary microbiology. Boston: Blackwell Scientific Publications; 1990. p.213-227.

Yamamoto R. *Mycoplasma meleagridis* infection. In: Calneck BW, Johon Barnes H, Beard CW, Reid WM, Yoder Jr HW, editors. Diseases of poultry. 9th ed. Ames: Iowa State University Press; 1991.

Yoder Jr HW. *Mycoplasma gallisepticum* infection. In: Calneck BW, Burnes HJ, Beard CW, Yoder Jr. HW. Diseases of poultry. 9th ed. Ames: Iowa State University Press; 1991b; p. 198-212.

Yoder Jr HW. *Mycoplasma meleagridis*. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of poultry. Ames: Iowa State University Press; 2003a. p. 744-56.

Yoder Jr HW. Mycoplasmosis. In: Calneck BW, Burnes HJ, Beard CW, Yoder Jr. HW. Diseases of poultry. 9th ed. Ames: Iowa State University Press; 1991a. p.196-198.

Zhao S, Yamamoto R. Detection of *Mycoplasma synoviae* by polymerase chain reaction. Proceedings 42nd



**Coriza infecciosa das galinhas, pasteureloses  
e outras infecções bacterianas relacionadas**



<b>Coriza infecciosa das galinhas</b>	<b>503</b>
<i>Denominação e sinonímia</i>	503
<i>Introdução e histórico</i>	503
<i>Distribuição e ocorrência</i>	503
<i>Etiologia</i>	504
<i>Patobiologia e Epizootia</i>	506
<i>Sinais clínicos</i>	506
<i>Diagnóstico</i>	507
<i>Prevenção e Controle</i>	510
<i>Tratamento</i>	511
<b>Pasteureloses e outras infecções bacterianas relacionadas</b>	<b>512</b>
<i>Denominação e introdução</i>	512
<i>Cólera aviária</i>	512
<i>Avibacterium (Pasteurella) gallinarum e Gallibacterium anatis (Pasteurella haemolytica)</i>	521
<i>Ornithobacterium rinotracheale</i>	522
<b>Bibliografia</b>	<b>524</b>

# Coriza infecciosa das galinhas, pasteureloses e outras infecções bacterianas relacionadas

Vladimir P. do Nascimento, Nilce Maria Soares Q. Gama, Cláudio W. Canal

## Coriza infecciosa das galinhas

### Denominação e sinonímia:

Coriza Infecciosa das Galinhas, Coriza Aviária, *Infectious Coryza*, *Fowl Coryza*, *Hémophilose Aviaire*, *Coryza Iffectieux*, *Coriza Infeccaosa de las Gallinas*.

### Introdução e histórico

A Coriza Infecciosa (CI) é uma doença respiratória aguda, sub- aguda ou crônica, altamente contagiosa, que afeta principalmente o trato respiratório superior de galinhas (*Gallus gallus*), mas que pode ocorrer, ainda que raramente, em faisões, galinhas d'Angola e codornas. Perus, pombos, pardais, patos, corvos, gralhas, coelhos, cobaias e camundongos são considerados refratários a infecções experimentais da doença. A síndrome clínica foi descrita na literatura inicial como rouquidão, catarro infeccioso ou contagioso e resfriado. Como a doença provou ser infecciosa e afetava primariamente as vias nasais, o nome CI foi adotado. O isolamento da bactéria causadora foi primeiramente realizado em 1932 por De Blicck, embora já desde 1920 já se acreditava haver um agente etiológico distinto para a CI. A sua detecção inicial sofreu um certo retardamento, possivelmente pelo fato de poder ocorrer em associação com outros agentes, os quais mascaravam a sua presença.

### Distribuição e ocorrência

Trata-se de uma doença de distribuição mundial, com maior importância em regiões de climas temperados e tropicais. Maior impacto econômico tem sido observado em surtos ocorridos em países em desenvolvimento, provavelmente potencializados por fatores como estresse e pela presença de outros patógenos concomitantes. Nos Estados Unidos da América, sua ocorrência tem sido mais freqüente na Califórnia e nos estados do sudeste, enquanto que na Argentina recentes trabalhos têm relatado um aumento em sua incidência. A prevalência de CI no Brasil tem sido descrita na maioria dos estados com maior tradição em produção avícola, em especial naqueles das regiões Sul e Sudeste, podendo haver nesta concentração um componente resultante de um maior envio de materiais para o laboratório pelas empresas destas regiões, na busca do isolamento do agente que permita um diagnóstico preciso da doença. Possui importância econômica, em função do aumento na refugagem em aves em crescimento, mas principalmente por provocar queda de postura em poedeiras comerciais. Recentes trabalhos têm indicado um prejuízo final de cerca de US\$ 0,28 por galinha alojada, como consequência de um surto de CI que durou ao redor de 56 dias em um lote de 13.440 aves de postura comercial, as quais tinham 26 semanas

de idade à época dos primeiros sinais da doença. Isto representou uma perda de rendimento, somente neste lote, de US\$ 3.763 ao produtor, uma soma certamente bastante significativa.

A CI pode ser vista em criações ditas de postura comercial, especialmente naquelas onde haja multiplicidade de idades nos animais criados em um mesmo galpão, ou onde os padrões de higiene e manejo estejam abaixo dos níveis recomendados, ocorrendo com maior frequência em locais onde haja criação intensiva, sem preocupação com o esvaziamento total das instalações e com a adoção de um adequado vazio sanitário após a saída de um lote, situação que não é incomum à realidade do setor de postura em várias regiões do Brasil. Por todos estes motivos, não causa surpresa o fato da CI poder atingir com ainda maior intensidade aves de fundo de quintal e aquelas criadas em regime extensivo (free-range). Surtos em aves reprodutoras leves ou pesadas, embora bastante raros por estas aves receberem melhores cuidados de manejo e biosseguridade podem também ocorrer. Embora ocorra principalmente em aves de postura, recentemente houve relatos que dão conta de sua ocorrência em frangos de corte, merecendo destaque um surto ocorrido em 1993 no Estado americano do Alabama, onde a CI foi diagnosticada em cinco lotes de frangos, totalizando 80.000 animais, tendo resultado em 18,3% de mortalidade e uma condenação ao abate de 69,8% das aves, quase todas por aerossaculite. Similarmente, outros casos afetando frangos de corte foram relatados no Estado da Califórnia (EUA) e na Argentina. Como os perus são considerados refratários, deve-se considerar a possibilidade de ocorrência de, entre outras, infecções por *Bordetella avium* ou micoplasmas, em surtos corizóides atingindo esta espécie animal.

A CI não possui importância em saúde pública.

## Etiologia

O agente etiológico causador da CI é a recentemente reclassificada bactéria *Avibacterium paragallinarum*, a qual até 2005 era denominada *Haemophilus paragallinarum*. Membro da família Pasteurellaceae é um bacilo curto (0,3 - 0,6 x 1 - 3mm), Gram negativo, imóvel, com coloração bipolar, com uma tendência ao pleomorfismo e à formação de filamentos, após 24 a 48 horas de cultivo. Não forma esporos, mas pode ser encapsulado, especialmente no caso de algumas cepas mais virulentas. É mesófilo e facultativamente aeróbico, com pronunciada microaerofilia (cresce bem em atmosferas com 5% CO<sub>2</sub>) não sendo, no entanto, esta condição essencial, já que é capaz de crescer anaerobicamente ou sob baixa tensão de O<sub>2</sub>.

Trata-se, por outro lado, de um microrganismo delicado que é inativado bastante rapidamente fora do hospedeiro. Quando presente no exsudato infectado suspenso em água, é inativado em cerca de 4 horas, à temperatura ambiente, enquanto que em exsudatos e tecidos de aves mortas infectadas pode sobreviver por 24 ou até por 48 horas, à 37°C, podendo permanecer viável por vários dias à 4°C. Serão mortos se expostos a temperaturas de 45 a 55°C por 2 a 10 minutos. Todas estas informações serão importantes no estabelecimento das condições para envio de material para diagnóstico e, também, no momento da proposição de medidas de prevenção e controle.

Até recentemente, era consensual o fato de que todas as cepas do agente requeriam, para seu crescimento *in vitro*, a presença do fator V (nicotinamida adenina dinucleotídeo, NAD). No entanto, ultimamente cepas patogênicas de *A. paragallinarum* que independem da presença do fator

Vêm sido isoladas de galinhas na África do Sul. Estas cepas, classificadas como biovar 2, são clonais e possuem capacidade de crescimento aeróbico, tendo apresentado, entre outras evidências de similitude, reação positiva para o teste da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) específico para o *A. paragallinarum*.

Mais informações referentes às propriedades bioquímicas do *A. paragallinarum*, inclusive quanto às características que permitem diferenciar o agente da CI de outros microrganismos similares que tiveram sua posição taxonômica alterada, sendo hoje denominados *Avibacterium avium*, *A. volantium* e *Avibacterium* espécie A (previamente classificados respectivamente como *Pasteurella avium*, *P. volantium* e *Pasteurella* espécie A) serão dadas na [Tabela 1.3](#).

**Estrutura antigênica:** a importância de se conhecer os diferentes tipos de estrutura antigênica passíveis de ser encontradas em sorovares de *A. paragallinarum* reside no fato de que esta variabilidade tem enorme influência no sucesso de um programa de vacinação para CI ([Tabelas 1.1](#) e [1.4](#)), além de permitir fornecer informações epidemiológicas, ao diferenciar os diversos sorovares. Resumidamente, os testes mais comuns utilizados para tipificar os isolados do agente são os sorológicos em placa ou em tubo, o ágar gel precipitação (AGP) e a inibição da hemaglutinação (HI). Este último, embora não seja usado extensivamente para detecção de aves infectadas, tem utilidade na sorotipificação e mensuração dos níveis de anticorpos protetores, possibilitando avaliar a proteção das aves contra certas cepas vacinais. Possui alguns defeitos como, por exemplo, o fato de não detectar anticorpos tão cedo quanto os outros tipos de teste mencionados, além de necessitar pré-tratamento do soro ou até dos eritrócitos utilizados, especialmente no caso de alguns sorovares pertencentes aos sorogrupos B e C.

As classificações antigênicas (sorogrupos) do *A. paragallinarum* aceitas atualmente são basicamente três, denominadas a partir do nome de seus autores: Page, Kume e Sawata ([Tabela 1.1](#)).

**Tabela 1.1** - Principais esquemas de classificação de *A. paragallinarum*.

Esquemas Page	Sorogrupos		
	A	C	B
Sawata	1	2	-
Kume	I	II	III
Kume*	A**	C****	B***

\* Recente reclassificação dos sorogrupos do esquema de Kume, agora combinando com os de Page e permitindo a inclusão de outros sorovares dentro de cada sorogrupo, os quais são numerados sequencialmente, com os novos sendo adicionados em ordem numérica. \*\* inclui os sorovares A-1, A-2, A-3 e A-4. \*\*\* inclui o sorovar B-1. \*\*\*\* inclui os sorovares C-1, C-2, C-3 e C-4

Como informado anteriormente, sua importância principal reside na sua capacidade de representar

o quadro epidemiológico da ocorrência da CI, com os sorovares ocorrendo em áreas geograficamente distintas, alguns deles sendo únicos em sua origem como, por exemplo, o sorovar A-3 encontrado somente no Brasil, o sorovar C-3 somente na África do Sul e os sorovares A-4 e C-4 apenas na Austrália. É igualmente importante o fato de haver, de acordo com o esquema de Page, vários estudos demonstrando que há correlação entre este esquema e a especificidade imunotípica e que aves vacinadas com uma bacterina preparada a partir de um sorovar teriam proteção efetiva contra desafio homólogo e proteção cruzada parcial ou efetiva contra determinados sorovares (item 1.8.2). Quanto à sua distribuição geográfica, recentes trabalhos, utilizando o esquema de Page, classificaram os isolados do agente ocorridos em diferentes países, os quais são apresentados resumidamente na [Tabela 1.2](#).

<b>Tabela 1.2</b> - Distribuição geográfica de isolados de <i>A. paragallinarum</i> em diferentes países, classificados de acordo com o esquema de Page*.			
<b>País</b>	<b>Sorovares</b>		
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
África do Sul <sup>1</sup>	X	X	X
Alemanha	X	X	
Argentina <sup>1</sup>	X	X	X
Austrália	X		X
Brasil <sup>2</sup>	X	X	X
China	X		
Espanha	X	X	X
Estados Unidos	X	X	X
Filipinas	X	X	X
Indonésia	X	X	X
Japão	X		X
Malásia	X		
México	X	X	X

\* adaptado a partir de Sandoval & Terzolo (1996) e Blackall & Matsumoto (2003). X = presença do sorovar no país. 1 = marcado predomínio dos sorovares A e B. 2 = marcado predomínio dos sorovares A e C.

**Patogenicidade:** varia de acordo com as condições de crescimento e histórico de passagens do isolado do agente e com o estado do hospedeiro, mas há evidências específicas de variação em patogenicidade entre os sorovares. Trabalho publicado em 2004 que avaliou a virulência dos nove sorovares reconhecidos de *A. paragallinarum* em termos de sua capacidade de causar sinais clínicos típicos da CI no trato respiratório superior de aves não-vacinadas apontou que todos foram patogênicos, mas que o sorovar C-1 foi o que foi capaz de causar os sinais clínicos mais intensos, seguidos, em ordem decrescente de virulência pelos sorovares A-1, A-4, C-3, C-2, A-3, B-1, A-2 e finalmente pelo sorovar menos patogênico, que foi o C-4. Por seu turno, outra

investigação apontou que frangos co-infectados com o vírus da Influenza Aviária subtipo H9N2 e com o *A. paragallinarum*, além de terem tido favorecida a replicação do vírus e a exacerbação da infecção pelo H9N2, demonstraram sinais clínicos mais severos do que quando infectados somente pelo vírus ou pela bactéria isoladamente.

Finalmente, o uso de perfil plasmidial como ferramenta para subdividir os isolados da bactéria não é recomendado, já que trabalhos que pesquisaram mais de 100 amostras para a presença de plasmídeo foram capazes de detectar sua presença em apenas uma delas, não sendo considerada comum. Diferentemente, o uso de análise do DNA cromossômico através da análise de endonuclease de restrição (AER) e da ribotipagem provaram ser bastante promissoras neste particular, inclusive a partir da AER conseguiu-se encontrar 15 perfis únicos em 15 amostras isoladas na Austrália.

## Patobiologia e Epizootia

**Hospedeiro natural:** como já mencionado em Introdução e Histórico, a galinha é naturalmente a espécie mais suscetível ao agente da CI, sendo suscetível em todas as idades, mas mais atingindo com mais severidade aves semimaduras e maduras (principalmente aquelas com mais de 13 semanas de idade), as quais apresentarão um período de incubação mais curto e uma duração mais longa da doença. As aves jovens, embora passíveis de adquirir a infecção, são bem menos suscetíveis à CI. Há uma certa resistência demonstrada em pintos de até sete dias de idade.

**Transmissão:** é essencialmente horizontal. Aves infectadas de forma crônica e aves portadoras assintomáticas são importantes fontes de infecção, em especial as provenientes de lotes de reposição infectados. O agente etiológico pode ser transmitido por aerossol, por moscas, por contato direto entre as aves dentro das gaiolas, por contato destas com fômites e, principalmente, através da água contaminada nos bebedores, especialmente os do tipo calha. Esta última ocorre pois as aves com corrimento nasal contaminam esta água e esta infectará outras aves, sendo considerada a principal forma de transmissão da CI. Em locais onde haja criação de aves com múltiplas idades em um mesmo galpão, a disseminação da doença para sucessivos grupos de idade é praticamente previsível. Não há descrição da possibilidade de tratar-se de uma doença transmissível verticalmente (via ovo).

**Patogênese:** as cepas patogênicas do *A. paragallinarum* aderem-se firmemente ao epitélio da mucosa ciliada do trato respiratório superior das aves, em especial o traqueal. O processo histopatológico continua por um edema e uma hiperemia com infiltração de heterófilos na lâmina própria das membranas, evoluindo para uma hiperplasia, desintegração e descamação dos epitélios das cavidades nasais, dos seios infra e periorbitais e da traquéia, modificações responsáveis pelos sintomas obstrutivos das vias respiratórias superiores. Este processo tem início a partir da 20ª hora pós-inoculação intranasal, passando por um máximo de severidade ao redor do 7º ao 10º dia pós-infecção (PI), com marcada redução e reparação ocorrendo a partir do 14º até o 21º dia PI.

A presença da cápsula, através de sua capacidade de proteger a bactéria da ação bactericida do soro normal, sendo também antifagocítica, associada à presença de antígeno hemaglutinante, têm um papel importante na colonização. Toxinas liberadas pelo organismo durante sua proliferação, principalmente a partir da cápsula, além de outros antígenos associados à virulência, são

correlacionadas à produção de lesões na mucosa, descamação e ao aparecimento de sinais clínicos. Entre estes antígenos, destacam-se o lipopolissacarídeo do corpo do agente, responsável pela reação inflamatória, e o polissacarídeo e o ácido hialurônico provenientes da cápsula, os quais serão responsáveis por alguns dos sintomas da CI. A migração ao trato respiratório inferior (pulmões e sacos aéreos) não é comum na CI, podendo ocorrer especialmente quando houver um sinergismo com outros agentes infecciosos (CI complicada) ou com fatores ambientais desfavoráveis ou doenças imunossupressoras.

**Período de incubação:** é característico por sua curta duração (24 a 48 horas) após inoculação intranasal ou intrasinusal com cultura pura ou exsudato. Aves suscetíveis expostas ao contato com aves infectadas usualmente apresentam sinais da doença em 24 a 72 horas, podendo a incubação durar até 10 dias, em casos excepcionais.

**Morbidade e mortalidade:** dependem grandemente da virulência do agente, geralmente apresentando uma morbidade alta e difusão rápida. A mortalidade, no entanto, é baixa, com exceção de algumas cepas altamente patogênicas. A duração da doença será de duas a três semanas na ave, podendo fatores como o mau manejo, as variações entre a resistência de diferentes linhagens de aves e a possibilidade de ocorrência de CI complicada por outra doença (varíola, bronquite infecciosa, laringotraqueíte, micoplasmoses, colibacilose, ornitobacteriose e pasteurelose aviária, especialmente) aumentarem a severidade, a duração e a mortalidade provocadas pela mesma.

## Sinais clínicos

É importante diferenciar as duas formas de CI comumente encontradas, que são as chamadas CI descomplicada, uma infecção na qual somente o *A. paragallinarum* está envolvido e a CI complicada, onde além deste último, tem-se a participação de outros agentes patogênicos, notadamente os vírus causadores da bronquite infecciosa, da laringotraqueíte, da pneumovirose ou da varíola, os micoplasmas, o *Ornithobacterium rhinotracheale*, a *E. coli* ou as pasteurelas e outras Avibacteria. A *Avibacterium* [*Pasteurella*] *gallinarum*, em especial, tem sido recentemente implicada como causa isolada de quadros com lesões quase idênticas à CI, as quais quando em casos em que esteja presente também o *A. paragallinarum*, tornam-se muito mais severas e com maior persistência.

**CI descomplicada:** neste caso, tem-se uma infecção catarral aguda das membranas mucosas das vias e seios nasais, com descarga nasal de serosa a mucosa, edema dos seios infraorbitais, com conseqüente edema facial, conjuntivite catarral e barbelas inchadas (especialmente em machos). O edema facial pode ocorrer em um ou em ambos os lados da face (a qual se revela extremamente sensível à palpação), podendo ser tão extenso a ponto de prejudicar a visão do animal. No entanto, o sintoma mais visível (às vezes o único) será um exsudato seroso a mucóide de uma ou ambas as narinas. Em aves com infecção recente, este exsudato será normalmente claro, ficando mais denso e acinzentado com a persistência da infecção, enquanto que no caso de uma CI crônica, o mesmo apresenta-se mais firme e amarelado. Isto causará uma obstrução das vias aéreas, que terá como conseqüência uma dificuldade respiratória com respiração pela boca, característica. Embora incomum na CI descomplicada, a infecção poderá invadir o trato respiratório inferior (traquéia e pulmões), causando estertores e uma ainda maior dificuldade respiratória, podendo ainda ser observada aerossaculite. Os animais estarão deprimidos, ocorrendo uma diminuição no

consumo de água e de ração, o que por si só já seria capaz de provocar uma queda de postura e também um aumento no número de aves refugos. Há a possibilidade de ocorrer diarreia. Quando a CI ocorre em lotes em período de pré-postura, haverá um retardamento no início da postura, enquanto que em lotes em produção haverá uma queda de postura de moderada a severa, variando entre 10% até mais de 40%. Alguns autores sustentam que uma queda de mais de 20% nos níveis de postura seria indicativo da ocorrência de uma doença multifatorial.

**CI complicada:** pode ocorrer com razoável frequência, já que se tem nestes casos todo o potencial para uma complicação no quadro respiratório. É difícil, no entanto, descrever-se todas as complicações que poderão advir em um lote, como resultado da introdução de diferentes agentes infecciosos. Igualmente, às vezes poderá ser difícil reconhecer-se a superimposição da CI com outra doença respiratória, requerendo atenção por parte do veterinário para esta possibilidade. Os sinais clínicos, nestas situações, não diferem muito daqueles presentes nas doenças isoladas, sendo muito mais intensos e persistentes, com a possibilidade de ter-se um quadro clínico semelhante à doença respiratória crônica (DCR). Por exemplo, uma descarga nasal contínua pode ocorrer e persistir por mais de um mês, podendo ser encontrados verdadeiros tampões caseosos nas vias nasais, além da possibilidade da presença de estertores e aerossaculite mais proeminentes e severos. Aviários com aves com CI complicada ou crônica possuem um odor característico, fétido, ácido, descrito por alguns autores como “cheiro de rato”. Finalmente, poderá haver um aumento na mortalidade e na duração da doença.

## Diagnóstico

Sinais clínicos isolados não devem servir como fatores definitivos para um diagnóstico preciso de CI, já que outras doenças podem produzir sinais similares (ver diagnóstico diferencial, mais adiante). Entretanto, um diagnóstico presuntivo poderá ser feito baseado no histórico típico do caso, na sua sintomatologia e na ocorrência anterior da doença naquele aviário ou naquela região. Para todos os efeitos, um diagnóstico definitivo somente poderá ser feito com o isolamento da bactéria *A. paragallinarum* no laboratório. A utilização da técnica de detecção molecular da reação em cadeia pela polimerase (PCR) para o diagnóstico da CI foi descrita e denominada HP-2 PCR, sendo considerada sensível, específica e rápida (resultados disponíveis em 6 horas, comparado com vários dias nas técnicas convencionais), sendo portanto uma importante ferramenta entre as atualmente disponíveis para tanto, existe ainda a possibilidade de utilizar uma modificação desta mesma técnica para tipagem dos sorovares de *A. paragallinarum*.

**Lesões:** à necropsia, as lesões da CI podem ser visualizadas em forma de inflamação catarral a fibrino-purulenta das vias nasais, seios infraorbitais e conjuntivas (com acumulação de exsudato caseoso no saco conjuntival), além de um proeminente edema subcutâneo da face e das barbas. Eventualmente, nos casos mais complicados ou crônicos, pode haver traqueíte, aerossaculite e, mais raramente, pneumonia. No tocante às lesões histopatológicas mais comuns, haverá mudanças essenciais na cavidade nasal, seios infraorbitais e traquéia, ocorrendo uma degeneração celular, com hiperplasia do epitélio mucoso e glandular e infiltração da lâmina própria por neutrófilos polinucleares, além de uma infiltração nodular ou difusa por células linfóides nos seios infraorbitais. Os produtos destas células infiltrantes (mastócitos, heterófilos e macrófagos) podem ser responsáveis pelas severas lesões vasculares e danos celulares que darão origem aos sintomas corizóides.



**Diagnóstico laboratorial (isolamento e identificação do agente):** o ideal é que fossem enviadas ao laboratório para diagnóstico, aves vivas apresentando sintomatologia de CI em seus estágios iniciais ou agudos. Quando isto é possível, torna-se mais fácil confirmar os sinais clínicos, permitindo uma coleta de material em melhores condições para proceder a tentativa de isolamento do agente. Na prática, no entanto, especialmente no Brasil, é comum o envio ao laboratório de cabeças de aves afetadas, envoltas em saco plástico, resfriadas com gelo e enviadas em caixas isotérmicas. Este tipo de procedimento, caso adotado de maneira adequada, pode ainda permitir o isolamento da bactéria. Caso haja, no entanto, uma demora no envio ao laboratório ou uma má refrigeração do material, a possibilidade de um isolamento com êxito diminuirá, já que, como já foi referido anteriormente, trata-se de um microrganismo delicado e, portanto, de fácil inativação.

Em qualquer um dos casos, a coleta de material deve ser realizada preferencialmente a partir de várias aves (pelo menos duas ou três), o que aumentará a chance de isolamento. O local de eleição será os seios infraorbitários, dos quais se coletará o exsudato. É importante tomar-se alguns cuidados, como o de fazer a cauterização, com uma espátula quente, da pele da região sob os olhos onde será feita a coleta, e ao fazer o corte na mesma, fazê-lo com uma tesoura ou bisturi com lâmina estéril, executando o corte da esquerda para a direita, diminuindo assim os riscos de contaminação com outros microrganismos presentes nas regiões mais próximas ao bico da ave. A coleta propriamente dita pode ser feita com alça bacteriológica (de platina ou de níquel-cromo) ou com um swab de algodão estéril, inserindo-a profundamente no seio infraorbitário, igualmente buscando-se a região mais anterior, menos contaminada, onde o organismo pode ser encontrado em pureza. Há ainda a possibilidade de coletar material a partir da passagem de swabs na traquéia e nos sacos aéreos, com resultados variáveis. O material será então semeado diretamente em placa de Petri contendo ágar sangue, sobre o qual é realizada posteriormente uma semeadura pesada, em linha cruzada, com uma cultura de cepa de *Staphylococcus spp.* que esteja produzindo ativamente o fator V (NAD), essencial ao crescimento do *A. paragallinarum*. Embora devam ser sempre pré-testadas pelo laboratório, normalmente usa-se cepas de *S. hyicus*, *S. aureus* ou *S. epidermidis*. Posteriormente, incuba-se a 37°C em jarra anaeróbica, na qual pode-se deixar uma vela queimar até extinguir-se ou na qual se instala um sistema de produção de anaerobiose, obtendo-se em ambos um ambiente anaeróbico ou com baixíssima tensão de CO<sub>2</sub>. Após 24 a 48 horas de incubação, poderão ser observadas colônias minúsculas (normalmente até 0,3mm de diâmetro, podendo chegar a 1mm), do tipo “gota de orvalho”, translúcidas, não-hemolíticas, crescendo ao longo da (adjacentes à) linha de semeadura de *Staphylococcus*, num fenômeno chamado satelitismo.

A utilização de meios de cultura mais ricos, como ágar sangue contendo sangue equino hemolisado, proposta recentemente por alguns autores, indicou a possibilidade de crescimento de colônias maiores, além de não requerer semeaduras adicionais de bactérias alimentadoras e de inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas. A partir do isolamento, a bactéria deverá ser identificada morfológicamente (bipolaridade, coloração Gram negativa) e bioquimicamente (**Tabela 1.3**), para diferenciá-la de outros agentes semelhantes.

Tabela 1.3 - Testes diferenciais entre os Avibacteria e outros agentes selecionados*.
---

Propriedade	Avibacterium paragallinarum	Haemophilus avium	Avibacterium avium	A. volantium	A. espécie A
Pigmentação da colônia	-**		amarela V	-	amarela
Catalase	-**		+	+	
Crescimento aeróbico	-**		+	+	
ONPG	+**		V	-	
Arabinose	-**		V	-	
Galactose	-**		+	+	
Maltose	+**		V	-	
Manitol	+**		V	-	
Sorbitol	V**		V	-	
Sacarose	V**		+	+	
Trehalose	-**		+	+	
Descarboxilação da ornitina	-		V	-	

V	-			
$\beta$ -galactosidase +	V	+	V	-
D-frutose ND	ND	+	ND	ND
D-manose ND	ND	+	+	ND
Salicina	ND	ND	-	ND
Dulcitol ND	ND	-	ND	ND
Inositol ND	ND	-	ND	ND
Fosfatase/fosfo-aminidase ND	ND	+	ND	ND
Crescimento em ágar				
MacConkey ND	ND	-	ND	ND
Desidrolação da arginina ND	ND	-	ND	ND
Hidrolisação da uréia, gelatina e esculina	ND	-	ND	ND
Indol ND	ND	-	-	ND

+ = positivo; - = negativo; U = Usualmente; V = Variável; ND = Não Disponível. \* Adaptado a partir de Jordan *et al.* (2002) e Blackall & Matsumoto (2003).\*\* Propriedades consideradas típicas para amostras de *A. paragallinarum* isoladas da Alemanha, Argentina, Austrália, Brasil, China, EUA, Indonésia, Japão, Malásia e Quênia.

No caso do uso da técnica HP-2 PCR, mencionada anteriormente, a mesma foi validada utilizando colônias diretamente do ágar, muco extraído a partir da pressão sobre os seios nasais de aves vivas ou ainda swabs coletados dos seios nasais, sendo que neste último caso inclusive superou o método de cultivo convencional quando utilizado na rotina diagnóstica.

Outro procedimento diagnóstico que pode ser realizado é a inoculação de duas ou três aves sãs, diretamente por via intrasinusal, com material suspeito (exsudato ou culturas em suspensão). Caso o organismo esteja presente no material inicial, sinais clínicos aparecerão em um a três dias, sendo considerado diagnóstico para a CI. Usa-se este procedimento exclusivamente em aves porque nenhum animal de laboratório é suscetível ao agente.

**Diagnóstico diferencial:** apesar de muitas vezes poder ocorrer em conjunção com outras doenças (CI complicada), inclusive muitas delas respiratórias, a CI deve ser diferenciada principalmente das seguintes patologias:

**Varíola (Bouba aviária),** em sua forma diftérica: apresentará lesões nos tratos respiratório ou digestivo, com diferenciação por presença de placas amareladas na boca, seios e cavidades nasais, conjuntiva, faringe, laringe, traquéia ou esôfago. Haverá ainda dispnéia e inapetência, com as lesões na cavidade nasal ou conjuntiva levando à descarga nasal e ocular.

**Avitaminose A:** a deficiência de vitamina A, essencial para a manutenção da integridade das membranas mucosas, precisa ser severa por um período de dois a cinco meses para haver o surgimento de sinais. Causará inflamação e edemaciação dos olhos ou seios nasais, com exsudato muco-caseoso acumulando-se no saco conjuntival e com descarga nasal e ocular. O criador afirma que as aves estão com um “resfriado”. Há queda de postura e mau desenvolvimento das aves.

**Pasteurelose (Cólera) aviária crônica:** vide mais adiante, na segunda parte deste capítulo.

**Infecção por *Ornithobacterium rhinotracheale*:** vide mais adiante, na segunda parte deste capítulo.

**Síndrome da cabeça inchada:** poderá ocorrer em aves mais jovens, especialmente no caso dos frangos de corte, onde o inchamento tenderá a ocorrer ao redor de toda a cabeça do animal, e não somente nos seios infraorbitários. A sintomatologia mais aberta somente ocorrerá quando em associação com a presença de infecção secundária por *E. coli*.

## Prevenção e Controle

**Medidas de manejo:** por serem as aves portadoras (recuperadas da CI ou assintomáticas) a

principal fonte de transmissão do agente, deve-se evitar a introdução de aves em crescimento de origem desconhecida em um lote. Da mesma maneira, a criação de aves em idade única (all in, all out) dentro de um mesmo galpão, embora rara e difícil de ser implementada no setor de postura comercial de muitas regiões brasileiras, deve ser fortemente recomendada. Um bom manejo sanitário e medidas de biossegurança como isolamento entre os lotes de diferentes idades também são fundamentais. Para erradicar a doença de um local, deve-se isolar os lotes infectados ou recuperados da infecção, com o posterior esvaziamento dos mesmos na primeira oportunidade possível, com limpeza e desinfecção completas das instalações e dos equipamentos, e finalizando com um vazio sanitário de no mínimo uma semana, sendo o ideal um período de duas ou três semanas. Somente após este processo deve-se proceder ao repovoamento dos galpões, com aves livres do agente. A adição de desinfetantes à base de iodo na água de bebida, ou a sua cloração (manter uma concentração final de 1ppm no ponto de consumo) serão medidas importantes para controlar a disseminação do agente através de um dos principais veículos de transmissão, que é a água contaminada com as secreções das aves infectadas. A minimização dos fatores complicadores, especialmente a presença de *Mycoplasma* sp. nos lotes, será de grande valia na prevenção de surtos mais severos.

**Vacinação:** o uso da vacinação como medida preventiva à ocorrência da CI é importante e economicamente justificável, já que ela protegerá as aves contra as quedas de postura mais severas que ocorrem nos surtos. As vacinas mais utilizadas são as produzidas a partir de culturas totais do agente, inativadas com formalina ou timerosal, as quais possuem um adjuvante, que pode ser o gel de hidróxido de alumínio ou o óleo mineral (em emulsão única ou dupla), dependendo do propósito. O uso da dupla emulsão (a re-emulsificação de uma emulsão simples de água em óleo em outra fase externa de água) pode representar menores reações adversas, especialmente quando a vacina é administrada no músculo do peito. Recomenda-se a administração de duas doses da vacina, dadas subcutânea ou intra-muscularmente, cada uma delas contendo uma dose mínima do agente de pelo menos 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônia (ufc) por mililitro, dadas a primeira ao redor das 12 semanas de idade e uma segunda (oleosa) cerca de quatro semanas após. Em locais com alta incidência de CI, pode-se antecipar a vacinação, realizando a primeira dose entre a quinta e a sétima semanas e a segunda entre a 13ª e a 15ª semana de idade. Melhor proteção é obtida quando a vacina é administrada três a quatro semanas antes da ocorrência de um surto, bem como melhores resultados foram obtidos quando o local injetado foi o músculo da perna, quando comparado ao músculo do peito e à injeção subcutânea no pescoço. A rota intranasal não foi eficaz, enquanto a via oral foi efetiva, embora exija a administração de doses contendo 100 vezes mais cfu do agente do que na parenteral. Quando analisados pelo teste de HI, resultados indicaram que animais vacinados deveriam ter, no mínimo, um título de anticorpos de >1:5 em seus soros, o que conferiria uma proteção efetiva para cerca de 95% das aves contra desafios subsequentes. Títulos acima de 1:20 protegeriam 100% dos animais, enquanto que quando menores do que 1:5, a proteção seria de apenas 47% das aves. A proteção conferida pode durar cerca de nove meses, e a um custo médio de US\$0,075 por dose vacinal no Brasil, a prática oferece uma ótima relação custo-benefício quando comparada aos prejuízos que podem advir de um surto.

Uma questão fundamental que deve ser obrigatoriamente considerada quando se avaliam os aspectos favoráveis e desfavoráveis da vacinação para CI é o fato de que os sorovares presentes nas regiões deverão ser incluídos nas vacinas disponibilizadas para uso nestes locais, devendo, portanto, ser dada preferência ao uso de vacinas polivalentes, que incluam os sorovares dos

sorogrupos A, B e C de Page. Isto deve-se à falta de garantias quanto aos animais desenvolverem imunidade cruzada contra sorovares heterólogos. De fato, trabalho recente comprovou que dentro do sorogrupo A há em geral uma boa proteção cruzada entre seus quatro sorovares (A-1, A-2, A-3 e A-4), mas já entre alguns dos quatro sorovares do sorogrupo C haveria um reduzido nível de proteção cruzada. Baseados em seus resultados e na distribuição global de sorovares, os autores sugerem que a maioria das regiões avícolas estariam melhor servidas com uma vacina de CI inativada que contivesse cepas referência dos sorovares A-1, B-1 e C-2 de *A. paragallinarum*, ressaltando que outras combinações podem ser necessárias em regiões onde o sorovar C-3 esteja presente. Os dados deste oportuno estudo encontram-se resumidos na [Tabela 1.4](#). Cuidados adicionais devem ser tomados quanto ao risco de haver diferenças antigênicas entre os sorovares de um mesmo sorogrupo, tendo sido descrito na literatura que os isolados do sorogrupo A na Argentina seriam diferentes dos isolados do mesmo grupo na Europa, América do Norte, Ásia e Austrália. Tal trabalho, que utilizou um painel de anticorpos monoclonais para verificar estas diferenças, permitiu aos autores sugerirem que talvez as vacinas desenvolvidas para uso naquele país sul-americano seriam mais efetivas se desenvolvidas a partir de cepas locais. Estes achados vêm ao encontro de outros que, também na Argentina, detectaram a ocorrência de 17 surtos de CI complicada, onde 10 deles ocorreram em lotes vacinados com vacinas tradicionais, que segundo os autores não estariam protegendo contra as cepas regionais de *A. paragallinarum*. Todos estes elementos sugerem que algumas aparentes falhas vacinais à campo podem, em certos casos, ser devidas à deficiente proteção cruzada entre as cepas vacinais e as de campo, a qual pode ser causada por antígenos protetores cruzados que seriam expressados *in vivo* mas que seriam pouco ou nada expressados *in vitro*.

Tabela 1.4 - Proteção (em porcentagem) em grupos de aves vacinadas e desafiadas com cada sorovar de <i>A. paragallinarum</i> <sup>1,2,3</sup> .									
Vacina	A-1	A-2	A-3	A-4	B-1	C-1	C-2	C-3	C-4
Desafio									
A-1	100a		90a		90a		80a		
30b	10b		20b		30b		50b		
A-2	90a		90a		90a		30b		
11b	20b		50b		0b		60b		
A-3	100a		90a		100a		50b		30b
20b	20b		10b		50b				
A-4	100a		60b		70a		90a		

50b	30b	20b	30b	40b	
B-1 20b	10b 60b	50b 0b	30b 50b	10b	100a
C-1 100a	10b 50b	60b 80b	60b 100a	0b	50b
C-2 33b	0b 70a	40b 70a	50b 40b	10b 90b	
C-3 100a	30b 40b	50b 90a	40b 80b	11b	20b
C-4 70a	40b 50b	30b 70a	50b 40b	44b 100a	
Controle 0b	0b 0b	10b 0b	0b 20b	0b 30b	
<p>1 - Adaptado a partir de Soriano <i>et al.</i> (2004). 2 - Uma ave foi considerada protegida quando não demonstrou sinais clínicos durante o período de observação (2 a 7 dias) pós-desafio e não teve o agente re-isolado a partir de cultivo de material coletado dos seus seios nasais. 3 - Valores dentro de uma coluna seguidos de diferentes letras minúsculas (a,b) diferem em um nível de significância de 1%.</p>					

Vacinas mistas, contendo além de amostras de *A. paragallinarum* pertencentes aos 3 sorogrupos de Page, também dos vírus inativados da Bronquite Infecciosa, da Doença de Newcastle e da Síndrome da queda de postura encontram-se disponíveis no mercado nacional.

Finalmente, o uso de vacinas vivas, embora possam dar uma melhor proteção, podem gerar animais portadores ou até doença. Recentes estudos com cepas vivas atenuadas parecem promissores, bem como o uso de vacinas recombinantes.

## Tratamento

As aves respondem ao tratamento com antimicrobianos, especialmente com uma redução na severidade dos sintomas. Após cinco a sete dias de tratamento, frequentemente os sinais clínicos desaparecem quase que completamente. No entanto, o grande ponto negativo neste procedimento

será a recorrência que poderá ocorrer quando há interrupção do tratamento, além do fato de que o estado de portador não será eliminado, havendo persistência das aves portadoras no ambiente criatório. Esta resistência desenvolvida contra as drogas utilizadas, inclusive podendo ocorrer casos de multi-resistência, não é considerada ligada à presença de plasmídeos. Na verdade, a razão pode não estar na ineficiência da droga em si, mas sim no fato de que a mesma não é capaz de eliminar o agente em todas as aves e também do ambiente criatório, com os sinais clínicos recorrendo enquanto não houver o desenvolvimento de uma imunidade específica na maior parte das aves do lote. Assim sendo, previamente à definição da droga a ser utilizada no tratamento, a utilização de testes de sensibilidade a antimicrobianos é recomendada.

Várias sulfas e antibióticos serão úteis em aliviar os piores efeitos da doença, notadamente as combinações incluindo as sulfas (a maioria com possibilidade de administração na ração ou na água): sulfadimetoxina + trimetoprim, sulfaclopirazina + sulfadimidina e sulfadimetoxina + clortetraciclina. O uso destas sulfas deve trazer consigo o cuidado com os períodos de retirada da droga, especialmente em aves de postura comercial, os quais deverão ser rigorosamente observados, para evitar o comprometimento do produto para consumo humano. Da mesma forma, o uso da sulfa em poedeiras poderá interferir com a enzima anidrase carbônica, importante na formação da casca do ovo, causando problemas na casca do mesmo.

Outras drogas comumente utilizadas, com efeitos variados, são a estreptomicina (intra-muscular - IM), eritromicina (IM, na ração ou na água), tetraciclina (IM ou na água) e tilosina (sub-cutânea). Tratamentos com uso de produtos injetáveis são normalmente restritos a aves individuais ou pequenos lotes, devido à questão da disponibilidade de mão de obra.

Estudo realizado no México recentemente apontou isolados 100% sensíveis à penicilina, ampicilina e eritromicina; 95% sensíveis à tetraciclina; 80% à neomicina e 62,5% à estreptomicina.

Antimicrobianos desenvolvidos mais recentemente, como os derivados de segunda geração das quinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina, esafloxacina), além de um macrolídeo, a miporamicina, podem ser utilizados com boas chances de sucesso no tratamento da CI.

## **Pasteureloses e outras infecções bacterianas relacionadas**

### **Denominação e introdução**

O termo pasteurelose por décadas tem sido usado para referir a um grupo de doenças causadas por microrganismos do gênero *Pasteurellae* e *pasteurellae-like*. Outros patógenos importantes em avicultura e que também habitam o trato respiratório, tais como *Avibacterium gallinarum*, *Ornithobacterium rhinotracheale* e *Pasteurella haemolytica*, também serão abordados no presente texto.

Atualmente a família *Pasteurellaceae* é constituída de 10 gêneros, entre eles, *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Haemophilus* e o novo gênero *Avibacterium* (já tratado na primeira metade deste capítulo), onde foram classificadas espécies de microrganismos relacionados, após diversos estudos moleculares realizados. A taxonomia desta família tem sido de difícil definição e estão



nela incluídos outros grupos de patógenos animais que compartilham características genóticas e fenotípicas. Os microrganismos da família Pasteurellaceae estão envolvidos em várias doenças clínicas, principalmente de manifestação respiratória, em hospedeiros mamíferos, aves, répteis e outros.

O gênero *Pasteurella* atualmente inclui mais de uma espécie, entre elas, a *P. multocida*, que é a de maior importância para as aves, com suas três subespécies, considerada o agente causador da cólera aviária (CA), sendo que nenhuma das outras duas parecem estar envolvidas como agente etiológico em CA aguda ou ser de importância econômica em avicultura. Primariamente patógeno, este microrganismo adaptou-se à vida parasitária no epitélio das cavidades oral e do trato respiratório superior, de animais aparentemente saudáveis. A maioria das cepas apresenta especificidade de hospedeiro, sendo quase exclusivamente associadas a um ou dois hospedeiros específicos. A infecção é mais comum do que a doença, a qual normalmente ocorre como uma consequência de fatores de estresse, tais como superpopulação, frio ou calor excessivos, transporte ou doenças intercorrentes.

## Cólera aviária

### Introdução

A Cólera Aviária (CA) é uma doença contagiosa, que afeta as aves domésticas e silvestres, cujo agente causador é a bactéria *Pasteurella multocida*, como já mencionado, em uma de suas três subespécies. Tipicamente, ocorre como uma fulminante doença septicêmica, resultando em alta morbidade e mortalidade. Pode persistir como doença crônica, produzindo artrite, pneumonia e inflamação nas barbelas. Muitas espécies de aves e a maioria dos animais domésticos podem ser carreadores de *P. multocida*, mas nem todas as cepas isoladas destes animais são capazes de produzir doença nas aves. Desde o momento em que a doença é introduzida em um lote, ela é disseminada rapidamente, devido ao contato de ave a ave, a contaminação da água de bebida e do ambiente das instalações. Relatos de literatura descrevem a doença em aves silvestres, aves caipiras e em criações industriais de galinhas e principalmente de perus, causando grandes perdas econômicas.

A infecção por *P. multocida* em humanos está confirmada pela observação da doença predominantemente entre a população rural, quando agredidos por mordedura de animais de companhia ou de suínos. Não existe relato de transmissão direta das aves para os seres humanos ou vice-versa, mas esta possibilidade não pode ser excluída.

### Histórico

O isolamento de cepas de *P. multocida*, por pesquisadores diferentes, em diversos lugares, animais e épocas, motivou a difusa nomenclatura com que se designou o grupo. A doença foi estudada na França por Chabert em 1782, enquanto em 1836 Maillet foi o primeiro cientista a usar o termo CA. Benjamin, em 1851, deu uma boa descrição da doença e demonstrou que ela poderia ser disseminada por coabitação, formulando procedimentos para sua prevenção.

Posteriormente, em 1877, Perroncito na Itália e em 1878 Semmer na Rússia observaram nos tecidos de aves afetadas pela moléstia, uma bactéria de forma arredondada, ocorrendo tanto

sozinha como em pares. No mesmo período, Bollinger (1878) associou este microrganismo a uma enfermidade mortal, que afetava animais silvestres e o gado bovino. Em 1879, Toussaint isolou a bactéria e provou que ela causava doença.

Coube a Louis Pasteur, em 1880, a descrição mais completa da doença nas aves, bem como estudos sobre a utilização desta bactéria atenuada para induzir a imunidade em hospedeiros. Devido a isto, o nome *Pasteurella* foi dado ao gênero, em reconhecimento ao trabalho deste cientista. Para denominar a doença, Huppe (1886) se referiu a uma septicemia hemorrágica e Lignières em 1900 usou o termo *Pasteurelose Aviária*. Em 1935, Gay e seus colaboradores propuseram o nome de *Pasteurella pluriseptica* ou *septica*, e em 1936, Topley e Wilson, baseados em estudos comparativos, propuseram o nome *Pasteurella septica*. Rosenbusch, em 1937 e Rosenbusch e Merchant em 1938, empregaram o nome *Pasteurella multocida* para os microrganismos típicos da septicemia hemorrágica. Vários sistemas de classificação sorológica têm sido idealizados para tentar correlacionar especificidade de sorotipos ou cepas, com especificidade de hospedeiro, virulência ou doença. Os sistemas mais amplamente usados foram aqueles de Carter, Namioka & Murata e Heddleston. Atualmente, encontram-se publicados os resultados de diversos estudos moleculares realizados, e entre eles o de Blackall *et al.* (2005), que descreve uma importante investigação fenotípica e genotípica da taxonomia de algumas espécies dos gêneros *Haemophilus* e *Pasteurella*, reclassificando-os em um novo gênero denominado *Avibacterium* (vide a primeira parte deste capítulo).

## Distribuição e ocorrência

A *Pasteurella multocida* se encontra disseminada por todo o mundo, e com frequência provoca graves perdas econômicas. Entretanto, pelo fato de se isolar a bactéria da flora normal do trato respiratório e digestivo de muitas espécies de animais sadios, se tem duvidado do seu importante papel de patógeno primário. A *P. multocida* atua também como agente secundário em outras enfermidades, devido a fatores predisponentes como a imunossupressão resultante das Doenças de Marek e de Gumboro, pelas micotoxinas e ainda por deficiências nutricionais.

A Cólera Aviária ocorre esporadicamente na maioria dos países, algumas vezes causando alta mortalidade com grandes perdas econômicas e em outras não sendo tão significativas. No início do desenvolvimento da avicultura brasileira, a ocorrência de infecção por *P. multocida* era comum em criações semi-industriais; entretanto, com a industrialização e adoção de programas de biossegurança, a doença foi controlada. Atualmente no país, devido à maximização de uso das instalações através da reposição de lotes com menor intervalo de descanso e aumento da densidade de aves, a incidência de CA está sendo descrita principalmente em explorações industriais de perus e galinhas matrizes pesadas, seguindo-se nas galinhas destinadas à produção de ovos comerciais e matrizes leves com idade entre 8 a 40 semanas, associada ou não à Coriza Infecciosa. A doença tem sido descrita também em criações de aves semi- extensivas e caipiras em vários países.

Por outro lado, nenhum país pode se considerado livre de CA pelo fato da *P. multocida* a ter um vasto habitat que inclui superfícies mucosas de uma variedade de animais domésticos e silvestres. O controle da enfermidade deverá ser realizado pela aplicação de medidas de biossegurança nas fazendas de produção.

## Etiologia

A *P. multocida*, o microrganismo que causa a CA, pertence ao gênero *Pasteurella*, da família Pasteurellaceae. O nome *Pasteurella multocida* é aceito como oficial, segundo o Manual Bergey, sendo usado exclusivamente para este agente ao redor do mundo.

A *P. multocida* é um bastonete pequeno (0,25 a 0,4µm de largura por 0,6 a 2,6µm de comprimento), imóvel e não forma esporos. Depois de repetidos cultivos em ágar, a bactéria tende a formar bacilos largos, resultando em pleomorfismo e dando origem a cadeias, filamentos e bacilos de vários tamanhos. A presença de cápsula pode ser demonstrada em isolados recentes, usando métodos indiretos de coloração. Elas variam muito de tamanho e com- posição. As cepas virulentas podem perder sua cáp- sula depois de repetidos cultivos em meios artifici- ais. Por ser Gram-negativa, quando se coram esfregaços de sangue ou tecidos com azul de metileno ou fucsina fenicada, a bactéria aparece com a coloração bipolar típica. A presença de fimbrias já foi relatada.

Trata-se de um microrganismo aeróbio e anaeróbio facultativo, tendo seu crescimento ótimo à 37°C, com um pH de 7,2 a 7,8, podendo ocorrer crescimento em taxas de 6,2 a 9,0, dependendo da composição do meio de cultura. O emprego de meios contendo proteína digerida ou proteose-peptona estimula o crescimento da bactéria. Pode cultivar- se em caldo comum, mas se obtém melhor crescimento quando o meio é enriquecido com soro de ave. Entretanto, sangue ou soro de eqüinos, bovinos ou ovinos inibe o crescimento de *P. multocida*. Ágar Dextrose com 5% de soro de ave é um excelente meio para o crescimento e isolamento de *P. multocida*.

A morfologia macroscópica da colônia, observada com o emprego de luz oblíqua, é uma das características mais usadas nos estudos. Ela varia de cepa para cepa e de acordo com a composição do meio, estando relacionada com a virulência da amostra. Podem ser observados três tipos principais de colônias, sendo as primeiras as do tipo iridescente de tamanho médio (2 a 3mm), circulares, opacas, geralmente lisas, convexas, translúcidas, brilhantes e patogênicas, que são normalmente isoladas de casos agudos de CA. Já o segundo tipo, as colônias azuis, são pequenas, circulares (1 a 2mm), lisas, ligeiramente convexas ou planas, translúcidas e de virulência relativamente baixa, sendo isoladas de casos crônicos de CA. O terceiro tipo é intermediário em suas propriedades de iridescência e virulência. Experimento utilizando amostras virulentas de *P. multocida* de origem aviária produziu colônias iridescentes, que dissociaram-se antigenicamente in vitro e produziram colônias azuis. As propriedades bioquímicas da *P. multocida* encontram-se na [Tabela 1](#).

Tabela 1 - Testes diferenciais utilizados para diferenciar *Pasteurella multocida* de outros microrganismos relacionados.

Propriedade	<i>Pasteurella</i>	<i>Avibacterium</i>	<i>P. haemolytica</i>
<i>Riemerella</i>	<i>Ornithobacterium multocida</i>	<i>gallinarum</i> ( <i>Gallibacterium</i>	
<i>anatipestifer</i>	<i>rhinotracheale</i>		
( <i>P. gallinarum</i> )	spp)		

Hemólise em ágar sangue v -	-	-	+
Crescimento ágar MacConkey - -	-	-	V
Fermentação de glicose - +u	+	+	+
Fermentação de lactose V -	-u* +	-	-
Fermentação de sacarose - -u	+	+	+
Produção de catalase +	+ —	+	+
Liquefação de gelatina +u -	-	-	-
Nitrato - -	+	+	+
Urease - +	+ -	-	-
Arginina dihidrolase - (+)	-	-	-
Omitina descarboxilase - -	+	-	-
Indol - -	+ -	-	-

D(+)	xilose	+	-	+	V ND
D(-)	manitol	+	-	-	+
D(-)	sorbitol	V	-	-	V
D(+)	galactose	(+)	-	+	+
Maltose	(+)	+u	-	+	V
Trehalose	V	-	-	V	+
Dextrina	(+)	ND	-	+	V
$\alpha$ -galactosidase	+	+	-	-	ND
$\alpha$ -glucosidase	+	+	V	+	-
<p>+: e" 90% das cepas positivas dentro de um ou dois dias; -: e" 90% das cepas negativas;(+): e" 90% das amostras positivas dentro de três ou quatro dias;V: Variável;-u usualmente negativa;+u usualmente positiva; ND = Não Disponível</p>					

O agente é facilmente destruído pelos desinfetantes comuns, luz solar, dessecação ou calor. A 56°C, a bactéria morre em 15 minutos, e a 60°C em 10 minutos. No solo, com umidade de 50%, temperatura de 20°C e em pH 5.0, *P. multocida* sobrevive por cinco a seis dias, em pH 7,0 por 15 a 100 dias e em pH 8,0 por 24 a 85 dias.

### Estrutura antigênica

Três subespécies de *P. multocida* têm sido reconhecidas, baseando-se em hibridização de DNA e

propriedades fenotípicas: multocida, gallicida, e septica. As três subespécies podem ser isoladas de surtos de CA, entretanto a multocida é a mais encontrada em galinhas e perus e em menor porcentagem é isolada a subespécie septica. A subespécie gallicida é principalmente associada com aves palmípedes.

A convencional distribuição em subgrupos está vinculada à determinação sorológica de antígenos capsulares e somáticos específicos. Antígenos específicos da cápsula são identificados usando o teste de hemaglutinação passiva. São reconhecidos cinco sorogrupos (A, B, D, E e F), que são designados por letras maiúsculas. Os microrganismos pertencentes às cepas A e D normalmente infectam hospedeiros aviários, sendo que a subespécie multocida e o sorogrupo A são mais freqüentemente isolados de casos da forma mais severa de CA. Cepas encapsuladas pertencentes aos grupos B ou E não têm sido relatadas em aves. Cepas do grupo capsular E têm sido isoladas somente na África, a partir de outros hospedeiros que não as aves. Cepas do grupo capsular B foram isoladas de aves no Irã. Microrganismos do grupo capsular F foram recentemente demonstrados, sendo que todas as cepas relatadas foram isoladas de perus.

A sorotipagem somática é feita pelo teste de aglutinação em tubo e pela difusão em gel de ágar, sendo identificados por um algarismo arábico. A especificidade do sorotipo somático parece ser determinada por uma complexa composição de lipopolissacarídeos. Dezesesseis sorotipos somáticos diferentes são descritos e numerados de 1 a 16, sendo que todos eles têm sido isolados de diferentes espécies de aves. Muitas cepas podem ter características de mais de um sorotipo somático. Embora haja a descrição de que alguns sorotipos somáticos predominem, nenhum em particular parece ser mais ou menos virulento que outros. A sorologia da *P. multocida* é complexa, e estudos futuros podem aumentar o número de sorotipos e subtipos identificados. Sensibilidade à ação de fagos também tem sido estudada, e utilizada como base para agrupar amostras de *P. multocida*.

## Patogenicidade

A patogenicidade ou virulência de *P. multocida* é complexa e varia desde os casos de extraordinária atividade até outros em que é relativamente avirulenta. A dependência está na amostra, na espécie de hospedeiro, nas variações entre os dois e nas condições de contato entre eles. Em geral, a *P. multocida* é um habitante normal das vias aéreas dos animais e pode subitamente demonstrar patogenicidade quando o equilíbrio hospedeiro-parasita é perturbado. Isto ocorre quando está deprimido o sistema de defesa do hospedeiro, devido a estresses, mudanças ambientais ou a infecções intercorrentes. Para iniciar uma infecção, a *P. multocida* deve primeiro colonizar a parte superior do trato respiratório do hospedeiro, aderir e invadir as células epiteliais. Estudos realizados com a utilização de microscopia eletrônica sugerem que a *Pasteurella* não se adere às células epiteliais ciliadas dos anéis traqueais, mas sim às microvilosidades das células não ciliadas.

A cápsula é considerada um fator de virulência para *P. multocida*, porque variantes não encapsuladas de amostras patogênicas são menos virulentas do que as formas encapsuladas. Aparentemente existe variação da virulência entre os grupos capsulares, pois os surtos severos de CA geralmente resultam de infecção com microrganismos de mais de um grupo capsular. Os microrganismos pertencentes ao grupo capsular B que têm sido examinados possuem pouca ou nenhuma importância para galinhas ou perus. Não existe evidência de variação dentro do grupo,

porque todas cepas do grupo A são altamente virulentas, e comparações entre as cepas do grupo F indicam diferenças na virulência. Relativamente pouca informação está disponível na distribuição e virulência dos vários grupos capsulares de *P. multocida* que infectam as aves. Também contribuem para perda da virulência as trocas dissociativas ou de variação que ocorrem espontaneamente com algumas cepas nos meios de cultivo.

Embora a cápsula seja indicada como o mais importante fator de virulência, existem outros fatores que provavelmente influenciam o efeito da infecção. Os mais citados são endotoxinas, proteínas externas de membrana, proteínas de choque térmico, produção de neuraminidase, resistência ao soro e enzimas de clivagem de anticorpos.

No tocante à sua patogênese, a *P. multocida* normalmente penetra nos tecidos das aves através das membranas mucosas da faringe e do trato respiratório superior, mas também pode entrar através de conjuntiva ou por lesões cutâneas. A doença ocorre devido à rápida invasão do hospedeiro, com o agente multiplicando-se em muitos tecidos até que sobrevenha uma septicemia avassaladora. A virulência das cepas que causam a CA está relacionada à sua habilidade de resistir à fagocitose no interior dos tecidos.

Quando a população de *P. multocida* atinge um grande número, é provável que haja autólise, e a toxina é liberada em quantidade suficiente para ser lesiva aos tecidos do hospedeiro. Aves inoculadas com um filtrado de culturas autolisadas apresentaram sinais de toxicidade similares àqueles observados em casos agudos de CA, sendo que nestas aves também se observou uma severa hiperemia passiva, que foi considerada indicativa de choque e atribuída à ação da endotoxina. Toxinas purificadas *in vitro* deprimem o processo de respiração mitocondrial das células musculares cardíacas, afetando em graus diferentes, diferentes espécies animais. As endotoxinas são produzidas por cepas virulentas e avirulentas de *P. multocida*, e é necessário que haja invasão e multiplicação da amostra para produção de endotoxina e contribuição desta nos processos patológicos. Também são encontradas toxinas protéicas termo-lábeis em cepas dos sorogrupos A e D, isoladas de diferentes espécies animais.

## **Patogenia e Epizootia**

A CA afeta e *P. multocida* tem sido isolada de galinhas, perus, patos e gansos, isto é, praticamente todas as aves domésticas, aves silvestres, ratos e camundongos. Os perus são mais suscetíveis à infecção do que as galinhas, e dentre estas, as com idade de 16 a 40 semanas são mais suscetíveis do que as aves jovens. No Brasil já foram relatados surtos da infecção em lotes de perus, onde os suínos criados na mesma propriedade, além dos roedores, foram identificados como a fonte de infecção. Para controlar a enfermidade foi necessário, em algumas situações, escolher um dos tipos de animais, perus ou suínos, para explorar comercialmente na propriedade.

A doença é mais freqüente durante as estações quentes, particularmente quando da ocorrência de ondas de calor. O estado imune do hospedeiro pode ser associado com proteção contra a doença, embora as aves possam estar protegidas somente contra a amostra da bactéria com a qual elas tiveram um prévio contato. A doença pode espalhar-se tão rapidamente que as medidas de controle tornam-se ineficientes. Em condições experimentais, 90 a 100% de perus adultos morreram em um prazo de 48 horas após serem inoculados com uma cepa altamente virulenta. Pesquisadores que estudaram a resistência genética para *P. multocida*, em linhagens comerciais de

perus, concluíram que linhagens com menor tendência para ganho de peso apresentam maior resistência a desafios por *P. multocida*. Em galinhas naturalmente infectadas, a mortalidade pode variar de 0 a 20%, com a ocorrência de grandes perdas econômicas. Pesquisas foram desenvolvidas para obter informação da estabilidade genética e da diversidade das cepas de *P. multocida*, utilizando isolados de surtos ocorridos em duas granjas. Os pesquisadores concluíram que uma única cepa foi capaz de entrar em uma granja e causar a enfermidade e alta mortalidade nos vários lotes de aves, que são repostos, para produção de ovos.

As galinhas são mais suscetíveis a CA quando sofrem estresses de variada natureza, por exemplo, restrição alimentar, transferência de instalações e alterações bruscas nas fórmulas da ração. Em condições experimentais, aves adultas inoculadas podem morrer dentro de 24 a 48 horas, enquanto na exposição natural as aves infectadas podem levar até 2 semanas para iniciar a mortalidade.

Gansos e patos domésticos também são altamente suscetíveis à CA. Em gansos, a mortalidade pode alcançar 80%, sendo que em patos as perdas ocorrerão em torno das quatro semanas de idade, com uma mortalidade que pode alcançar 50%. Aves de rapina, aves aquáticas e outras aves mantidas em zoológicos ocasionalmente podem sucumbir à infecção por *P. multocida*.

*P. multocida* isoladas de aves com CA normalmente matam coelhos e camundongos, mas outros mamíferos são resistentes à infecção. Coelhos, camundongos, pingüins e pardais morrem por septicemia aguda, quando expostos pela via intranasal a isolados de *P. multocida* de casos agudos de CA. Gatos, furões, carneiros, suínos e bezerros não mostraram nenhuma resposta clínica ao microrganismo isolado de aves. Cavalos, bovinos, carneiros, suínos, cães e gatos foram refratários à inoculação oral, entretanto a inoculação subcutânea resultou em abscessos localizados e estes animais sucumbiram à inoculação intravenosa. Gatos e ratos são os principais reservatórios de *P. multocida* nas granjas avícolas.

É quase impossível determinar como se deu a introdução de *P. multocida* em uma granja, mas um importante aspecto da epidemiologia da enfermidade é que a bactéria pode ser carregada por animais que não mostram sinais clínicos da infecção. Em áreas geográficas de grande produção avícola, a ocorrência de surtos de CA em aves silvestres representa um importante fator de risco para as produções intensivas e semi-intensivas de aves, se as medidas do programa biossegurança não estiverem sendo seguidas rigidamente.

Pelo fato de *P. multocida* ser relativamente sensível aos agentes físicos e químicos, o animal portador desempenha um papel essencial na infecção para hospedeiros suscetíveis. A transmissão somente ocorre pela via horizontal, de ave a ave.

A *P. multocida* habita preferencialmente o trato respiratório superior das aves, sendo os animais cronicamente infectados e os sobreviventes de surtos de CA considerados os mais importantes reservatórios da infecção. Um estudo realizado na Dinamarca demonstrou que 35% dos lotes de palmípedes e 38% dos lotes de frangos apresentavam animais portadores de *P. multocida* pela pesquisa da bactéria nas mucosas faríngea ou cloacal. Neste estudo das aves afetadas por CA, a bactéria apresentou maior prevalência na mucosa da cloaca.

Normalmente um lote se infecta através da introdução de aves portadoras, por contato com aves silvestres (pardal, pombo, urubu, garça) e através de roedores contaminados. A disseminação



dentro do lote ocorre através de excreções orais, nasais e conjuntivais de aves doentes, contaminando água, ração, instalações e meio ambiente. As fezes das aves também podem conter células viáveis de *P. multocida*. Pode ocorrer também a disseminação por meio do canibalismo de aves mortas, mecanicamente através das pessoas, equipamentos, vacinação e inseminação artificial. Pessoas podem se tornar infectadas e transmitir a infecção para as aves, através de secreções do nariz e da boca.

Animais domésticos presentes em uma granja avícola podem ser portadores sadios de *P. multocida* e transmiti-la para as aves. Os insetos como, moscas, ácaros e malófagas também podem servir como vetores da doença. A transmissão da bactéria através dos ovos raramente ocorre. Um estudo utilizando mais de 2000 ovos frescos e embrionados de galinhas infectadas com *P. multocida* na sua forma crônica não evidenciou a transmissão da bactéria através dos ovos.

A CA é mais freqüente durante as estações de temperaturas extremas. Esta ocorrência sazonal é devida às circunstâncias que provocam a queda da resistência do organismo das aves e também devido à exposição aos fatores de susceptibilidade.

### **Sinais clínicos**

Nas infecções agudas, o período de incubação varia de algumas horas a dois ou três dias. A doença pode evoluir tão rapidamente que as aves morrem em progressão geométrica, sem apresentar sintomas e em boas condições físicas, chegando a 80 a 90% das aves afetadas, se não houver tratamento.

As aves acometidas pela doença recusam-se a andar e apresentam-se tristes, com penas arrepiadas, inapetentes, com sonolência e febre, descarga mucosa pela boca e aumento da taxa respiratória. A diarréia apresenta-se inicialmente de maneira profusa, aquosa, de cor esbranquiçada, passando a seguir ao amarelo e chegando à cor esverdeada, e às vezes com caráter de muco ou sanguinolentas. Cianose freqüentemente ocorre imediatamente antes da morte, sendo evidente na crista e barbelas. A morte, em alguns casos, é precedida por convulsões. Alta mortalidade pode ocorrer em consequência de fatores estressantes, tais como ondas de calor e também pela influência do efeito imunossupressor das micotoxinas. Aves que sobrevivem ao estágio inicial da septicemia aguda podem tornar-se cronicamente infectadas ou mais tarde sucumbir aos efeitos debilitantes da infecção, como, por exemplo, a desidratação.

A forma crônica pode ser vista em aves que sobreviveram à forma aguda da doença, ou pode resultar da infecção com *P. multocida* de baixa virulência, prolongando-se por semanas ou mesmo meses. Desta maneira, quando a enfermidade atinge lotes de perus, a mortalidade é imperceptível, notando-se apenas um aumento de condenações no abatedouro. Em outras aves, os sinais predominantes são o enfraquecimento progressivo e palidez de crista e barbelas. Os sinais dependem da localização da bactéria e dos órgãos envolvidos, sendo geralmente relativos a infecções localizadas envolvendo articulações, coxim plantar, cavidade peritoneal, oviduto e até ouvido médio, causando torcicolo e opistótono. Os sinais vistos são: barbelas inchadas, osteomielite, artrite e inflamação da bolsa esternal. Conjuntivite e lesões na faringe podem ser observadas, e a presença de muco na traquéia e dispnéia podem ser resultado da infecção do trato respiratório. Em poedeiras e reprodutoras, os sinais podem iniciar por um corrimento mucoso nasal com ligeiro edema nos seios infra-orbitários, evoluindo lentamente para infecções

supurativas localizadas, geralmente no trato respiratório. Em perus é freqüente a pneumonia, enquanto nas galinhas é comum a aerossaculite purulenta. O edema de barbela aparece, às vezes, como uma forma localizada da doença, geralmente unilateral, com duração de 3 semanas e evoluindo para a cura. A queda na produção de ovos e a baixa mortalidade podem continuar no lote afetado por dois meses ou mais.

Atualmente a *P. multocida* é um importante microrganismo que pode aparecer associado aos agentes causadores primários de enfermidades respiratórias com a Coriza Infecciosa, micoplasmoses, pneumovirose dentre outros, participando ativamente das síndromes respiratórias de difícil controle. Aves cronicamente infectadas podem morrer, permanecer infectadas por um longo período ou recuperarem-se, tornando-se aparentemente sadias e uma perigosa fonte de infecção para outras aves.

## **Imunidade**

Louis Pasteur, em 1880, induziu a produção de anticorpos em aves, protegendo-as contra subseqüente exposição, utilizando cepas avirulentas e atenuadas. Desde que este clássico trabalho foi desenvolvido, numerosas tentativas de produção de vacinas eficientes têm sido feitas, mas com resultados irregulares na profilaxia da CA. As vacinas que usam *P. multocida* morta são preparadas usando cepas imunogênicas selecionadas em meios adequados e suspensas em solução salina formolizada, sendo os microrganismos mortos incorporados a um adjuvante e injetados por via subcutânea. O sorotipo somático de *P. multocida*, e não o sorotipo capsular, é o importante para indução da imunidade vacinal, sendo que as bacterinas induzem uma resposta imune de proteção somente contra o sorotipo somático incluído na vacina.

Não existe dúvida de que em condições controladas, uma boa imunidade pode ser induzida em aves, mas em condições de campo, perdas devido à CA podem ocorrer em lotes vacinados. As falhas podem ser devidas à vacina imprópria preparada, a maus procedimentos de vacinação, aves com o sistema imune debilitado, doenças intercorrentes, presença de micotoxinas na dieta ou infecção por cepa que não apresenta imunidade cruzada com a da vacina.

Estudos experimentais mostraram que as bacterinas preparadas com tecidos de perus infectados ou com a bactéria viva administrada pela água de bebida, induziram imunidade em perus contra diferentes tipos imunogênicos, e que a bactéria produzida com microrganismos crescidos em meios artificiais não induziu à imunidade cruzada, demonstrando que a *P. multocida* produz in vivo imunógenos que não são produzidos quando esta é cultivada em meios artificiais.

Vários são os estudos realizados com vacinas vivas e mortas, sendo que hoje no mercado existem vacinas vivas para administração oral em perus e administração parenteral em galinhas. Antes da descoberta da cepa viva avirulenta de *P. multocida* Clemson University (CU), a mortalidade em perus devido à CA poderia alcançar taxas de 100% nos lotes afetados. A cepa CU tem sido amplamente usada como uma vacina viva para criações de perus e galinhas. Entretanto, há alguns anos tomou-se consciência de que a vacina viva CU pode causar CA clínica, e devido a isto tem-se renovado o interesse em vacinar frangas de reposição com vacina inativada de *P. multocida*. Este interesse em determinar os sorotipos de *P. multocida* isolados de surtos de campo aumentou porque as bacterinas protegem pobremente contra desafios por cepas heterólogas da bactéria. Todas as vacinas vivas de *P. multocida* têm um potencial para causar uma baixa incidência de CA

crônica, se as aves estiverem sob estresse, enfermas ou se a vacina for aplicada inadequadamente. A variedade de sorotipos que se apresentam causando o aparecimento de CA leva a pensar que a vacinação seja de valor discutível.

## **Diagnóstico**

Um diagnóstico presuntivo rápido de CA poderá ser feito por um profissional experiente, baseando-se nas observações clínicas e lesões encontradas na necropsia. Isto será de grande utilidade onde a doença for endêmica, e é essencial para recomendação de um pronto tratamento. O diagnóstico definitivo da doença deve ser baseado nos sinais clínicos, nas lesões macroscópicas observadas na realização da necropsia e no isolamento e identificação da *P. multocida*.

## *Lesões*

As lesões provocadas por *P. multocida* na CA variam em tipo e severidade. A maior variação está relacionada com o curso da doença, ou seja, formas aguda e crônica. Sinais da infecção e lesões podem ocorrer de maneira intermediária a aqueles descritos para forma aguda e crônica. Quando a doença apresenta-se de forma aguda, a maioria das lesões está associada com distúrbios vasculares. A hiperemia geral que ocorre é mais evidente nas veias das vísceras abdominais. As aves mostram hemorragia petequial disseminada pelas superfícies serosas, particularmente no coração, pulmão, gordura abdominal e mucosa intestinal. Em galinhas e patos que morreram de CA experimentalmente induzida, foram observadas disseminada coagulação intravascular, típica de endotoxemia, e trombose fibrinosa. Em lotes de perus afetados já foi observada a presença de sangue na cavidade oral, talvez devido à hemorragia que pode ocorrer no proventrículo ou nas partes superiores do sistema digestivo e respiratório. Frequentemente ocorre o aumento dos fluidos do pericárdio e do peritônio. O fígado de aves com infecção aguda apresenta-se hipertrofiado, congesto e pode conter múltiplas áreas focais de necrose, provavelmente devido à endotoxina e infiltração heterofílica, o que não aparece nas infecções por cepas de *P. multocida* menos virulentas. Infiltração coagulativa heterofílica também pode ocorrer nos pulmões e em outros órgãos parenquimatosos. Os pulmões dos perus são mais severamente afetados com pneumonia, podendo ainda apresentar zonas de congestão e pequenos abscessos, principalmente de maneira unilateral. Grande quantidade de muco viscoso pode ser observado na faringe, papo e intestinos, que apresentam também congestão da mucosa ou hemorragias petequiais subserosas, mais pronunciadas no duodeno e reto. Os ovários das galinhas estão comumente afetados, apresentando folículos flácidos, vasos hiperêmicos e folículos rompidos no abdômen.

A CA na sua forma crônica é caracterizada por infecções localizadas que podem tornar-se supurativas e amplamente distribuídas anatômica-mente. O trato respiratório é local de eleição para a localização de *P. multocida*, mas ela também pode ser encontrada nos ossos pneumáticos, cavidade peritoneal, coxim plantar, oviduto e articulações, os quais podem conter acumulação de fluido sero-fibrinoso. A conjuntiva e tecidos adjacentes também podem albergar a bactéria, que pode causar edema facial pela presença de material caseoso, sendo que a crista e as barbelas podem estar inflamadas e endurecidas. Infecções crônicas podem se localizar no ouvido médio, ossos do crânio e meninges. Nestes sítios foram observados exsudato caseoso, infiltração heterofílica e fibrina.

## *Diagnóstico laboratorial*

O isolamento da *P. multocida* dos órgãos de aves que sucumbiram à forma aguda da doença e de lesões exsudativas de aves com a forma crônica, é geralmente fácil. O isolamento de aves cronicamente afetadas que não têm evidência da doença é freqüentemente difícil. Nesta condição ou quando ocorreu a decomposição dos tecidos do hospedeiro, a medula óssea é o tecido de escolha para isolamento do agente.

Pode-se demonstrar os microrganismos bipolares típicos em impressões (clap) de fígado e esfregaços sangüíneos, tingidos pelo método de Wright. O agente pode ainda ser identificado em tecidos ou exsudatos pela técnica de imunofluorescência.

Para o isolamento, deve-se coletar material da medula óssea, fígado, sangue cardíaco, meninges e de lesões localizadas. Das aves vivas pode-se coletar swab nasal e muco das narinas. Os espécimes devem ser colocados em caldo peptonado e/ou semeados diretamente em ágar contendo 5% de soro de galinha, em ágar sangue ou em outro meio apropriado, utilizando swab ou alça bacteriológica. A semeadura deverá também ser feita em ágar MacConkey, para ajudar na identificação. Colônias características de *P. multocida* devem ser transferidas para tubos com ágar amido-glicose inclinado, sendo incubados por 18 a 24 horas. As provas bioquímicas usuais incluem a fermentação de glicose, sacarose, manitol, maltose e lactose. A *P. multocida* fermenta glicose, sacarose e manitol sem a produção de gás. Lactose geralmente não é fermentada, exceto em alguns casos raros. A *P. multocida* não produz hemólise em ágar sangue nem cresce em ágar MacConkey (Tabela 2.1).

O material contendo a *P. multocida* poderá ser inoculado em coelhos, hamsters ou camundongos, subcutânea ou intraperitonealmente, na dose de 0,2mL, com a morte ocorrendo em 24 a 48 horas, podendo a cultura pura de *P. multocida* ser isolada a partir do fígado, sangue ou coração destes animais.

O diagnóstico sorológico através de soroaglutinação rápida, imunodifusão ou teste de ELISA pode apresentar resultados confusos na CA crônica, e ser de pouco valor nos casos agudos.

O uso da PCR tem sido relatado em estudos epidemiológicos de surtos de CA, mostrando-se promissores auxiliares do diagnóstico. Entretanto, ainda não há efetivos estudos de avaliação que demonstrem a habilidade destes novos testes para distinguir entre isolados típicos, atípicos e de outras bactérias semelhantes à *P. multocida*, encontradas nas espécies aviárias. Um importante ponto é que os testes de PCR têm sido validados pelo uso em culturas puras ou caldos enriquecidos e não em exame direto de amostras teciduais do organismo das aves infectadas. Até esta data existem tecnologias diferentes para tipificar cepas de *P. multocida* de origem avícola. Entre elas destacam-se a análise da restrição da endonuclease (REA), ribotipagem, gel de eletroforese em campo pulsado, repitative extragenic palidromic-PCR (REP-PCR) e multi-locus enzyme eletroforese (MLEE).

O desempenho destas técnicas de tipificação da *P. multocida* de origem avícola é examinada com crítica por pesquisadores, que recomendam que, para laboratórios menores que investigam surtos de CA, os métodos de tipagem indicados são os testes de REA e REP-PCR; para os laboratórios de referência, onde são estudadas grandes coleções de isolados, a MLEE aliada aos dois outros

métodos parece ser a técnica mais sensível. Os testes de PCR requerem uma avaliação rigorosa para conclusivamente demonstrar sua efetividade. Devido a isto, o uso da PCR em material clínico permanece como um significativo desafio, não devendo tais técnicas serem utilizadas isoladamente e indicando o uso em paralelo com outros testes convencionais.

## **Diagnóstico diferencial**

A CA na sua forma aguda pode ser facilmente confundida com outras doenças septicêmicas que causam mortes súbitas e mortalidade em altas taxas, apresentando lesões hemorrágicas. Em surtos onde os lotes apresentam altas porcentagens de mortalidade em curto período, aliados aos sinais clínicos de cianose na crista e barbelas e lesões hemorrágicas, o profissional de campo responsável pelo atendimento deverá usar o bom senso e diferenciar de Doença de Newcastle e de outras enfermidades respiratórias de caráter agudo, que apresentam o mesmo quadro clínico de CA. O diagnóstico de laboratório deve ser diferenciado principalmente de outros microrganismos que apresentam semelhantes exigências e características de crescimento. Entre outras, se deve diferenciar a *P. multocida* de *Avibacterium gallinarum*, *Gallibacterium anatis*, *Ornithobacterium rinotracheale* e *Riemerella anatipestifer*, através das provas bioquímicas (Tabela 2.1). Estas bactérias em muitas ocasiões podem ser isoladas de aves doentes que estejam manifestando sintomas semelhantes à CA.

As lesões macroscópicas causadas pela infecção por *E. coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* e *Avibacterium paragallinarum*, entre outras bactérias, e na forma de septicemias, apresentam-se similares às de CA. Deve-se fazer também a diferenciação da infecção crônica por *Mycoplasma gallisepticum* associado à *E. coli* e de sinovite causada por outras bactérias.

## **Prevenção e controle**

Para o controle da CA é indispensável a adoção de boas práticas de manejo, com ênfase nas normas higiênicas, desinfecção e isolamento das instalações. Devem ser tomadas medidas como: eliminar e destinar adequadamente as aves doentes e mortas por CA, evitar o acesso de animais domésticos e outras espécies de aves à área da granja, não introduzir aves adultas nos lotes e evitar a ampliação da granja em áreas onde existe histórico da doença.

A vacinação poderá ser utilizada em áreas onde a CA é prevalente, mas não deve substituir as boas práticas de manejo sanitário. No mercado mundial, estão disponíveis vacinas vivas e bacterinas, que podem ser administradas em matrizes e poedeiras comerciais. Em alguns países, existe a autorização para o uso de vacinas vivas atenuadas, como a já mencionada cepa CU, que é administrada por punção na asa, para induzir uma boa imunidade. Vacina viva resulta em uma boa proteção por um determinado período, mas freqüentemente causa a CA crônica. No Brasil, encontra-se disponível no mercado uma vacina inativada, que deve ser aplicada por via intramuscular, nas idades entre 12 a 15 e 17 a 20 semanas. A proteção destas vacinas ocorre somente contra os sorotipos existentes na mesma, não conferindo uma boa proteção durante o período de produção. Um programa alternativo é o que usa uma bacterina as 8 a 10 semanas, seguido da vacina viva administrada as 18 a 20 semanas de idade. Este programa induz uma boa proteção e minimiza a doença induzida pela vacina viva. Em matrizes de perus, usam-se duas a três aplicações de bacterina e, em perus destinados ao corte, usa-se quase que exclusivamente vacinas vivas. Para monitorar o programa de vacinação contra a pasteurelose, é usada a prova

de ELISA. Duas doses de vacina com a cepa CU produzem um título ao redor de 4000 às 25 semanas de idade, enquanto duas doses de bacterina produzem um título ao redor de 8000 e finalmente uma dose de bacterina seguida de uma dose de vacina viva ou vice-versa produzem títulos de ELISA ao redor de 10000, no mínimo.

## Tratamento

Vários fármacos podem ser usados no tratamento de CA. O sucesso do tratamento requer a administração de droga efetiva, rapidamente, pelo período mínimo recomendado para cada uma. Sempre que possível é recomendado o teste de sensibilidade aos antimicrobianos, visto que a *P. multocida* varia em susceptibilidade, e resistência que pode ser desenvolvida, principalmente a partir do uso prolongado.

Várias sulfonamidas podem ser usadas com sucesso no tratamento de CA. As maiores desvantagens destas drogas são sua ação tóxica para as aves, seu efeito bacteriostático ao invés de bactericida e a falta de habilidade para curar abscessos localizados. A *P. multocida* é sensível à sulfaquinoxalina, sulfadimetoxina, sulfametazina, sulfamerazina, sulfaethoxypyridazina, sulfacloropyrazina e ainda à penicilina, estreptomicina, clortetraciclina, oxitetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, novobiocina e enrofloxacin. Estas drogas deverão ser administradas preferencialmente através da água de bebida, ou na impossibilidade da primeira, misturados à ração. A injeção intramuscular ou subcutânea de medicamento nunca deverá ser utilizada, em vista da facilitação da disseminação da bactéria pela manipulação das aves e pela infecção das aves pela agulha contaminada pela *P. multocida*.

### *Avibacterium (Pasteurella) gallinarum* e *Gallibacterium anatis (Pasteurella haemolytica)*

Estes dois agentes devem ser diferenciados da *Pasteurella multocida* pelo fato de que em várias ocasiões eles foram isolados do mesmo material colhido das aves provenientes de lotes que passaram por surto de enfermidade respiratória. Como atualmente está ocorrendo a enfermidade denominada síndrome respiratória, que é causada por mais de um agente, é importante identificá-los para que possa ser traçado o plano de controle. Consideramos importante descrever a *Gallibacterium anatis*, a *P. haemolytica* e o *A. gallinarum*, para que possam ser considerados no diagnóstico diferencial dos agentes primariamente responsáveis por enfermidades respiratórias.

### *Avibacterium gallinarum*

O *Avibacterium (Pasteurella) gallinarum* foi descrito primeiramente por Hall *et al.* (1961), que o isolou do trato respiratório de aves com CA. Desde então, alguns surtos de pasteureloses similares à forma aguda e crônica de CA têm sido relatados em galinhas e perus, tendo o *A. gallinarum* como microrganismo associado. As características de cultivo são: o melhor crescimento da colônia quando incubada em atmosfera enriquecida com 5-10% de CO<sub>2</sub>, produção de pigmento cinza amarelado e as reações de catalase e fosfatase positivas. Outras propriedades bioquímicas podem ser conferidas na Tabela 2.1.

Investigações experimentais deste agente ainda não elucidaram a sua virulência, que permanece inconclusiva. O *A. gallinarum* ainda é considerado

na maioria das vezes um oportunista ao invés de um agente primário de doença. Esta bactéria pode estar relacionada com altas taxa de mortalidade e condenação em frangos. As aves podem ainda apresentar descarga nasal e conjuntivite, com eliminação de secreção ocular. A infecção experimental com uma amostra de campo demonstrou que o grau dos sinais e lesões pode variar com a via de inoculação do agente. A severidade das lesões causadas pelo *A. gallinarum* quando inoculado por via intramuscular pode ser explicada pelo fato da bactéria cair diretamente na corrente sanguínea e em seguida atingir os diversos órgãos da ave.

Durante a necropsia de aves infectadas pelo *A. gallinarum* pode-se observar diversos tipos de lesões, que variam de abscessos localizados até a necrose catarral dos pulmões e sacos aéreos, traqueíte, pericardite, endocardite, perihepatite, hepatite, aerossaculite, sinovite e sinusite apresentando processo exsudativo. Dessas lesões consegue-se isolar culturas puras da bactéria. Tjahjowati *et al.* (1994) demonstraram que o *A. gallinarum* é patogênico para galinhas adultas, com a tendência de localizar-se nas válvulas cardíacas, sendo que a patogenicidade varia entre as cepas da bactéria. Testes de precipitação em gel demonstram um antígeno comum entre a *A. gallinarum* e a *P. multocida*, que são similares em suas propriedades gerais, mas poucas amostras de *A. gallinarum* apresentam alguma virulência, com a possível exceção da situação de associação com o agente da Coriza Infecciosa, mencionada na parte anterior deste capítulo. É importante lembrar que a patogenicidade de uma cepa pode ser aumentada pelas sucessivas passagens em hospedeiros naturais. *A. gallinarum* normalmente está associado a outros agentes, como *Bordetella avium*, *Avibacterium* (*Haemophilus*) *paragallinarum*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma gallisepticum*, *M. sinoviae*, vírus da Bronquite Infecciosa, vírus da Doença de Newcastle, Pneumovírus aviário, entre outros. Fatores ambientais adversos, como por exemplo o excesso de amônia, podem exacerbar as lesões e aumentar a morbidade e mortalidade.

### ***Gallibacterium anatis* (*Pasteurella haemolytica*)**

A primeira comunicação relativa à *P. haemolytica* foi feita por Jones (1921), quando estudou um grupo independente de *Pasteurellae* que fermentava lactose e lisava hemáceas. A taxonomia deste microrganismo, até então relatada como *P. haemolytica*, permanecia ainda não resolvida. Recentemente, a *P. haemolytica* isolada de aves, o *Actinobacillus salpingitidis* e a *P. anatis* foram estabelecidas como membros do gênero *Gallibacterium*, um novo membro a família *Pasteurellaceae*. O novo gênero inclui as espécies *G. anatis* e *G. genomospecies* 1 e 2. Estas bactérias fazem parte da microbiota normal do trato respiratório superior e trato genital de aves domésticas e silvestres saudáveis e a despeito da aparente natureza cosmopolita do *Gallibacterium* spp., prévios estudos têm indicado que as galinhas são seus hospedeiros favoritos. A epidemiologia e a relação hospedeiro- bactéria de *Gallibacterium* spp. são pouco entendidas, devido à falta de literatura publicada e a prévia inconstância com relação a identificação das espécies de bactérias representada por este gênero.

A importância de *Gallibacterium* spp. como patógeno não é clara, entretanto diferentes relatos indicam que as espécies deste gênero são patógenos potenciais, pelo fato de serem isolados de culturas puras em aves que apresentam lesões do trato respiratório e septicemia, além de condições adversas de criação. Está bem claro que a bactéria é capaz de causar infecções sistêmicas que podem afetar múltiplos sistemas do organismo das aves, mas os mecanismos de patogenicidade permanecem não claros. Como patógeno de mucosa, o *Gallibacterium* spp.

possui diferentes fatores de virulência que aumentam a colonização, invasão e toxicidade. Uma recente investigação, utilizando aves clinicamente saudáveis de diferentes granjas produtoras de ovos comerciais na Dinamarca, demonstrou que uma cepa de *Gallibacterium* spp. hemolítica foi altamente prevalente nas aves de granjas com moderado e baixo nível de biossegurança.

É uma doença caracterizada por sinais respiratórios, podendo apresentar dispnéia. À necropsia pode ser observada uma inflamação exsudativa purulenta, principalmente nos sacos aéreos e pulmões. O *Gallibacterium* spp. pode causar septicemia em frangas, poedeiras, perus, patos, perdizes, faisões, provocando lesões de peritonite, salpingite, hepatite, inflamação no trato respiratório e enterite, com queda na produção e mortalidade; a bactéria pode ser isolada destas lesões e do pulmões de aves com doença crônica respiratória, bronquite infecciosa, parasitoses e leucose. Em muitos casos, ela pode se comportar como um patógeno secundário.

O diagnóstico da doença deve ser feito com base nas observações dos sinais clínicos e das lesões macroscópicas, juntamente com o isolamento e identificação do *Gallibacterium* spp. As lesões produzidas pelo *Gallibacterium* spp. não são patognômicas, e a detecção e identificação são dependentes do clássico procedimento, além de na atualidade ser utilizada a caracterização fenotípica. É um bacilo curto, imóvel, encapsulado e Gram-negativo, que pode ocorrer sozinho ou aos pares. As colônias demonstram a  $\beta$ -hemólise em ágar sangue, sendo acinzentadas, opacas mas eventualmente translúcidas nas bordas, com consistência butírica e medindo de 1 a 2mm de diâmetro, com 24 a 48 horas de incubação a 37°C. O crescimento é mesofílico e facultativamente anaeróbico ou microaerofílico.

### *Ornithobacterium rhinotracheale*

Trata-se de uma bactéria associada com doença respiratória e que tem sido isolada cada vez mais freqüentemente de galinhas e perus. O *O. rhinotracheale* pode causar doença aguda altamente contagiosa nas aves, mas o quadro clínico é extremamente variável e é influenciado por muitos fatores ambientais. Devido à dificuldade de isolamento e descrição recente, ainda não é considerada um patógeno relevante.

Em 1994, usando parâmetros de taxonomia genética, esta bactéria foi denominada *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov., sp. nov.. A investigação de coleções de culturas bacterianas revelou que o *O. rhinotracheale* já havia sido isolado do trato respiratório de perus em 1981 na Alemanha e posteriormente em vários outros países.

*O. rhinotracheale* é um bacilo Gram-negativo, imóvel, altamente pleomórfico e não esporulado, medindo 0,2 a 0,9mm de largura e 0,6 a 5mm de comprimento. Até o momento, não foi relatada a presença de propriedades estruturais especiais, como pili ou fimbrias, ou produção de substâncias com atividade tóxica nesta espécie.

Até o momento, foram identificados 18 sorotipos, cuja designação vai da letra A até R, sendo que o sorotipo A tem sido o mais prevalente entre as amostras de *O. rhinotracheale* isoladas de galinhas e perus. No Brasil também existe esta maior prevalência deste sorotipo e trabalhos de caracterização genética têm indicado que sorotipos ainda não caracterizados também estão presentes.



*O. rhinotracheale* já foi isolado de galinha, peru, chukar, perdiz, faisão, pombo, pato, ganso, galinha d'Angola, gaivota, avestruz, codorna e gralha. Em aves comerciais, todas as idades parecem ser suscetíveis, porém foi observada uma maior patogenicidade em aves mais velhas.

Esta bactéria é transmitida horizontalmente por contato direto e indireto através de aerossóis ou água de beber, e também há evidências de que possa ocorrer transmissão vertical. Em frangos de corte, a infecção geralmente ocorre entre três e seis semanas de idade, podendo causar uma mortalidade de 2 a 10%. As aves apresentam espirro, secreção nasal, dispnéia e edema facial. Os sinais respiratórios são acompanhados por prostração e redução do consumo de alimento e água. Perus jovens infectados naturalmente apresentam-se clinicamente normais, porém em animais mais velhos, tem sido observada uma maior severidade dos sinais clínicos e mortalidade de até 10%. As aves acometidas pela infecção apresentam depressão, dispnéia, espirro, descarga nasal, redução do ganho de peso. A expectoração de muco sanguinolento e cianose na barbela também foram observadas em perus antes da morte.

A doença afeta as matrizes na fase de postura, principalmente no início ou no pico de produção. O quadro clínico respiratório é leve, podendo haver redução na ingestão de alimento e pequeno aumento na mortalidade. Pode ocorrer queda na postura e redução no tamanho do ovo, porém na maioria dos casos a fertilidade e eclodibilidade não são afetadas. Sinais respiratórios brandos acompanhados por queda na produção de ovos e aumento da mortalidade também foram observados em poedeiras naturalmente infectadas por *O. rhinotracheale*.

As lesões mais comumente encontradas em aves afetadas incluem sinusite, aerossaculite, traqueíte, pleurite e pneumonia uni ou bilateral. Sinovite, artrite, pericardite e peritonite também foram relatadas. Em aves inoculadas experimentalmente, foi notada presença de exsudato na cavidade abdominal, perihepatite e hidropericárdio.

As lesões microscópicas são vistas principalmente nos pulmões, pleura e sacos aéreos. Em muitos casos, os pulmões apresentam hiperemia, edema perivascular e intersticial, com infiltração de heterófilos e linfócitos. A pleura e os sacos aéreos podem estar edematosos e espessos, com acúmulo de fibrina intersticial e infiltrado heterofílico difuso e fibrose. Muitos casos de infecção causados por *O. rhinotracheale* ocorrem concomitantemente com infecções provocadas por outros agentes patogênicos do trato respiratório, podendo levar a um aumento da severidade dos sinais e achados clínicos. Já foi descrito o isolamento concomitante de *E. coli*, *Mycoplasma spp.*, *Pasteurella sp.*, *Streptococcus sp.*, vírus da Bronquite Infeciosa, vírus da Laringotraqueíte, vírus da Doença de Newcastle e adenovírus. O papel desta bactéria a *O. rhinotracheale* como agente capaz de induzir sinais e lesões no trato respiratório de aves tem sido discutido. Em condições experimentais, vários autores reproduziram a doença após desafio com *O. rhinotracheale* e sem a inoculação prévia de agentes virais, evidenciando a ação de *O. rhinotracheale* como patógeno primário. Também é possível que a severidade dos sinais clínicos e lesões estejam relacionados com características genéticas das cepas presentes em determinadas regiões.

Dados obtidos de estudos epidemiológicos em diversos países demonstraram que a prevalência de *O. rhinotracheale* é muito variável. No Brasil, foram analisadas 1500 amostras de soros oriundas de 50 lotes de frango de corte e 480 amostras de soro de 40 lotes de matrizes pesadas e foi detectada a presença de anticorpos contra *O. rhinotracheale* em 63,83% dos lotes de frangos e em 100% dos lotes de matrizes.

*O. rhinotracheale* é uma bactéria fastidiosa, e seu isolamento pode ser realizado em aerobiose ou anaerobiose, porém uma melhor multiplicação é obtida em microaerofilia com 7% de CO<sub>2</sub>. O crescimento ótimo é observado a 37°C, e ágar suplementado com 5 a 10% de sangue de carneiro é comumente utilizado para o isolamento primário, porém em amostras clínicas contaminadas com bactérias de crescimento rápido, as colônias de *O. rhinotracheale* podem ser encobertas e não ser detectadas. A adição de gentamicina ao ágar sangue reduz o crescimento de contaminantes, facilitando o seu isolamento. Nessas condições, a *O. rhinotracheale* bactéria desenvolve colônias minúsculas após 24 h de incubação e, com 48 h, as colônias são pequenas, circulares, não-hemolíticas, com coloração branca a cinzenta. O diagnóstico de *O. rhinotracheale* é baseado nos sinais clínicos, lesões e isolamento do agente etiológico. A identificação pode ser realizada através da caracterização morfológica, testes bioquímicos, enzimáticos e sorológicos, além da detecção do ácido nucléico pela reação em cadeia da polimerase (PCR). A traquéia, pulmões, sinus e sacos aéreos são os órgãos de eleição para o isolamento de *O. rhinotracheale*. Os resultados dos testes bioquímicos podem ser inconsistentes, pois nem todos os isolados de *O. rhinotracheale* crescem em meio líquido.

A prevenção e o controle de infecções causadas pelo *O. rhinotracheale* baseiam-se principalmente em medidas de biossegurança e adoção de boas práticas de manejo. Além disso, a vacinação pode ser utilizada como uma alternativa para evitar perdas econômicas com este patógeno. A vacinação de matrizes de corte com vacina inativadas resultou em altos níveis de anticorpos maternos na progênie, conferindo proteção contra desafio experimental até 30 dias de idade. Também têm sido descritas vacinas vivas atenuadas, vacinas vivas com bactéria termosensível e antígenos recombinantes, contudo, até o momento, nenhuma vacina comercial está disponível no mercado nacional.

A sensibilidade da *O. rhinotracheale* aos antimicrobianos é muito variável e depende da origem da amostra. A mortalidade de perus com manifestação respiratória foi reduzida após a aplicação de amoxicilina e oxitetraciclina na água de bebida, clortetraciclina na ração e espectinomina, ceftiofur e penicilina via parenteral. No Brasil, de 27 isolados caracterizados, 25 foram sensíveis a norfloxacin, amoxicilina, doxiciclina, lincomicina e cefalotina, enquanto dois isolados foram resistentes a neomicina e 18 resistentes a sulfametoxazol-trimetoprim.

*O. rhinotracheale* é sensível a vários desinfetantes, porém a bactéria pode afetar lotes novos, mesmo quando alojados em galpões limpos e desinfetados, principalmente em áreas com produção intensa e granjas com múltiplas idades. A habilidade de *O. rhinotracheale* em manter-se viável em cama aviária por longos períodos de tempo em baixas temperaturas deve contribuir para a perpetuação da infecção e difusão do agente.

## Bibliografia

Amonsin A, Wellehan JFX, Ling-Ling L, Vandamme P, Lindeman C, Edman M, Robinson RA, Kapur V. Molecular epidemiology of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Journal of Clinical Microbiology* 1997; 35(11):2894-2898.

Arns CW, Hafez HM, Yano T, Monteiro MCG, Alves M, Domingues HG, Coswig LT. *Ornithobacterium rhinotracheale*: Detecção sorológica em aves matrizes e frangos de corte.

- Anais da Conferência Apinco 1998 de Ciência e Tecnologia Avícolas; 1998; Campinas, BRA. Campinas: FACTA, p.55.
- Back A, Sprenger S, Rajashekara G, Halvorson DA, Nagaraja KV. Antimicrobial sensitivity of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolated from different geographic locations. Proceedings of the 48th North Central **Avian Diseases** Conference; 1997; Anais. Des Moines. p. 22-24.
- Back A, Rajashekara G, Jeremiah RB, Halvorson DA, Nagaraja KV. Tissue distribution of *Ornithobacterium rhinotracheale* in experimentally infected turkeys. The Veterinary Record 1998; 143(11):52-53.
- Bell D. The Dynamics of an infectious coryza outbreak. Misset World Poultry 1997; 13(3):64-67.
- Biberstein EL. Pasteurella. In: Biberstein EL, Zee YC, editors. Review of veterinary microbiology. Londres: Blackwell; 1990. p.175-180.
- Biberstein EL. Haemophilus spp. and Haemophilus-like agents. In: Biberstein EL, Zee YC, editors. Review of veterinary microbiology. Londres: Blackwell; 1990. p.184-189.
- Blackall PJ. Present state of Haemophilus coryza. Proceedings of the 41st Western Poultry Disease Conference; 1992; Sacramento, California. EUA. p 19-23.
- Blackall PJ, Christensen H, Beckenham T, Blackall LL, Bisgaard M). Reclassification of Pasteurella gallinarum, [Haemophilus] paragallinarum, Pasteurella avium and Pasteurella volantium as Avibacterium gallinarum gen. nov., comb. nov., Avibacterium paragallinarum comb. nov., Avibacterium avium comb. nov. and Avibacterium volantium comb. nov.. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2005; 55:353-362.
- Blackall PJ, Fegan N, Chew GTI, Hampson DJ. Population Structure and Diversity of Avian Isolates of *Pasteurella multocida* from Australia. Microbiology 1998; 144:279-89.
- Blackall PJ, Mifflin JK Identification and typing of Pasteurella multocida: a review. **Avian Pathology** 2000; 29:271-287.
- Blackall PJ, Matsumoto M. Infectious Coryza. In: Saif YM, editor. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State Press; 2003. p.691-703.
- Blackall PJ, Silva EN, Yamaguchi TE, Iritani Y. Characterization of avian Haemophili from Brazil. **Avian Diseases** 1994; 38:269-274.
- Blackall PJ, Yamamoto R. Infectious Coryza. In: Swayne DE *et al.*, editors. A Laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens 4th ed. Kennet Square: The American Association of Avian Pathologists; 1998. p. 29-34.
- Blanchong JA, Samuel MD, Mack G. Multi-species patterns of avian cholera mortality in Nebraska's Rainwater Basin. Journal Wildlife Diseases 2006; 42:81-91.
- Blaxland JD, Cullen GA, Gordon RF, Jordan FTW. Diseases caused by bacteria Mycoplasma and

Chlamydia. In: Gordon RF, Jordan FTW, editors. Poultry diseases. 2nd ed. Cambridge: University Press; 1982. p.9-75.

Bojesen AM, Nielsen SS, Bisgaard M. Prevalence and transmission of haemolytic *Gallibacterium* species in chicken production systems with different biosecurity levels. **Avian Pathology** 2003; 35:503-510.

Bojesen AM, Christensen H, Nielsen OL, Olsen JE, Bisgaard M. Detection of *Gallibacterium* spp. In chickens by fluorescent 16S rRNA

*in situ* hybridization. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41:5167-5172. Buxton A, Fraser G. *Animal microbiology*. London: Blackweels; 1997. 357p.

Canal CW, Leão JA, Ferreira DJ, Macagnan M, Salle CTP, Back A. Prevalence of antibodies against *Ornithobacterium rhinotracheale* in broilers and breeders in Southern Brazil. **Avian Diseases** 2003; 47:163-169.

Canal CW, Rocha SLS, Leão JA, Fallavena LCB, Oliveira SD, Beltrão N. Detecção de *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). *Ciência Rural* 2003; 33(2):377-379.

Canal CW, Leão JA, Rocha SLS, Macagnan M, Lima-Rosa CAV, Oliveira SD, Back A. Isolation and characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* from chickens in Brazil. *Research in Veterinary Science* 2005; 78:225-230.

Carter GR. *Procedimentos de diagnóstico em bacteriologia e micologia veterinária*. São Paulo: Ed. Roca; 1993. 331 pp.

Cauwerts K, De Herdt P, Haesebrouck F, Vervloesem J, Ducatelle R. The effect of *Ornithobacterium rhinotracheale* vaccination of broiler breeder chickens on the performance of their progeny. **Avian Pathology** 2002; 31:619-624.

Charlton BR editor. *Avian disease manual*. 5th ed. Kennett Square: The American Association of Avian Pathologists; 2000. 243p.

Charlton BR, Channing-Santiago SE, Bickford AA, Cardona CJ, Chin RP, Cooper GL, Droual R, Jeffrey JS, Meteyer CU, Shivaprasad HL, Walker RL. Preliminary characterization of a pleomorphic gram-negative rod associated with avian respiratory disease. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1993; 5:47-51.

Chin RE, Goshgarian M. Fowl cholera in pen-raised ring-neck pheasants. *Proceedings of the 48th Western Poultry Disease Conference*; 1999; Vancouver. Canadá. p83-84.

Chin RP, Van Empel P, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection. In: Saif YM *et al.*, editors. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003. p.683-690.

Christensen JP, Bisgaard M. Fowl cholera. *Revue Scientifique et Technique International Office of Epizootics* 2000; 19:626-637.

Christensen H, Bisgaard M, Bojesen AM, Mutters R, Olsen JE. Genetic relationships among avian isolates classified as *Pasteurella haemolytica*, *Actinobacillus salpingitis* or *Pasteurella anatis* with proposal of *Gallibacterium anatis* gen. Nov., comb. nov. and description of additional genomospecies with *Gallibacterium* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2003; 53:275-287.

Davies RL, Maccorquodale R, Caffrey B. Diversity of avian *Pasteurella multocida* strains based on capsular PCR typing and variation of the OmpA OmpH outer membrane proteins. *Veterinary Microbiology* 2003; 91:169-182.

Delaat AN. *Microbiology for the allied health professions*. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1984. 421p.

De Rosa M, Droual R, Chin RP, Shivaprasad HL, Walker RL. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in turkey breeders. *Avian Diseases* 1996; 40:865-874.

Devriese LA, Hommez J, Vandamme P, Kersters K, Haesebrouck F. In vitro antibiotic sensitivity of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains from poultry and wild birds. *The Veterinary Record* 1995; 137(21):435-436.

Devriese LA, De Herdt P, Haesebrouck F. Antibiotic sensitivity and resistance in *Ornithobacterium rhinotracheale* strains from Belgian broiler chickens. *Avian Pathology* 2002; 30:197-200.

Droual R, Walker RL, Shivaprasad HL, Jeffrey JS, Meteyer CU, Chin RP, Shapiro DP. An Atypical Strain of *Pasteurella gallinarum* Pathogenic, Phenotypic and Genotypic Characteristics. *Avian Diseases* 1992; 36:693-9.

Droual R, Shivaprasad HL, Meteyer CU, Shapiro DP, Walker RL. Severe mortality in broiler chickens associated with *Mycoplasma synoviae* and *Pasteurella gallinarum*. *Avian Diseases* 1992; 36:803-7.

Eigaard NM, Permin A, Christensen JP, Bojesen AM, Bisgaard M. Clonal stability of *Pasteurella multocida* in free-range layers affected by fowl cholera. *Avian Pathology* 2006; 35:165-172.

El-Sukhon SN, Musa A, Al-Attar M. Studies on the bacterial etiology of airsacculitis of broilers in Northern and Middle Jordan with special reference to *Escherichia coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale* and *Bordetella avium*. *Avian Diseases* 2002; 46:605-612.

Fernandez RP, García-Delgado GA, Ochoa P, Soriano VE. Characterization of *Haemophilus paragallinarum* isolates from Mexico. *Avian Pathology* 2000; 29:473-476.

Fernandez RP, Colindres HL, Velásquez QE, Soriano VE, Blackall PJ. Protection Conferred by Bivalent and Trivalent Infectious Coryza Bacterins Against Prevalent Serovars of *Avibacterium* (*Haemophilus*) *paragallinarum* in Mexico. *Avian Diseases* 2005; 49:585-587.

García-Gómez E, Vaca S, Pérez-Méndez A, Ibarra-Caballero J, Pérez-Márquez V, Tenorio VR, Negrete-Abascal E. *Gallibacterium anatis*-secreted metalloproteases degrade chicken IgG. *Avian*

**Pathology** 2005; 34:426-429.

Gergis SM. Twenty years experience in controlling fowl cholera in chickens, ducks and turkeys in Egypt. Proceedings of the 48th Western Poultry Disease Conference; 1999; Vancouver. Canadá. p.114-115.

Glisson LJ. Pasteurellosis. In: Calnek BW *et al.*, editors. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.143- 159.

Glisson JR. Infecção por *Pasteurella multocida* en reproductoras de engorde. Memórias do Seminário Internacional de Patologia Aviar. Athens; 1994. p.299-307.

Hafez HM. Diagnosis of *Ornithobacterium rhinotracheale*. International Journal of **Poultry Science** 2002; 5:114-118.

Hafez MH, Sting R. Investigations on different *Ornithobacterium rhinotracheale* “ORT” isolates. **Avian Diseases** 1999; 43:1-7.

Hafez HM, Sting R. Serological surveillance on *Ornithobacterium rhinotracheale* in poultry flocks using self-made ELISA. 45th Western Poultry Disease Conference; 1996; Cancun. p.163-164.

Haffar A. Hemophilose aviaire (*Coryza infectieux*). In: Brugere-Picoux J, Silim A, editors. Manuel de pathologie aviaire. Maisons- Alfort, FRA: Escola Nacional de Veterinária de Alfort; 1992. p.251-256.

Hinz KH, Blome C, Ryll M. Acute exsudative pneumonia and airsacculitis associated with *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkeys. The Veterinary Record 1994; 135(3):233-234.

Hofacre CL, Glisson LJ. A serotypic survey of *Pasteurella multocida* isolated from poultry. **Avian Diseases** 1996; 30:632-33.

Ibrahim RS, Sawada T, El Ballal M, Yoshida T, Kataoka Y. *Pasteurella multocida* infection in the chicken embryo. Journal Comparative Pathology 1998; 118:291-300.

Jordan FTW, Pattison M, Alexander DE, Faragher T. Poultry diseases. 5th ed. Londres: WB Saunders; 2002. p.146-150.

Kishida N, Sakoda Y, Eto M, Sunaga YE, Kida H. Co-infection of *Staphylococcus aureus* or *Haemophilus paragallinarum* exacerbates H9N2 influenza A virus infection in chickens. Archives of Virology 2004; 149:2095-2104.

Kunkle RA, Rimler RB. Early pulmonary lesions in turkeys produced by nonviable *Aspergillus Fumigatus* and /or *Pasteurella multocida*'s lipopolysaccharide. **Avian Diseases** 1998; 42:770-80.

Leão JA. Isolamento e prevalência de *Ornithobacterium rhinotracheale* em matrizes e frangos de corte na região Sul do Brasil [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2002.

- Lee MD. Putative bacterial phenotypes contributing to the pathogenesis of fowl cholera. Proceedings of the 45th Western Poultry Disease Conference; 1996; Cancún, Mexico. p.324-325.
- Lopes VC, Velayudhan B, Halvorson DA, Nagaraja KV. Survival of *Ornithobacterium rhinotracheale* in sterilized poultry litter. *Avian Diseases* 2002; 46:1011-1014.
- Lopes V, Back A, Halvorson DA, Nagaraja KV. Minimization of pathologic changes in *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in turkeys by temperature-sensitive strain. *Avian Diseases* 2002; 46:177-185.
- Macagnan M. Caracterização fenotípica e genotípica de isolados de *Ornithobacterium rhinotracheale* do Brasil [Mestrado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006.
- Malik YS, Olsen K, Kumar K, Goyal SM. In vitro antibiotic resistance profiles of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains isolated from Minnesota turkeys during 1996-2002. *Avian Diseases* 2003; 47:588-593.
- Merchant IAE, Packer RA. *Bacteriologia e virologia veterinárias*. 2nd ed. Zaragoza: Acribia; 1965. 864p.
- Muhairwa AP, Christensen JP, Bisgaard M. Investigations on the carrier rate of *Pasteurella multocida* in healthy commercial poultry flocks and flocks affected by fowl cholera. *Avian Pathology* 2002; 29:133-142.
- Muhairwa AP, Christensen JP, Bisgaard M. Serum resistance of *Pasteurella multocida* in avian and porcine sera, and comparative virulence investigations of selected serum-sensitive and resistant strains in chickens. *Avian Pathology* 2002; 31:183-191.
- Nakamura K, Shirai J, Imai K, Hihara HE, Tanimura N. Outbreak of comb necrosis in layer breeder chickens. *Avian Diseases* 1997; 41:252-6.
- Nestor KE, Saif YM, Anderson JW, Patterson RA, Li Z. Variation in resistance to *Pasteurella multocida* among turkey lines. *Poultry Science* 1998; 78:1377-79.
- Odor EM, Salem M, Pope CR, Primm M, Vance K, Murphy M. Isolation and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* from commercial broiler flocks on the Delmarva Peninsula. *Avian Diseases* 1997; 41:257-260.
- Petersen DK, Dietz HH, Jorgensen JC, Christensen TK, Bregnballe T, Andersen TH. *Pasteurella multocida* from outbreaks of avian cholera in wild and captive birds in Denmark. *Journal Wildlife Diseases* 2003; 39:808-816.
- Petersen DK, Christensen PJ, Permin A, Bisgaard M. Virulence of *Pasteurella multocida* subsp *multocida* isolated from outbreaks of fowl cholera in wild birds for domestic poultry and game birds. *Avian Pathology* 2001; 30:27-31.
- Rhoades KR, Rimler RB. Capsular Groups of *Pasteurella multocida* Isolated from Avian Hosts.

**Avian Diseases** 1987; 31:895-98.

Ryll M, Hinz KH, Salisch H, Kruse W. Pathogenicity of *Ornithobacterium rhinotracheale* for turkey poults under experimental conditions. *The Veterinary Record* 1996; 139(6):19.

Sakai E, Tokuyama Y, Nonaka F, Ohishi S, Ishikawa Y, Tanaka M, Taneno A. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in Japan: preliminary investigations. *The Veterinary Record* 2000; 146(17):502-504.

Sander JE, Glisson JR. Fowl cholera in broilers. **Avian Diseases** 1989; 33:816-19.

Sander JE, Resurreccion RS, Waltman WDE, McMurray BR. Pasteurella challenge and ELISA serology evaluation of broiler breeders vaccinated with live cholera vaccine. *Avian Diseases* 1998; 42:190-3.

Sandoval VEE, Terzolo HR. Coriza infecciosa en Argentina: primera parte: descripción de la enfermedad, el agente y los brotes de campo. *Avicultura Profesional* 1996; 14(8):29-35.

Sandoval VE, Terzolo HR, Blackall PJ. Complicated infectious coryza outbreaks in Argentina. **Avian Diseases** 1994; 38:672-678.

Shewen PE. Pasteurella. In: Gyles CL, editor. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Ames: Iowa State University Press; 1986. p. 147-153.

Shivachandra SB, Kumar AA, Gautam R, Saxena MK, Chaudhuri P, Srivastava SK Detection of multiple strains of *Pasteurella multocida* in fowl cholera outbreaks by polymerase chain reaction-based typing. **Avian Pathology** 2005; 34:456-462.

Siegmann O. Kompendium der geflügelkrankheiten. Hannover: M & H. Schaper; 1993.

Soriano EV, Vera NA, Salado CR, Fernández RP, Blackall PJ. In vitro susceptibility of *Ornithobacterium rhinotracheale* to several antimicrobial drugs. **Avian Diseases** 2003; 47:476-480.

Soriano EV, Garduño ML, Téllez G, Rosas PF, Suárez-Güemes FE, Blackall PJ. Cross-protection study of the nine serovars of *Haemophilus paragallinarum* in the kume haemagglutinin scheme. **Avian Pathology** 2004; 33(5):506-511.

Soriano EV, Longinos GM, Fernandez RP, Velásquez QE, Ciprián CA, Salazar-García FE, Blackall PJ. Virulence of the nine serovar reference strains of *Haemophilus paragallinarum*. *Avian Diseases* 2004; 48:886-889.

Sprenger SJ, Halvorson DA, Nagaraja KV, Spasojevic R, Dutton RS, Shaw DP. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in commercial laying-type chickens. **Avian Diseases** 2000; 44:725-729.

Sprenger SJ, Back A, Shaw DP, Nagaraja KV, Roepke DC, Halvorson DA. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in turkeys: experimental reproduction of the disease. **Avian Diseases** 1998; 42:154-161.



Terzolo HR. Avances en coriza infecciosa. Memorias del 2° Seminario de Actualización Avícola de A.M.E.V.E.A;1994; Colón, Argentina.

Terzolo HR, Paolicchi FA, Sandoval VE, Blackall PJ, Yamaguchi T, Iritani Y. Characterization of isolates of *Haemophilus paragallinarum* from Argentina. **Avian Diseases** 1993; 37:310-314.

Terzolo HR, Sandoval VE, Pondal FG. Investigaciones sobre Coriza Infecciosa en la Argentina: Tercera parte y final: ensayos con vacunas. *Avicultura Profesional* 1997; 15(2):35-39.

Tjahjowati G, Orr PJ, Chirino-Trejo ME, Mills JHL. Experimental reproduction of endocarditis with *Pasteurella gallinarum* in mature leghorn chickens. **Avian Diseases** 1995; 39: 489-98.

Travers AF, Ceotzee L, Gummow B. Pathogenicity differences between South African isolates of *Ornithobacterium rhinotracheale*. Onderstepoort. *Journal of Veterinary Research* 1996; 63:197-207.

Turan N, AK S. Investigation of the presence of *Ornithobacterium rhinotracheale* in chickens in Turkey and determination of the seroprevalance of the infection using the enzyme-linked immunosorbent assay. **Avian Diseases** 2002; 46:442-446.

Vandamme P. *et al.* Description of *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov. sp. nov., isolated from the avian respiratory tract. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1994; 44(1):24-37.

Van Empel P, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. **Avian Pathology** 1999; 28(3):217-227.

Van Empel P, Van Den Bosch H, Loeffen P, Storm P. Identification and serotyping of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Journal of Clinical Microbiology* 1997; 35(2):418-421.

Van Empel P, Van Den Bosch H, Goovaerts D, Storm P. Experimental infection in turkey and chickens with *Ornithobacterium rhinotracheale*. **Avian Diseases** 1996; 40:858-864.

Van Empel P, CMm Vrijenhoek Mm, Goovaerts Dm, Van Den Bosch H. Immunohistochemical and serological investigation of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in chickens. **Avian Pathology** 1999; 28(2):187-193.

Van Empel P, Van Den Bosch H. Vaccination of chickens against *Ornithobacterium rhinotracheale* infection. **Avian Diseases** 1998; 42:572-578.

Van Veen L, Gruys E, Frik K, Van Empel P. Increased condemnation of broilers associated with *Ornithobacterium rhinotracheale*. *The Veterinary Record* 2000; 147(7):422-423.

Van Veen L, Van Empel P, Fabri T. *Ornithobacterium rhinotracheale*, a primary pathogen in broilers. **Avian Diseases** 2000; 44:896- 900.

Van Veen L, Hartman E, Fabri T. In vitro antibiotic sensitivity of strains of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolated in the Netherlands between 1996 and 1999. *The Veterinary Record* 2001;

Zhang P, Fegan N, Fraser I, Duffy P, Bowles RE, Gordon A, Ketterer PJ, Shinwari W, Blackall PJ. Molecular epidemiology of two fowl cholera outbreaks on a free-range chicken layer farm. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2004; 16:458-460.

Yong-Ku W, Jae-Hak K. Fowl cholera outbreak in domestic poultry and epidemiological properties of *Pasteurella multocida* isolate. *The Journal of Microbiology* 2006; 44:344-356.

### Ilustração de Coriza infecciosa (cedidas pela Fort Dodge Saúde Animal)



**Figura 1** - Aves com sinais clínicos iniciais, fase ideal para isolamento do *A. paragalinarum*.



**Figura 2** - Aves com dificuldade respiratória. **Figura 3** - Pressão no seio nasal.



**Figura 4** - Aves com edema do seio infraorbital.



**Figura 5** - Aves com lesão nos olhos, seios periorbitais e barbela.

**Ilustração de Pasteurelloe** (cedidas pela Fort Dodge Saúde Animal)



**Figura 6** - Aves com edema do seio infraorbital.



**Figura 7** - Aves apresentando lesão de barbela.

<b>Botulismo</b>	<b>533</b>
<i>Introdução</i>	533
<i>Histórico</i>	533
<i>Distribuição e ocorrência</i>	534
<i>Etiologia</i>	534
<i>Patogenicidade e epizootia</i>	535
<i>Sintomatologia</i>	536
<i>Alterações anatomopatológicas</i>	536
<i>Diagnóstico</i>	536
<i>Prevenção e controle</i>	537
<i>Tratamento</i>	537
<i>Imunidade</i>	537
<b>Enterite necrótica (<i>Clostridium perfringens</i>)</b>	<b>537</b>
<i>Introdução</i>	537
<i>Histórico</i>	537

<i>Distribuição e ocorrência</i>	537
<i>Etiologia</i>	538
<i>Bioquimicamente</i>	538
<i>Patogenicidade</i>	539
<i>Mecanismos de transmissão</i>	539
<i>Sinais clínicos</i>	540
<i>Lesões macroscópicas</i>	542
<i>Lesões microscópicas</i>	542
<i>Controle e prevenção</i>	543
<i>Tratamento</i>	544
<i>Imunidade</i>	544
<b>Enterite ulcerativa (<i>Clostridium colinum</i>)</b>	<b>544</b>
<i>Introdução</i>	544
<i>Histórico</i>	544
<i>Distribuição e ocorrência</i>	545
<i>Etiologia</i>	545
<i>Patogenicidade e epizootia</i>	545

<i>Sintomatologia</i>	545
<i>Alterações anatomopatológicas</i>	546
<i>Diagnóstico</i>	546
<i>Prevenção e controle</i>	546
<i>Tratamento</i>	546
<i>Imunidade</i>	546
<b>Dermatite gangrenosa</b>	<b>548</b>
<i>Introdução</i>	548
<i>Histórico, distribuição e ocorrência</i>	548
<i>Etiologia</i>	548
<i>Patogenicidade e epizootia</i>	548
<i>Mecanismo de transmissão</i>	548
<i>Sintomatologia</i>	548
<i>Lesões macroscópicas</i>	549
<i>Lesões microscópicas</i>	549
<i>Diagnóstico</i>	549
<i>Prevenção e controle</i>	549

<i>Tratamento</i>	549
<b>Bibliografia</b>	<b>549</b>



**Rubén Pablo Schocken- Iturrino, Mark Ishi, Juliano Vittori**

As *clostridioses* são infecções patológicas provocadas por toxinas produzidas pelos clostrídeos e, em alguns casos, provocadas pela multiplicação do próprio agente, em aves domésticas e silvestres. As bactérias do gênero *Clostridium* envolvidas são o *C. botulinum* responsável pelo botulismo, o *C. perfringens*, que provoca a enterite necrótica, o *C. colinum*, causador da enterite ulcerativa e o *C. septicum* e *C. perfringens*, isolados nas dermatites gangrenosas.

## Botulismo

### Introdução

O botulismo é uma intoxicação aguda causada pela neurotoxina do *Clostridium botulinum*, provocando debilidade, prostração e paralisia flácida que levam à morte. A doença acomete todos os tipos de aves, com exceção dos urubus que apresentam resistência, devido a uma substância no sangue capaz de neutralizar a toxina. A grande maioria dos casos de botulismo em aves é provocada pelo *C. botulinum* tipo C, ainda que surtos causados por outros tipos (A e E) tenham sido descritos. A extensão com a qual ocorre o botulismo em aves selvagens e domésticas há muito tempo interessa aos estudiosos, porém, somente na década de 70 a magnitude internacional do problema começou a emergir com impacto na ecologia, preservação da vida selvagem e as grandes perdas econômicas nas indústrias avícolas.

### Histórico

O primeiro caso de botulismo em frangos foi relatado por Dickson, nos Estados Unidos em 1917, onde restos de alimento que haviam causado botulismo a uma família, também provocaram paralisia do pescoço e morte nas aves que o consumiram.

O agente do *C. botulinum* tipo C foi descrito em 1922, por Bengston, que isolou a bactéria de larvas de moscas (*Lucilia caesar*), responsáveis pela morte de frangos com paralisia.

No mesmo ano, Seddon, na Austrália, isolou *C. botulinum* tipo C de carcaças em decomposição, causador de paralisia e morte em bovinos. Porém, este foi denominado de *C. botulinum* tipo C beta, pois a antitoxina do *Clostridium* isolado por Bengston não neutralizava a toxina deste novo *Clostridium*, sendo denominados de *C. botulinum* tipos C alfa e C beta.

Mortalidade acentuada de aves selvagens ocorreu nos Estados Unidos em 1930. Vários casos de botulismo em frangos criados intensivamente, também foram citados na época.

Os primeiros casos citados de botulismo em aves no Brasil foram, no Rio de Janeiro em 1971, em aves de quintal (Brada *et al.*) e outro surto em frangos de corte que consumiram carcaças de

roedores em Santa Catarina em 1979 (Saraiva e Piloni).

## Distribuição e ocorrência

O habitat natural do *C. botulinum* é o solo e ambientes aquáticos, onde existe como saprófita. Está distribuído por todo o mundo e se encontra tanto em terras cultivadas como virgens. Os esporos são suficientemente resistentes à dessecação e ao calor, o que lhes permite permanecer no solo e contaminar uma grande variedade de alimentos encontrando-se, conseqüentemente, nas pastagens, palhas, vegetais, ou produtos que têm contato com solo ou água.

A doença tem afetado frangos e aves aquáticas em todo o mundo. O *C. botulinum* se divide em sete tipos pelas características de sua toxina, sendo estes A, B, C, D, E, F e G. O tipo C pode ser dividido em C alfa e C beta. O tipo mais freqüente em aves é o C alfa, acometendo especialmente aves aquáticas e migratórias e outras aves como frangos e perus, devido principalmente ao consumo de materiais como carcaças, peixes, invertebrados e vegetação em decomposição. O *C. botulinum* do tipo A provocou surto de botulismo em patos nas Filipinas e o tipo E foi responsável por enormes surtos nos grandes lagos dos Estados Unidos, envolvendo 7000 aves, entre gaivotas e aves migratórias. Na região ocidental dos Estados Unidos ocorreram também grandes surtos causados pelo *C. botulinum* Tipo C, provocando a morte de 300.000 patos selvagens, às margens dos Lagos de Utah, recebendo a doença o nome de "Western duck disease" ou a doença dos patos do Oeste.

Surtos de botulismo em frangos de corte ocorre com mais freqüência durante os meses mais quentes, porém também têm sido relatados no inverno.

Os surtos de botulismo na avicultura têm aumentado nos últimos anos, devido em grande parte a tecnificação e otimização dos plantéis, aumentando a densidade por metro quadrado.

## Etiologia

O *C. botulinum* é uma bactéria anaeróbia em forma de bastonete, Gram positiva, podendo ser Gram negativa quando se inicia a esporulação. Possui extremidades arredondadas, medindo de 4 a 6µm de comprimento por 0,5 a 1µm de largura, formador de esporos ovais na posição subterminal, ocorrendo isolados ou em cadeias curtas. As células vegetativas são móveis com flagelos peritríquios. A toxina é liberada durante a autólise da bactéria. Os esporos do tipo C são menos resistentes ao aquecimento que os esporos dos tipos A e B, porém são mais resistentes ao calor que os esporos do tipo E. Os esporos do tipo C são destruídos após 1 hora a 100°C. A esterilização em autoclave a 120°C por

20 minutos consegue destruir todos os tipos de esporos. Esta característica de resistência dos esporos permite que o microrganismo se dissemine com facilidade, perpetuando-se no meio ambiente durante anos. Estando presente desse modo em rações, água, fezes e cama, sendo um foco de contaminação se houver condições para sua germinação e crescimento, como acontece em camas de aviário com excesso de umidade, material em decomposição ou carcaças de qualquer tipo de animal.

Bioquimicamente o *C. botulinum* tipos C e D se caracterizam por ser não proteolíticos, fermentar

glicose e manose, hidrolizar a gelatina, produzir lipase, e serem negativos para a produção de indol e não reduzirem o nitrato ou fermentar amígdalina, celobiose, celulose, dulcitol, eritrol, esculina, glicerol, glicogênio, inulina, lactose, manitol, melizitose, rafinose, ranose, sacarose, trealose e xilose. Algumas espécies apresentam comportamento variável quanto a fermentação de frutose, maltose, arabinose arginina e piruvato. A fermentação de carboidratos resulta na produção de ácido acético, propiônico e butírico. Não produzem acetilmetil- carbinol, sendo urease e H<sub>2</sub>S negativos.

**Toxinas:** O *C. botulinum* produz toxinas que são proteínas termosensíveis (destruída a 100 °C por 10 minutos) com ação neurotóxica. Oito tipos de neurotoxinas (A, B, C alfa, C beta, D, E, F e G) têm sido identificados, baseando-se nas suas diferenças antigênicas. As toxinas purificadas são as substâncias tóxicas mais potentes que se conhece. Um mili- grama de toxina possui mais de 120 milhões de doses letais para camundongos. Segundo Rood *et al.* (1997) ao assumir que a população mundial é de aproximadamente 5.6 bilhões de pessoas com um peso médio de 70kg cada, 39,2g de toxina botulínica purificada seriam suficientes para erradicar toda a humanidade. Em comparação com os venenos mais conhecidos a toxina botulínica é aproximadamente 800 milhões de vezes mais potente que cianureto e 400, 300 e 100 milhões de vezes mais potente que o arsênico, o veneno de cobra cascavel, o veneno de cobra coral, respectivamente.

As toxinas, usualmente produzidas em alimentos, são absorvidas no trato intestinal. A toxina é liberada quando o microrganismo morre e ocorre a sua lise. Diferem de outras toxinas porque são resistentes aos ácidos e à ação da pepsina e da tripsina. Após absorção, a toxina é transportada aos neurônios suscetíveis via corrente sanguínea, afetando especificamente os nervos periféricos sem afetar outras células do corpo, impedindo a passagem dos impulsos nervosos do nervo para o músculo entre o motoneurônio terminal e a placa motora. Isto ocorre pela capacidade da toxina de bloquear a liberação da acetilcolina, substância necessária para a passagem do impulso nervoso. A paralisia é ascendente e a morte é provocada pela paralisia respiratória e circulatória como resultado da ação da toxina nos nervos motores.

### Patogenicidade e epizootia

O principal meio para produção das toxinas botu- línicas são diversos tipos de alimentos deteriorados como, forragem, carne e peixe, carcaças, camas úmidas, larvas, etc. A toxina é produzida nos tecidos e ossos de animais mortos como conseqüência do crescimento do *C. botulinum* nas carcaças. Animais com deficiência mineral consomem estes tecidos e ossos contendo toxina, intoxicando-se. A toxina do *C. botulinum* tipo C, acomete diversas espécies de mamíferos como gado, ovinos, suínos, eqüinos, cães, raposas, arminhos e outros mamíferos em zooló- gicos, além de tartarugas, frangos, perus, patos, faisões, avestruzes e aves selvagens, particularmente as aquáticas migratórias que consomem larvas de moscas, vegetação e invertebrados em decom- posição. Nos surtos de botulismo em aves selvagens 117 espécies pertencentes a 22 famílias foram afetadas. Nos ambientes aquáticos, pequenos crustáceos e larvas de insetos podem conter o *C. botulinum* no seu trato digestivo e se grandes quantidades deles morrem devido a falta de oxigênio, ou as variações nos níveis de água que ocorrem nestes lagos rasos com bancos de areia, a toxina é produzida nestes invertebrados. Acredita- se que estas tenham sido as causas da morte de patos nos Estados Unidos por *C. botulinum* do tipo C.

Os surtos em aviários também são muito comuns, sendo o tipo C alfa o mais comum em aves. A ocorrência de surtos de botulismo em aviários, após feriados prolongados é comum, como por exemplo após carnaval, quando não são retiradas as aves mortas, ou algum problema de vazamento de água umedece em excesso a cama, apodrecendo-a dando-se, em ambos casos, condições de anaerobiose para o crescimento do *Clostridium*. Além do cheiro que atrai moscas depositando ovos, dando origem a larvas contaminadas com a toxina, que os frangos comem rapidamente, intoxicando-se. Larvas de moscas nas carcaças consumidas por frangos, faisões e patos possuem quantidades suficientes de toxina (10<sup>4</sup> a 10<sup>5</sup>DLM/larva) para causar súbitos surtos de botulismo. Nas criações de frangos de corte com alta densidade por metro quadrado, é relativamente comum ocorrer mortalidade localizada numa determinada região do galpão, devido a ingestão de toxina botulínica presente nas carcaças em decomposição, provocadas pelas falhas no manejo de recolhimento de aves mortas. Mais de 2000 doses letais mínima (DLM) por grama tem sido demonstrado em carcaças. As aves bicando essas carcaças se contaminam facilmente, com toxina suficiente como para serem afetadas.

Acreditava-se que o botulismo do tipo C era causado exclusivamente pela ingestão da toxina pré-formada nos alimentos. Agora, há indícios de que o *C. botulinum* pode elaborar toxina in vivo, no intestino das aves, causando uma toxi-infecção (Eklund & Dowell 1987; Rood 1997).

Casos de botulismo do tipo C em ruminantes alimentados com cama de frangos têm causado sérios prejuízos econômicos. Em eqüinos a doença denominada "envenenamento das forragens" também tem sido atribuída ao tipo C. Os camundongos são os animais de laboratório mais utilizados para testes de detecção e identificação de botulismo, pela sua alta sensibilidade.

Botulismo causado pelo *C. botulinum* dos tipos A e E são menos freqüentes e têm sido associados ao consumo de alimentos deteriorados, para humanos, que foram dados às aves de fundo de quintal e, em um dos casos devido a utilização de ração contaminada com toxina do tipo A. O botulismo em gaivotas, mergulhões e outras aves aquáticas têm sido provocado pelo consumo de peixes mortos ou moribundos contaminados com a toxina do tipo E.

**Período de incubação:** O quadro da intoxicação varia com a quantidade de material ingerido e a concentração de toxina presente nele, variando de algumas horas (10 a 12 horas) ou um a dois dias. Porém, em estudos experimentais algumas aves apresentam sintomas leves após três dias de inoculação, vindo posteriormente a recuperar-se.

**Transmissão:** O *C. botulinum* tipo C pode ser encontrado no trato gastrintestinal de aves e é considerado normal. Esporos do tipo C são freqüentemente encontrados nas granjas e seus arredores. A presença deste organismo no trato intestinal tanto de aves silvestres como domésticas e a resistência dos esporos no meio ambiente favorece a sua dispersão. Na avicultura industrial a transmissão ocorre de forma direta quando as aves consomem larvas ou carcaças contaminadas com toxina botulínica. As aves consomem também larvas contaminadas que crescem em camas excessivamente úmidas, ou indiretamente ao beber água nos bebedouros onde aves já contaminadas beberam, devido ao alto poder tóxico da toxina já que basta uma gotícula para transmitir suficiente substância tóxica, para causar a morte de todas as aves que bebam nesse bebedouro.

**Sintomatologia**

Os sinais clínicos do botulismo em frangos, perus, faisões e patos são similares. Os sinais mais característicos da doença são paralisia flácida das pernas, asas, pescoço e da terceira pálpebra. Inicialmente as aves afetadas ficam deitadas e não se mexem, se forçadas a caminhar, parecem aleijadas. As asas caem e o pescoço encontra-se distendido para frente e apoiado no chão, quadro denominado em inglês "limberneck". Pela paralisia das pálpebras as aves apresentam-se comatosas e parecem mortas. Ao serem levantadas estarão ofegantes e com dificuldade para respirar. A morte ocorre pela falência cardio-respiratória. As aves afetadas apresentam as penas arrepiadas que são destacadas da pele, em tufo, com facilidade. As vezes, observa-se também diarreia.

**Morbidade e mortalidade:** A morbidade e mortalidade estão relacionadas à quantidade de toxina ingerida. Baixos níveis de intoxicação produzem pouca morbidade e mortalidade o que as vezes pode dificultar o diagnóstico. Em casos graves, a mortalidade pode ultrapassar 40%. Na doença das aves migratórias ("Western duck sickness") mais de 100.000 aves morreram em cada surto. Rosen (1971), relata a morte de 40.000 faisões criados para a caça esportiva em apenas um surto.

### Alterações anatomopatológicas

**Patologia:** As aves intoxicadas com *C. botulinum* tipo C não apresentam lesões macroscópicas e microscópicas características. Uma observação que pode ser indicativa é a presença de larvas, material em decomposição e fezes no proventrículo e na moela das aves afetadas. Acúmulo de muco na cavidade bucal devido à incapacidade de deglutição das aves, também pode ocorrer.

### Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo é através dos sinais clínicos, visto que não há lesões macroscópicas nem microscópicas características. O diagnóstico definitivo requer a detecção da toxina no sangue, no conteúdo do papo, moela, intestino ou no fígado da ave. Para tal, colhe-se uma amostra de sangue em tubo estéril e incuba-se durante 30 min em estufa a 37°C e logo após centrifuga-se para separar o soro. O soro é filtrado em membrana de celulose de 0,45 micras para esterilizá-lo. Uma porção deste é aquecida em banho Maria a aproximadamente 100°C por 10 minutos para desnaturação. Outra porção de 1mL é neutralizada com antitoxina botulínica do tipo C, (Instituto Pasteur, França), incubando-a a 37°C durante 30 minutos. Logo depois se injetam intraperitonealmente dois camundongos por grupo, com 0,5mL do soro normal, do soro aquecido e do neutralizado, observando-se durante 3 a 4 dias para detectar a presença de sintomas de botulismo e morte.

Paralelamente o conteúdo do papo, moela e dos intestinos é colocado em vidros contendo solução de gelatina tamponada com pH 6,2 previamente esterilizada. Separadamente, o fígado é macerado e colocado na mesma solução e após homogeneização durante 30 segundos são incubados a 4°C durante 12 horas para extração da toxina. Parte da fração líquida dos vidros é retirada e centrifugada e 6mL de cada extrato é esterilizado por filtração. Uma porção (2 a 3 mL) deles é submetida a aquecimento e 1mL é neutralizado com antitoxina específica do modo já descrito anteriormente e sendo 0,5mL de cada um inoculados em pares de camundongos. Havendo toxina botulínica em alguma das amostras ocorrerá nos camundongos, sintomatologia típica de botulismo e a morte.

Para o isolamento do *C. botulinum*, 1mL da amostra positiva é inoculada em tubos com meio de carne cozida (Cooked meat medium) e incubado a 30°C durante quatro a cinco dias. Após este período 1mL de líquido é retirado e testado para toxina em camundongos. Quando positivo, com alça, são semeadas placas de ágar sangue e ágar para *clostrídios*, e incubadas em jarras de anaerobiose com o sistema Gas-pak a 30°C durante 24 a 48 h.

Das colônias típicas são realizadas lâminas e coradas pelo método de Gram, para confirmar a presença de bastonetes Gram positivos, esporulados. A colônia pura selecionada é repicada para tubos contendo infusão de cérebro e coração (BHI), incubada em anaerobiose a 37°C por 24h e submetida a testes bioquímicos, utilizando-se as galerias API 20A (Bio Mérieux) para identificação de anaeróbios.

Freqüentemente há pouco ou quase nada de material no papo. Na moela encontram-se palhas de arroz, pedregulhos e uma pasta negra que possivelmente sejam larvas em desintegração. Esta pasta quando diluída com solução salina estéril é tóxica para camundongos e neutralizada pela antitoxina botulínica.

Para o diagnóstico o melhor material é o soro sangüíneo, porém as vezes, já não há toxina circulando no sangue, dando resultado negativo. Quanto a extração de toxina dos conteúdos intestinais, o conteúdo da moela tem demonstrado os melhores resultados, com 80% de positividade. Já a presença de toxina no fígado é escassa com menos de 10% de positividade.

Atualmente, tem-se utilizado a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), que permite por meio de *primers*, detectar os genes responsáveis pela produção do agente patogênico.

## Prevenção e controle

O recolhimento rápido das aves mortas e o destino adequado das mesmas em fossas assépticas ou incineração das mesmas é muito importante para reduzir o contato das aves sadias e moscas com a toxina botulínica .

Recomenda-se a remoção da cama após cada lote, limpeza e desinfecção usando hipoclorito de cálcio, ou formalina nas instalações e nas áreas próximas aos aviários.

Deve-se fazer controle de moscas, e evitar que carcaças de aves fiquem expostas, já que elas podem permitir o desenvolvimento e transmitir o *C. botulinum*.

## Tratamento

No caso de botulismo recomenda-se o isolamento das aves doentes, facilitando o seu acesso a água e ração, permitindo assim que algumas se recuperem.

No se conhece tratamento específico efetivo para o botulismo, porem alguma autores recomendam o uso de selenito de sódio, vitaminas A , E e D3 para reduzir a mortalidade (Schettler, 1979)

O uso de antibióticos como bacitracina de zinco, estreptomicina e clortetraciclinas têm um efeito benéfico, reduzindo a mortalidade segundo Sato, (1987).

## Imunidade

A imunização contra o botulismo não é utilizada em aves. O uso de toxóides é mais comum em gado, nem sempre com muito sucesso. Antitoxinas bivalentes são utilizadas para uso profilático. São de valor duvidoso quando o animal já apresenta sintomatologia clínica.

## Enterite necrótica (*Clostridium perfringens*)

### Introdução

É uma enterotoxemia aguda, não contagiosa, principalmente em animais jovens, causada pela rápida multiplicação no intestino do *Clostridium perfringens*. A doença é produzida pelas toxinas liberadas pelo *C. perfringens*, sendo as aves acometidas principalmente pelos tipos A e C. Caracteriza-se pelo aparecimento súbito, necrose confluyente da membrana da mucosa do intestino delgado, rápida debilidade e morte.

O *C. perfringens* é provavelmente uma das bactérias potencialmente patogênica mais difundida no mundo e sem dúvida o mais importante causador de enterites por *Clostridium* em animais domésticos.

### Histórico

A enterite necrótica em aves domésticas foi descrita pela primeira vez por Parish (1961), que reproduziu a doença com uma estirpe de *Clostridium welchii* (hoje o *Clostridium perfringens*). Outros casos têm sido relatados na maioria dos países onde se criam aves.

### Distribuição e ocorrência

A enterite necrótica é uma doença internacionalmente importante das criações de aves. É causada principalmente pelo *C. perfringens* tipo A ou tipo C. A doença também ocorre em algumas espécies de aves selvagens quando mantidas em cativeiro e em perus. O tipo A está normalmente presente no conteúdo intestinal de humanos e animais e no seu meio ambiente, ar, solo, poeira e esterco além de água de lagos, córregos e rios. Também têm sido isolados de vegetais, leite, queijo, carnes, frutos do mar, moluscos e alimentos enlatados. É frequentemente isolado de matérias primas para elaboração de rações, principalmente as de origem animal.

Os tipos B, C, D e E são mais difíceis de serem isolados do trato intestinal de animais.

### Etiologia

O *C. perfringens* é um microrganismo em forma de bastonete, Gram positivo em culturas jovens, medindo de 2 a 6µm de comprimento por 0,8 a 1,5µm de largura, normalmente se encontra isolado ou em pares as vezes formam cadeias curtas. É anaeróbico, porém não requer condições de anaerobioses para crescer tão estrita como outros *clostridios* (*C. botulinum*), desenvolvendo bem em meios de laboratório a temperaturas entre 37°C a 47°C, sendo seu ótimo 43°C. Produz esporos com forma oval, na posição central e subterminal da bactéria. Em meios artificiais a esporulação é favorecida pela adição de amido solúvel.

**Resistência a agentes físicos e químicos:** Os esporos do *C. perfringens* tipos A e C sobrevivem a temperatura de 100°C por mais de uma hora. No meio ambiente estes esporos resistem as radiações solares, calor, desidratação durante anos. Para garantir sua destruição é necessária uma temperatura de 115°C por 4min com uma atmosfera de pressão.

Em meios sólidos as colônias são redondas, medindo de 2 a 3mm de diâmetro, suaves, convexas e opacas. Em placas de ágar sangue, as colônias são rodeadas por uma zona interna de hemólise total e uma zona mais externa com hemólise incompleta, quando usado sangue de carneiro ou coelho. A hemólise é produzida pelas toxinas alfa, delta e theta. O *C. perfringens* produz pelo menos 12 tipos de toxinas e antígenos, alguns dos quais desempenham importante papel na doença. O tipo A se caracteriza por produzir grandes quantidades da toxina alfa, uma lecitinase que ataca as células das membranas, causando a morte celular e sua destruição. Já o *C. perfringens* tipo C produz as toxinas alfa e beta, letal e necrosante.

Para a identificação do microrganismo utilizam-se meios diferenciais e testes bioquímicos.

### Bioquimicamente

A maioria das espécies fermenta a glicose, lactose, maltose e sacarose e não fermenta o manitol. O principal produto da fermentação é o ácido acético e butírico, hidrolizando a gelatina, digerindo o leite não há produção de indol.

Quando cresce em meio com gema de ovo, o *C. perfringens*, produz colônias rodeadas por um halo de opalescência, provocado pela alfa toxina, uma lecitinase, denominando-se de reação de Nagler ou de lecitinase e há ausência de lipase. Esta reação é muito utilizada na identificação do *C. perfringens* tipo A, repicando-se a cultura em uma placa contendo ágar gema de ovo, a qual previamente recebe uma camada de antitoxina - A de *C. perfringens* em uma metade dela. Após incubar em anaerobiose por 24 horas, para crescimento aparecerá uma zona de precipitação ao redor das colônias no lado que não recebeu antitoxina e nenhuma reação no lado onde a antitoxina A foi espalhada.

Em leite tornasol (Litmus Milk) é produzido ácido e coagulação com muita produção de gás, que rompe o coagulo, produzindo a "coagulação tormentosa", reação característica para a maioria das espécies de *C. perfringens*. Nas enterites necróticas, grandes quantidades de *C. perfringens* podem ser isoladas do conteúdo e da mucosa intestinal das aves afetadas, fato este de alto valor para o diagnóstico. Esfregaços preparados do conteúdo intestinal logo após a morte, das lesões nas paredes do intestino e coradas pelo método de Gram, mostram contagens elevadas de *C. perfringens*.

Para o isolamento do *C. perfringens*, de uma amostra fresca altamente infectada, deve-se retirar uma alçada do conteúdo intestinal e inoculá-la em placas de ágar sangue e incuba-se anaerobicamente em jarras anaeróbicas por 24 a 48 horas. Na maioria dos casos, colônias puras de *C. perfringens* serão isoladas. Paralelamente uma alçada do conteúdo intestinal deve ser inoculada em tubos contendo caldo de carne cozida (Cooked meat medium) previamente aquecido em banho Maria a 100°C por 5 minutos, para eliminar o oxigênio livre dos tubos e depois esfriado a 37°C. Uma característica do *C. perfringens* é a produção de grande quantidade de gás, após poucas horas de incubação, aparecendo bolhas de gás que sobem do fundo do tubo com meio de



cultura. Uma subcultura destes tubos em placa de ágar sangue com neomicina e ágar S.P.S (ágar sulfito, polimixina B, sulfadiaxina) incubadas em anaerobiose, normalmente permite o aparecimento de colônias puras de *C. perfringens* das quais é feito esfregaço corado pelo método de Gram e depois realizados testes bioquímicos de fermentação e teste de motilidade.

## Patogenicidade

Os surtos de enterites necróticas são mais freqüentes em frangos entre dois a cinco semanas de idade, criados em cama. Entretanto surtos em poedeiras, criadas em piso com três a seis meses de idade tem sido reportados. A enterite necrótica subclínica em frangos está estreitamente correlacionada com a diminuição da taxa de crescimento, e da eficiência alimentar.

A enterite necrótica também tem sido demonstrada em perus com idades entre 7 e 12 semanas, ou simultaneamente com infecção por ascarídia ou coccidioses.

O *C. perfringens* pode ser encontrado no conteúdo intestinal, fezes, solo, comida contaminada, cama de frangos etc. Em vários surtos de enterite necrótica, a ração e a cama foram as fontes de infecção. Análises microbiológicas realizadas em matérias primas usadas em rações, principalmente farinhas de penas, carne e de vísceras têm demonstrado diversos níveis de contaminação por *C. perfringens*, dependendo principalmente da qualidade da matéria prima, e dos cuidados higiênicos durante seu processamento. Em amostras analisadas, esta contaminação tem variado, de amostras isentas de *C. perfringens* a outras com contagens na ordem de  $3,2 \times 10^4$  ufc/g. Acredita-se que mesmo as farinhas com baixa contaminação por *C. perfringens* podem servir de inóculo no intestino das aves, para dar início a um quadro de enterite, dependendo dos fatores predisponentes a que essas aves estejam expostas. Lesões na mucosa intestinal, provocadas por rações com alto teor de fibra, ou infecção concomitantemente por coccidia podem também predispor as aves ao desenvolvimento de uma enterite necrótica.

O número de *C. perfringens* que pode ser isolado no trato intestinal normal de frangos, varia muito nos diferentes trabalhos. Alguns estudos têm achado que o *C. perfringens*, é o principal microrganismo anaeróbio estrito do intestino de frangos. No entanto, outros citam sua presença esporadicamente, ou em pequenas quantidades no intestino delgado de frangos normais desde o nascimento até 5 meses de idade.

Outros autores sugerem que mudanças na alimentação podem afetar o número de *C. perfringens* no trato intestinal ou ainda que uma rápida multiplicação do *C. perfringens* pode ser precipitada, dependendo dos componentes presentes na ração. Como por exemplo: altos níveis de farinha de peixe, trigo, ou cevada na dieta podem predispor a um surto de enterite necrótica.

Com o uso de promotores de crescimento nas rações, para bactérias Gram positivas, que tem como finalidade o controle ou a diminuição do grau de patogenicidade do *Clostridium perfringens*, tornam-se muito importantes os cuidados com as infecções ditas subclínicas que provocam redução na absorção de nutrientes, e, conseqüentemente uma redução no ganho de peso e piora na conversão alimentar.

Em trabalho de pesquisa realizado para verificar a presença de *C. perfringens* em aves com idade de abate e aparentemente abaixo do peso, obtidas de diversos frigoríficos no interior do Estado de

São Paulo, foram analisadas 560 aves. Os resultados demonstraram a presença do *Clostridium perfringens* em 94 aves perfazendo uma percentagem de 16,8%. Em estudo similar detectou-se um maior índice de aves portadoras de *C. perfringens*, chegando a 31% de contaminação. A partir dos isolados foram realizados testes de sensibilidade a penicilina, bacitracina de zinco e lincomicina. Os resultados demonstraram que a penicilina teve o maior índice de resistência com 46,8%, seguido da lincomicina com 40,3% e a bacitracina com 22,6% (Gama *et al.*, 1998).

A enterite necrótica tem sido reproduzida experimentalmente em frangos, perus e codornas. A incidência de enterite necrótica em frangos convencionais, variam entre 1,3 a 37,3%, podendo chegar a 62% em aves livres de patógenos. A enterite necrótica pode ser reproduzida criando pintainhos em cama ou instalações onde já houve a doença, fornecendo ração contaminada com *C. perfringens*, administrando cultura vegetativa de *C. perfringens* na veia, oral ou no papo, ou intraduodenal, ou combinando cultura mais toxinas. Também, administrando doses de oocistos esporulados de Eimeira e alimentando-os com ração contaminada com *C. perfringens*.

### Mecanismos de transmissão

A enterite necrótica não se dissemina diretamente de ave para ave. O *C. perfringens* é um habitante normal do ceco e intestino grosso.

A infecção ocorre principalmente nos lotes com alta densidade, devido a grande quantidade de bactérias eliminadas nas fezes e, conseqüentemente ingeridas pelas aves.

Normalmente o pH e a grande quantidade de oxigênio impedem o crescimento de *C. perfringens* no intestino delgado. Portanto, para que ocorra enterite necrótica são necessários fatores que provoquem um desequilíbrio em favor das bactérias, permitindo proliferação e migração para o intestino delgado.

Muitos fatores favorecem o desenvolvimento da enterite necrótica como pode ser observado no quadro seguinte.

A incidência de enterite necrótica é alta em animais alimentados com dietas baseadas em trigo, cevada e centeio. Esses alimentos contem altos níveis de fibras indigestíveis que aumentam a viscosidade da dieta, diminuem a taxa de passagem e a digestão dos nutrientes. Uma alta viscosidade intestinal, associada a um fluxo lento da digesta e acúmulo de material indigestível ira aumentar a proliferação de patógenos tais como o *C. perfringens*. A composição química da dieta relacionada as fontes de proteína e perfil de aminoácidos também podem influenciar na propensão a doença.

A utilização de rações contendo altas concentrações de farinhas de origem animal, tais como farinha de peixe, ossos e carne estão freqüentemente associadas a um aumento no risco de enterite necrótica.

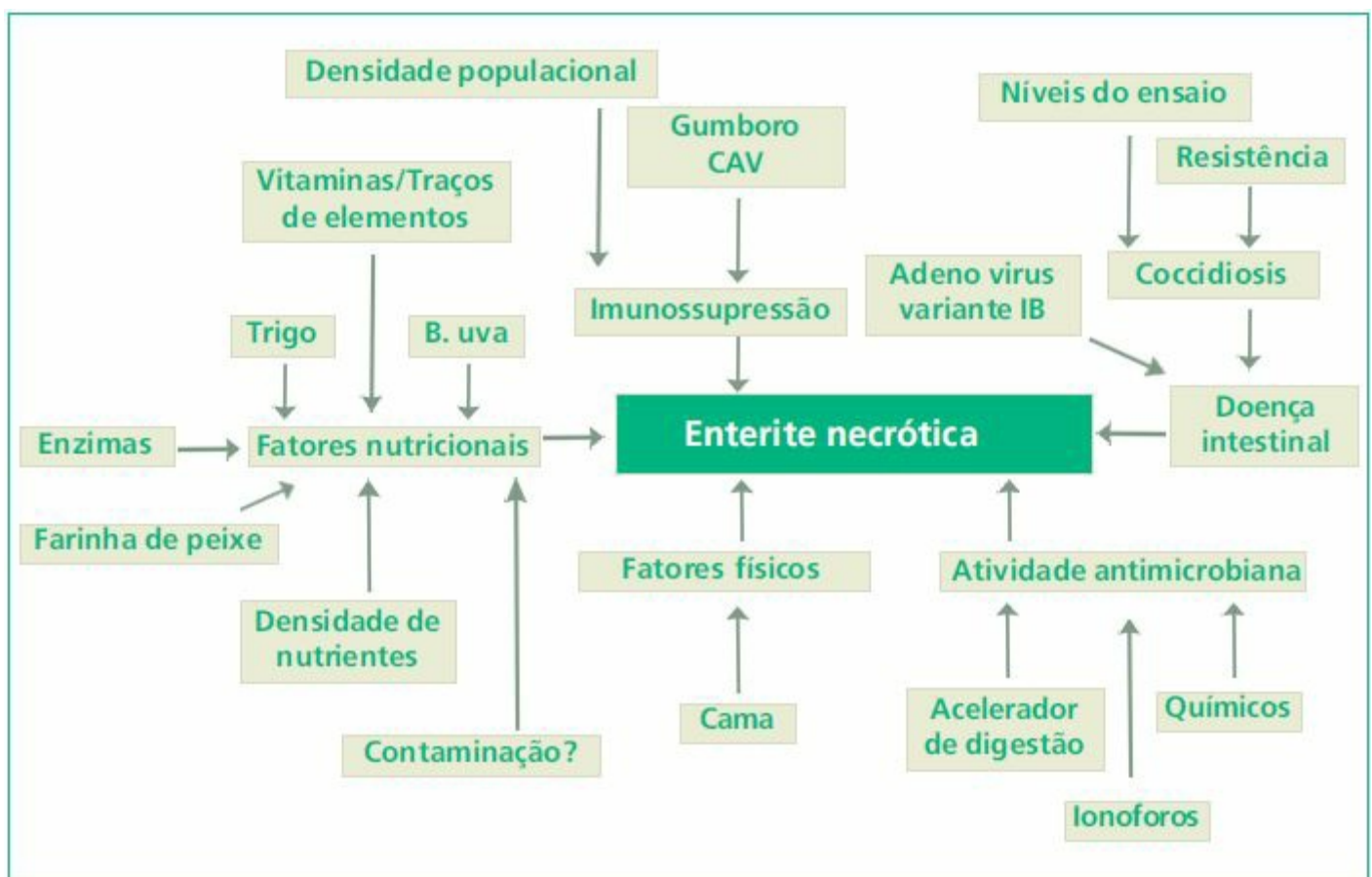
A ocorrência de enterite necrótica também pode estar associada a um surto de infecção por coccidiose. Essas infecções causam injurias à mucosa intestinal, que promovem a maior susceptibilidade a outras infecções incluindo, a enterite necrótica.

Outro fator importante na disseminação desse patógeno é a presença do besouro *Alphitobius diaperinus*, conhecido como "cascudinho", na cama de frango, como verificado por Vittori *et al.* (2007), que observaram um alto grau de contaminação por *C. perfringens* nesses insetos que são encontrados em grande número nos aviários.

## Sinais clínicos

As aves apresentam severa apatia, diminuição de apetite, penas arrepiadas, fezes com coloração escura às vezes com manchas de sangue, e diarréicas. Algumas aves se apresentam desidratadas e com escurecimento da musculatura peitoral. A evolução da doença é rápida, podendo muitas vezes apresentar-se de modo agudo, ocasionando mortalidade de 5 a 15% do lote sem apresentar sinais mais específicos. A mortalidade persiste no lote por cerca de 10 a 14 dias, quando não medicada.

As aves afetadas cronicamente apresentam edema, hemorragias e necrose de membros posteriores (similar a dermatite gangrenosa).



**Figura 1** - Fatores predisponentes para Enterite Necrótica. (Cortesia de Elanco Saúde Animal).

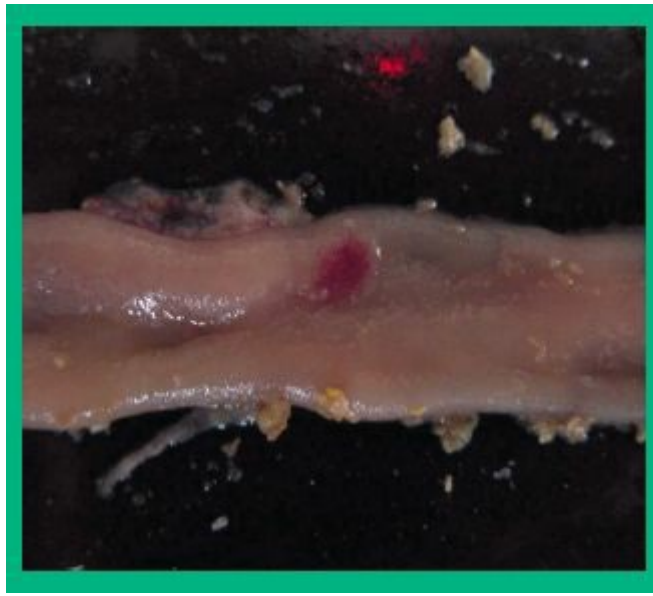
## Ilustração de Enterite necrótica



**Figura 1 - *C. perfringens*** (fígado aumentado de volume, com bordos arredondados e hemorrágicos)



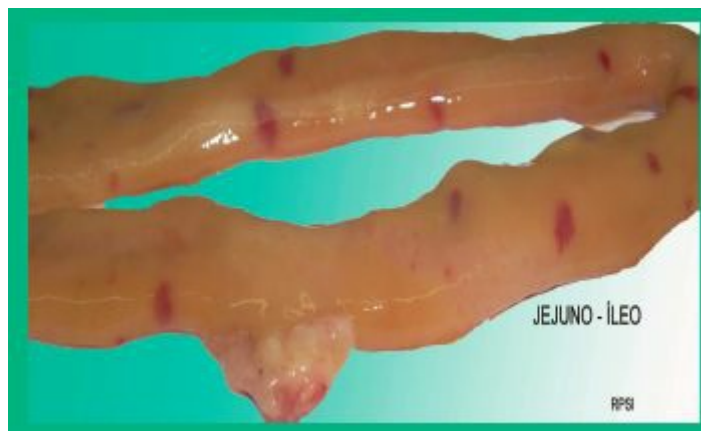
**Figura 2 - *C. perfringens*** (moelas com erosão.)



**Figura 3 - C. perfringens (placas de peyer hemorrágicas).**



**Figura 4 - C. perfringens (sufusões ao longo do duodeno, jejuno e ceco).**

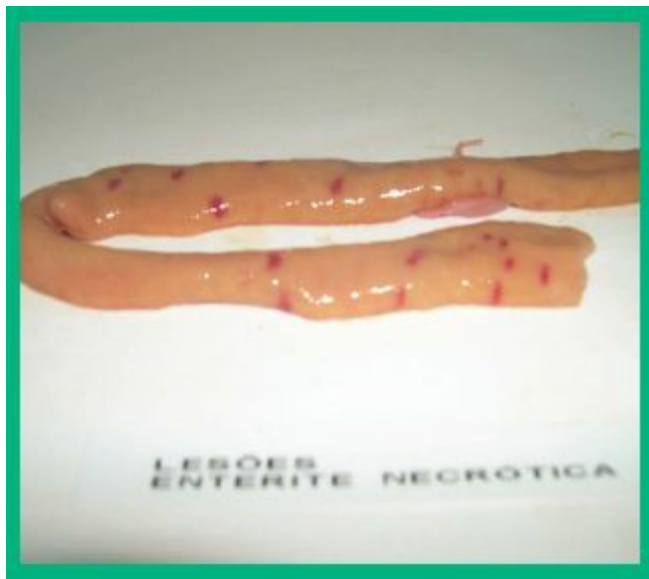


**Figura 5 - C. perfringens (sufusões ao longo do jejuno e íleo).**

**Ilustração de Enterite necrótica (cedidas pela Fort Dodge Saúde Animal)**



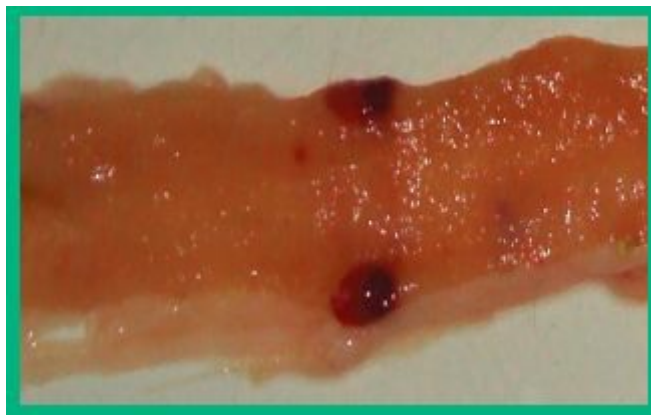
**Figura 6** - *C. perfringens* (sufusões intestinais).



**Figura 7** - *C. perfringens* (sufusões intestinais).



**Figura 8** - *C. perfringens* (tonsilas cecais hemorrágicas).



**Figura 9** - *C. perfringens* (tonsilas cecais hemorrágicas).

### Lesões macroscópicas

As lesões por *C. perfringens* são geralmente encontradas no intestino delgado, principalmente no jejuno e íleo. Porém, em alguns casos acomete os cecos, tornando-os friáveis, distendidos podendo conter um líquido de coloração acastanhada e de odor fétido, e com gases. Pode ocorrer hepatomegalia, congestão hepática e às vezes presença de focos esbranquiçados.

### Lesões microscópicas

São caracterizadas primariamente por severa necrose da mucosa intestinal, com abundância de fibrina aglutinada aderida a fragmentos (detritos) celulares. O desenvolvimento das lesões inicia-se no ápice dos vilos e caracteriza-se pela degradação do epitélio, e exposição da lamina própria, acompanhado de necrose coagulativa, circundada por heterofilos.

As lesões evoluem do ápice até as criptas dos vilos, podendo a necrose estender-se até a submucosa e camada muscular do intestino. É comum encontrar um grande número de bastonetes nos restos celulares.

Nas aves que sobreviveram à infecção, ocorrem modificações regenerativas que consistem na proliferação de células epiteliais nas criptas com correspondente aumento de figuras mitóticas. As células epiteliais são inicialmente de forma cuboidal, com uma relativa redução em forma de taça e células epiteliais colunares. Os vilos são relativamente curtos e planos. Em muitos casos, são encontrados paralelamente no intestino, vários estágios sexuais e assexuais de coccídias.

### Diagnóstico

É realizado através das lesões macroscópicas, microscópicas e pelo isolamento do agente etiológico. O isolamento do agente é realizado, utilizando-se conteúdo intestinal, raspado da mucosa intestinal ou dos nódulos linfóides hemorrágicos.

Para colheita de amostra, os intestinos são abertos em condições de esterilidade em fluxo laminar, e retirada uma porção do conteúdo intestinal e realizado um raspado da mucosa. Com alça de platina semeia-se o material em duplicata, em placas contendo ágar SPS e ágar sangue, incubando-se em jarras anaeróbicas com o sistema Gas-Pak, durante 24 a 48 horas a 37°C. A partir de uma colônia isolada característica, é realizada a identificação através da morfologia e Gram da bactéria, sendo estes, bastonetes curtos com pontas arredondadas, Gram positivos. Para a

confirmação de que a bactéria é anaeróbia, é realizado o teste da catalase. A colônia pura selecionada é repicada para tubos de ensaio contendo infusão de cérebro e coração (BHI), incubada em anaerobiose a 37°C por 24 h e depois submetida a testes bioquímicos, se utilizado o kit RAPID ID 32 A para bactérias anaeróbicas, fornecendo o resultado em 4 horas.

Teste de neutralização para detecção de toxinas: É possível realizar a identificação do tipo de *C. perfringens* realizando testes de neutralização para as toxinas, principalmente a necrosante tipo alfa, utilizando-se antitoxina específica.

Atualmente existem técnicas sofisticadas para a identificação bacteriana como a técnica do PCR e ELISA.

Utilizando a técnica de PCR é possível a identificação do agente diretamente do conteúdo intestinal, através da extração e purificação do DNA bacteriano, o qual após alguns tratamentos prévios é submetido a amplificação (processo de desnaturação para separação da dupla hélice do DNA e nova complementação com *primers*, que são fragmentos de DNAs conhecidos, os quais se ligam em locais específicos do DNA do *C. perfringens*, fornecendo resultado com alta fidelidade. Porém a técnica do PCR é ainda muito nova e cara para ser utilizada rotineiramente nos laboratórios.

A técnica de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) é um teste de diagnóstico sorológico. Sendo um teste imunológico que utiliza uma reação entre uma enzima e um substrato, como um sistema indicador para visualizar a ligação entre o antígeno e anticorpo. As vantagens do método de ELISA são várias:

- a) Especificidade:** com a utilização de anticorpos monoclonais de boa preparação é possível a minimização de reações cruzadas.
- b) Custos:** em função da rapidez e facilidade de uso, o custo do teste é considerado baixo.
- c) Facilidade de uso:** o manuseio do teste de ELISA (kits padronizados e aprovados) é de muita simplicidade, sendo realizado em tempo reduzido de trabalho.
- d) Rapidez:** a análise poderá ser efetuada em torno de 20 a 30 minutos. Entretanto, para a maioria das análises a etapa de preparo e extração prévia, 24 horas podem ser necessários.
- e) Sensibilidade:** o sistema de amplificação enzimática pode assegurar à metodologia elevada sensibilidade, visto que limites de determinação inferiores a 0,5 g/g na amostra já foram relatados.

Porém, ainda não há disponibilidade comercial de kits de ELISA para *C. perfringens*.

## Controle e prevenção

O uso de promotores de crescimento para o controle de bactérias Gram positivas (bacitracina de zinco, lincomicina, virgiamicina, nitrovin, avilamicina e outros), tem sido até o momento a principal estratégia para o controle de *C. perfringens* associado à enterite necrótica em frangos. Porém, atualmente há uma grande pressão, principalmente dos mercados europeus, na proibição



do uso de promotores de crescimento, em vista que se acredita que o uso rotineiro dos mesmos, poderia contribuir para o aumento da resistência a antimicrobianos pelas bactérias. Esse fato tem forçado a indústria avícola a considerar outras alternativas no controle deste patógeno. Dentre estas, destacam-se o uso de probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos, enzimas, extratos vegetais e vacinas como substâncias alternativas (Dahiya *et al.*, 2006).

Geralmente os probióticos são constituídos basicamente por bactérias presentes no trato intestinal das aves, tais como *Lactobacillus reuterii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Bacillus subtilis*, entre outros, que atuam no intestino, produzindo diversos fatores inibidores, como redução do pH, produção de bacteriocinas, peróxido de hidrogênio, entre outras, substâncias que reduzem a severidade da enterite necrótica.

Quando utilizados, têm-se verificado bons resultados em relação aos índices zootécnicos, bem como na redução do patógeno no trato digestório, porém apresentam menor eficácia quando comparados aos promotores de crescimento. (Schocken-Iturrino *et al.*, 2004 ).

Os prebióticos são substâncias indigeríveis que chegam intactas no intestino das aves, beneficiando as mesmas através do crescimento de bactérias benéficas já existentes ou quando adicionadas como no caso probióticos. Um dos principais prebióticos utilizados é o MOS (mananoligossacarídeos), que em combinação com probióticos tem demonstrado efeitos satisfatórios no desempenho dos animais e no controle da enterite necrótica, como verificado no trabalho de Flemming ( 2005).

O uso de enzimas pode diminuir a viscosidade do conteúdo intestinal, quando as rações contêm ingredientes alternativos como trigo, cevada e centeio. Os ácidos orgânicos podem acidificar a dieta provocando uma redução do pH gastrintestinal. Esta redução tem o potencial de controlar o crescimento de bactérias enteropatogênicas, como enterococos e Salmonelas.

Uma nova alternativa para o controle da enterite necrótica que ainda está sendo estudada é a imunização das matrizes. Estudos atuais têm demonstrado que toxóides a base de *C. perfringens* tipo A, apresentam efeitos satisfatórios no controle da enterite necrótica. Isto é possível vacinando-se a matriz entre 10 a 15 semanas de vida, com uma revacinação entre 17 a 20 semanas, de modo que os pintainhos originados dessa matriz, já possuirão anticorpos contra o *C. perfringens*. Estes estudos têm demonstrado que as aves originadas com essa imunização têm apresentado menor susceptibilidade e severidade a enterite necrótica clínica e subclínica.

Os resultados obtidos com a utilização destes produtos alternativos (isoladamente ou em combinação), em substituição aos promotores de crescimento, têm sido muito variáveis e, de um modo geral, os melhores resultados alcançados por estes produtos ainda estão aquém de bons resultados obtidos com os promotores de crescimento.

Deve-se controlar fatores imunossupressores tais como doença de Gumboro, anemia infecciosa, Marek, bem como a presença de insetos potencialmente veiculadores desse patógeno tais como o cascudinho e outros, além do controle da coccidiose com manejos profiláticos específicos e com uso de agentes anticoccidianos. Sugere-se ainda um manejo ambiental adequado, evitando a superlotação das granjas, e o excesso de umidade da cama.

No caso de ainda optar-se pelo uso de promotores de crescimento, aconselha-se a realização de testes de sensibilidade *in vitro*, aliado aos dados de campo, para verificar se o promotor de crescimento está sendo efetivo, bem como, se há necessidade de mudança com segurança por outra droga de eleição.

É importante o monitoramento periódico da presença de *C. perfringens* nas matérias primas de origem animal utilizadas na alimentação (farinha de carne, penas, sangues, vísceras) com a finalidade de estabelecer padrões de qualidade, fornecendo subsídios sobre a qualidade microbiológica destes produtos e assim poder estabelecer a dose adequada de promotor de crescimento conforme o grau de contaminação, época do ano etc.

Até o momento nenhuma estratégia isolada que reduz eficientemente a incidência de *C. perfringens* foi identificada. A combinação de um adequado manejo e higiene das granjas avícolas, considerações no tipo e qualidade microbiológica da dieta, aliada ao uso de substâncias alternativas, minimizam os efeitos da enterite necrótica.

## Tratamento

Antibióticos de eleição lincomicina, bacitracina de zinco, oxitetraciclina, tartarato de tilosina, etc.

## Imunidade

A imunidade é principalmente antitóxica mais do que antibacteriana. Utilizam-se vacinas feitas com cultura integral (Bactéria + toxinas) inativadas pelo formol. Estudos recentes na vacinação de aves têm demonstrado bons resultados, mostrando-se uma alternativa promissora no controle da enterite necrótica.

## Enterite ulcerativa (*Clostridium colinum*)

### Introdução

É uma infecção bacteriana aguda que ocorre em codornas, frangos jovens, perus e aves de caça causada pelo *Clostridium colinum* e caracterizando-se pelo aparecimento súbito e um rápido aumento de mortalidade. Inicialmente a doença foi vista em proporções enzoóticas em codornas, portanto foi denominada de doenças das codornas. Atualmente tem sido demonstrado que várias outras espécies de aves são susceptíveis, sendo denominada de enterite ulcerativa.

### Histórico

O primeiro caso de doença em codornas foi descrito nos Estados Unidos em 1907 por Morse. Posteriormente foram descritos surtos em perus selvagens e frangos (Shillinger & Moley 1934; Bullis & Van Roekel 1944). Aves domésticas como as pombas, faisões e codornas da Califórnia foram adicionados à lista de aves susceptíveis posteriormente.

### Distribuição e ocorrência

A enterite ulcerativa esta amplamente distribuída nos países que criam aves. É um problema nas regiões onde se concentra um grande número de criadores de aves e uma ameaça até para as aves em vida selvagem.

## Etiologia

São bastonetes Gram positivos retos, anaeróbios e móveis, medindo de 3 a 4µm de comprimento por 0,6 a 1µm de largura. Os bastonetes aparecem isolados ou aos pares, com presença de escassos esporos em posição sub-terminal. Cresce bem a 37°C por 24 a 48 horas.

As colônias em meios sólidos, são pequenas, arredondadas, semitranslúcidas, convexas, medindo de 1 a 2mm de diâmetro, possuindo bordas filamentosas. O isolamento do *C. colinum* é difícil. Recomenda-se caldo triptosa-fosfato-glicose adicionado de 8% de plasma eqüino ou caldo de tioglicolato com 3 a 10% de soro eqüino. Pode-se adicionar polimixina 13 (25mg/mL) para inibir contaminantes.

**Bioquimicamente:** Fermenta glicose, manose, rafinose, sacarose e trealose. A frutose e maltose são fracamente fermentadas. Manitol é fermentado somente por algumas espécies. Não fermentam arabinose, celobiose, glicogênio, inositol, lactose, melozitose, melobiose, ramnose, sorbitol e xilose. A esculina é hidrolisada, mas são negativos para hidrólise do amido. Não produzem nitrito nem indol. Não fermenta o Litmus milk e a caseína não é digerida. Não liqüefaz gelatina. São catalase, urease, lipase e lecitinase negativos. Os produtos de fermentação são ácido acético e fórmico. Cresce bem em caldo de carne cozida (Cooked meat medium) e incubado a 37°C durante 24 a 48 horas em anaerobiose.

**Resistência a agentes químicos e físicos:** pelo fato de ser esporulado é extremamente resistente a agentes químicos e mudanças físicas. Os esporos de *C. colinum* são bastante resistentes ao octanol e clorofôrmio. Culturas mantidas em gema de ovo a (-) 20°C permaneceram viáveis após 16 anos. Resistem durante 3 horas a aquecimento de 70°C, e 1 hora a 80°C e 3 min a 100°C (Peckman, 1960).

## Patogenicidade e epizootia

Culturas puras de *C. colinum* contendo 10<sup>6</sup> células/mL pela via oral foram altamente patogênicas para codornas. A doença provocada experimentalmente apresentou tanto a forma aguda com a morte de aves em três dias como crônica com mortes após 1 a duas semanas.

Não tem sido demonstrada a presença de toxinas nesta espécie de *Clostridium*, pois os filtrados de cultura não são tóxicos para camundongos. Só tem sido isolado de lesões necróticas do fígado de codornas, faisões e frangos com enterite ulcerativa.

A infecção natural tem sido encontrada além de todas as espécies de codornas em perus selvagens e domésticos, frangos, pomba, faisões e também acometendo passeriformes com Pisco-de Peito-Ruivo (*Turdus migratorius*) (Winterfiel & Berkhoff, 1977).

**Mecanismos de transmissão:** o *C. colinum* é eliminado nas fezes das aves infectadas. As aves contraem a infecção em contato direto com as aves portadoras ou através de ingestão de

alimentos, água e carcaças contaminadas. As aves criadas industrialmente (galinhas, frangos de corte, perus) são mais resistentes que as codornas, geralmente necessitando de fatores predisponentes tais como coccidiose ou doenças imunossupressoras (Gumboro, anemia infecciosa, hepatite por corpúsculo de inclusão) para que ocorra a infecção por *C. colinum*. Acredita-se que o microrganismo sobrevive no solo.

## Sintomatologia

**Sinais clínicos:** as aves enfermas normalmente apresentam diarreias aquosa e branca, e a medida que a doença evolui, exibem um quadro de sonolência, anorexia, encurvamento do corpo com o pescoço retraído, olhos parcialmente fechados, penas arrepiadas, ocorrendo emagrecimento com atrofia do músculo peitoral com uma semana pós-infecção. Porém, muitas vezes, as aves infectadas podem morrer sem apresentar sinais evidentes da doença, com o papo cheio e com bom desenvolvimento.

**Evolução:** o curso da doença de um lote dura cerca de três semanas, com um pico de mortalidade ocorrendo entre 05 a 14 dias de infecção. A mortalidade em codornas jovens podem atingir 100% em poucos dias, em galinhas as perdas são entre 2 a 10%.

## Alterações anatomopatológicas

**Lesões macroscópicas:** as lesões primárias são observadas no terço final do intestino delgado, cecos e no fígado. As lesões no trato intestinal variam desde hemorragias puntiformes até ulcerações. As úlceras são bem definidas variando de 0,1 mm a 3 mm de diâmetro. As úlceras maiores podem apresentar uma membrana diftérica amarela com uma depressão no centro e as bordas protuberantes e hemorrágicas, o que pode ser visto na superfície da mucosa. As úlceras vão aumentando de tamanho, algumas se unem, formando uma grande área de necrose. As perfurações das úlceras são frequentes, acarretando em peritonite local ou difusa e aderência intestinal. No fígado apresentam-se focos amarelados isolados ou áreas amareladas irregulares. Também, são encontrados no fígado focos cinza disseminados circunscritos por um halo amarelo pálido. O baço pode estar aumentado de volume, congesto e hemorrágico.

**Lesões microscópicas:** No quadro agudo ocorre descamação do epitélio da mucosa, edema na parede intestinal e infiltração linfocitária. No interior da luz encontra-se epitélio descamado, células sanguíneas e fragmentos de mucosa.

Nas úlceras recentes há pequenas áreas necróticas com infiltração linfocítica e granulocítica envolvendo os vilos e estendendo-se para a submucosa. As células adjacentes a estas áreas apresentam necrose coagulativa com cariólise e cariexis. Pequenos grupos de bactérias Gram positivas podem ser observados no tecido necrosado.

As úlceras mais velhas apresentam como uma massa granular densa, acidófila com proteínas séricas coaguladas, detrito celular e bactérias sendo circundada por infiltrado granulocítico e linfocítico. Vasos de calibre menor próximos à úlceras e no fígado apresentam-se obstruído por trombos e bactérias.

As lesões no fígado consistem de pequenos focos de necrose coagulativa, com discreta reação

inflamatória, podendo apresentar colônias de bactérias Gram positivas nos parênquimas.

## Diagnóstico

O Diagnóstico é realizado, seguindo os seguintes procedimentos :

**a - Observação e avaliação dos sinais clínicos.**

**b - Observações das lesões macroscópicas:** presença de ulcerações intestinais típicas acompanhadas de necrose e dilatação hepática, hemorragia de baço.

**c - Observação microscópica de tecido necrótico de fígado** (método de Gram) tem como objetivo a pesquisa de bastonetes Gram positivos, esporos sub-terminais e esporos livres.

**d - Isolamento e identificação do agente etiológico:** os órgãos de eleição são fígado e baço; visto que em outros locais, tais como lesão intestinal podem estar presente contaminantes secundários.

**e - Imunofluorescência:** o diagnóstico presuntivo através das lesões macroscópicas associado a imunofluorescência tem uma alta especificidade para o diagnóstico de enterite ulcerativa.

O diagnóstico diferencial: deve ser realizado para diferenciar das coccidioses, enterite necrótica e histomoníase.

## Prevenção e controle

A prevenção da enterite ulcerativa faz-se estabelecendo programas de profilaxia específicas para manutenção da integridade do sistema imune, para que as aves não venha a ser acometidas por enfermidades imunossupressoras, tais como, Gumboro, anemia infecciosa, Marek e outras que ocasionem queda na resistência e favoreça o desenvolvimento do *C. colinum*.

Controle da coccidiose através de programas anticoccidianos adequados, a limpeza e desinfecção dos galpões e equipamentos, o uso de cama nova para cada criada são fundamentais para a prevenção da enterite ulcerativa.

## Tratamento

Os medicamentos recomendados são a estreptomicina - 60g/t de ração, bacitracina de zinco -50 a 100 g/t de ração. Podem ser usados também a furazolidona, clortretaciclina, penicilinas, lincomicina e virgamicina.

## Ilustração de Enterite ulcerativa



**Figura 10** - Lesões macroscópicas intestino 1.



**Figura 11** - Lesões macroscópicas intestino 2.



**Figura 12** - Lesões macroscópicas intestino 3.



**Figura 13** - Lesões macroscópicas intestino 4 (descamação mucosa).



**Figura 14** - Pontos necróticos.



**Figura 15** - Produção de gás pelo *C. perfringens*.

## Imunidade

A imunidade ativa parece se desenvolver em aves que se recuperam de infecções naturais. Quando as aves sobreviventes à infecção por enterite ulcerativa foram desafiadas, não foram observadas lesões dessa enfermidade, enquanto que 85% das aves controle sem imunidade morreram frente ao mesmo desafio. No entanto, as aves sobreviventes ao desafio, porém, do grupo tratado com antibióticos podem permanecer altamente susceptíveis a infecção.

# Dermatite gangrenosa

## Introdução

Doença de aves, principalmente jovens, causada pelo *Clostridium septicum*, *Clostridium perfringens* tipo A e *Staphylococcus aureus* isoladamente ou combinados, sendo a manifestação clínica mais severa quando combinados.

## Histórico, distribuição e ocorrência

O primeiro caso foi descrito por Niemann em 1930, o qual observou severas necroses do músculo e dos tecidos subcutâneos após inoculação com *Clostridium welchii* (*C. perfringens*) que tinha sido isolado do sangue, do coração e fígado de frangos. Pesquisadores holandeses isolaram o *C. perfringens*, *C. septicum* e *C. novyi* de frangos que estavam morrendo por infecção de feridas ocasionadas pela coleta de amostras de sangue para testes de pulrose (Blik & Jansen, 1931). A morte de perus por ferimentos provocados durante o acasalamento causada por *C. perfringens*, *C. septicum* e *C. sordellii* foi relatada por Fenstermacher & Pomeroy em 1939. Enfisema subcutâneo em frangos, com isolamento de *C. perfringens* e *cocos* foi descrito em Israel por Radan & Rautenstein-arsi (1950). A partir de 1963 casos de dermatites gangrenosa tem sido relatados em várias partes do mundo como Argentina, Bélgica Alemanha, Índia, Estados Unidos e Reino Unido (Ficken & Wages, 1997).

## Etiologia

Os agentes etiológicos de dermatites gangrenosa são *C. septicum*, *C. perfringens* e *Staphylococcus aureus*, as vezes isoladamente ou em combinação, sendo nesses casos mais grave. As características e o isolamento de *C. perfringens* já foram descritas em Enterite Necrótica. O *C. septicum* pertence ao mesmo gênero sendo também bastonetes anaeróbios Gram positivo, com esporos ovalados em posição subterminal. Para o isolamento utiliza-se ágar sangue com o dobro de ágar para evitar que as colônias se espalhem pela superfície, com incubação a 37°C por 24 a 48 h em anaerobiose em jarras com o sistema Gas-Pak. A identificação é realizada através de testes bioquímicos, usando-se o kit rapid ID 32 A para identificação de anaeróbios.

**Bioquimicamente:** Fermenta glicose, maltose, lactose e salicina e é negativo para sacarose e mani- tol. O principal produto da fermentação é o ácido acético e butírico. Hidroliza ainda a gelatina, o leite não é digerido e não há produção de indol. Quando cultivado em meio com gema de ovo, o *C. septicum* demonstra ausência de lecitinase, mas produz lipase.

## Patogenicidade e epizootia

Surtos de dermatites gangrenosa tem acometido frangos com idades variando entre 17 dias a 20 semanas. A grande maioria dos casos relatados em frangos situa-se entre quatro a oito semanas (Saunders & Brickford 1965). Surtos em aves com 20 semanas de idade tem acontecido em poedeiras e reprodutores. Mortes por *C. septicum* juntamente com *cocos* Gram positivos foram relatados em perus usados em reprodução (Fenstermacher & Pomeroy, 1939).

Os *clostrídios* encontram-se no solo, fezes, cama e rações contaminadas e conteúdo intestinal. O



*Staphylococcus* é normalmente encontrado na pele e mucosas das aves e nos locais onde as aves são incubadas, criadas e processadas. Em muitos casos a dermatite gangrenosa ocorre como uma seqüela a infecções por outros agentes infecciosos.

## Mecanismo de transmissão

A dermatite gangrenosa é uma doença do meio ambiente, não se propaga de ave para ave. As aves contraem a infecção do meio ambiente, solo ou cama. Os *Clostridium* são normalmente isolados de aves saudáveis, demonstrando que a infecção requer a combinação de agente e fatores que permitem a doença se desenvolver, tais como, doença de Gumboro, anemia infecciosa, reticuloendoteliose, adenoviroses, deficiências nutricionais (selênio e vitamina E), coccidioses, substâncias tóxicas, entre outras.

## Sintomatologia

As aves apresentam-se com variável grau de depressão, com incoordenação motora, inapetentes, fraqueza de pernas e, posteriormente ataxia. Período da doença é curto, geralmente menos que 24 horas, muitas vezes não ocasionando sinais clínicos visíveis, apenas mortalidade aguda que pode atingir de 1 a 60% do lote.

## Lesões macroscópicas

Áreas de pele escura que se estendem pelas asas, peito, coxas, pernas e abdômen e, geralmente estão desprovidas de penas. As áreas afetadas estão hemorrágicas, inflamadas e com odor fétido. Bolhas de gases podem estar presentes no fluido e tecido subcutâneo. Fígado e rins podem estar edemaciados e escuros. Áreas circunscritas de necrose são comuns, mas podem estar ausentes nos estágios iniciais da doença. Os pulmões tornam-se congestos e há atrofia da Bursa de Fabricius, em aves expostas à doença de Gumboro.

## Lesões microscópicas

Edema e enfisema com grande número de bacilos basofílicos e ou pequenos coccus no interior do tecido subcutâneo. Ocorre severa congestão, hemorragia e necrose do músculo esquelético subjacente. O fígado apresenta pequenas áreas disseminadas com necrose coagulativa e presença de bactérias no centro.

## Diagnóstico

É realizado através do histórico do lote, lesões macroscópicas típicas, lesões microscópicas e isolamento e identificação do agente etiológico.

Deve-se realizar a pesquisa da causa primária, tais como doenças imunossupressoras, deficiências nutricionais, entre outros.

## Prevenção e controle

Controle adequado das doenças imunossupressoras, balanceamento nutricional adequado, limpeza e desinfecção dos galpões e equipamentos.

## Tratamento

Recomenda-se a administração de clortetra- ciclinas, oxitetraciclina, eritromicina, penicilina, sulfato de cobre. Falhas no tratamento são geralmente atribuído a causa principal, normalmente viral, a qual não é controlada.

## Bibliografia

Bengston IA. Preliminary note on a toxinproducing anaerobe isolated from larvae of *Lucila caesar*. Public Health Reports 1992; 37:164-170.

Bliek L, Jansen J. Gasoedeem bij kippen na bloedtappen. Tijdschr Diergeneeskd 1931; 58:513-518.

Brada W, Langenegger J, Langenegger CH. Botulismo em aves no Estado do Rio de Janeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 1971; 6:27-32.

Bullis KL, Van Roekel H. Uncommon pathological conditions in chickens and turkeys. Cornell Vet. 34:312-319, 1944.

Dahiya JP, Wilkie DC, Van Kessel AG, Drew MD. Potential strategies for controlling necrotic enteritis in broiler chickens in postantibiotic era. Animal Feed Science and Technology 2006; 129:60-88.

Dickson EC. Botulism: the danger of poisoning from vegetables canned by the coldpack method. Journal of American of the Medical Association 1917; 69:966-968.

Eklund MW, Dowell Jr VR. editors. Avian botulism: an international perspective. Springfield: Charles C. Thomas; 1987.

Fenstermacher R, Pomeroy BS. Clostridium infection in turkeys. Cornell Veterinary 1939; 29:25-28.

Ficken MD, Wages DP. Clostridial diseases. In: Calnek, BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, editors. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa University Press; 1997.

Flemming JS. Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte. 2005. 109 f. Tese (Doutorado em tecnologia de alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Gama LFM. Quantificação de *Clostridium perfringens* (Enterite necrótica) em frangos de corte procedentes de frigoríficos da região de Ribeirão Preto, SP. Trabalho de conclusão do curso de zootecnia UNESP, Campus de Jaboticabal, 26p. 1998.

Morse GB. Quail disease in the United States. USDA, BAI Circ 109, 1907.

Niemann KW. Clostridium welchii infection in the domesticated fowl. Journal of the American Veterinary Medical Association 1930; 77:604-606.

- Parish WE. Necrotic enteritis in the fowl. III The experimental disease. *Journal of Comparative Pathology* 1961; 71:405-413.
- Peckman MC. Further studies on the causative organism of ulcerative enteritis. *Avian Disease* 1960; 4:449-456. Radan M, Rautensteinarasi N. Anaerobic subcutaneous emphysema of poultry. *Nature* 1950; 166:442.
- Riddell C, Kong XM. The influence of diet on necrotic enteritis in broiler chickens. **Avian Diseases** 1992; 36:499-503.
- Rood JI, McLane BA, Songer JG, Titbal RW. The clostridia, molecular biology and pathogenesis. London: Academic Press; 1997.
- Rossen MN. Botulism. In: Davis JW, Anderson R, Karstad L, Trainer DO. eds. Infectious and parasitic diseases of wild birds. Ames: States University Press, 1971:100-17.
- Saraiva D, Piloni C. Surto de botulismo, por tipo C, em frangos de corte em Santa Catarina (Brasil). *Revista do Centro Ciências Rurais* 1980; 10:(2):197.
- Sato S. Control of botulism in poultry flocks. In: Eklund MW, Dowell Jr BR, editors. *Avian botulism: an international perspective*. Springfield: Charles Cc. Thomas; 1987. p. 349-356.
- Saunders JR, Brickford A. A clostridial infections of growing chickens. **Avian Diseases** 1965; 9:317-326. Schering-Plough Animal Health. *Clostridium perfringens* tipe A toxoid. Boletim técnico. Pag 12. 2007.
- Schettler CH. Clostridium botulinum type C toxin infection in broiler farms in North West Germany. *Berlin Munch Tierarztr Wochenschr* 1979; 92:50-57.
- Schocken-Iturrino RP, Ávila FA, Pinese JE, Yokoya F. An outbreak of type "C" botulism in broiler chickens in São Paulo State, Brazil. *Revista de Microbiologia* 1985; 16(1):31-35.
- Schocken-Iturrino RP, Urbano T, Trovó KVP, Tremiliosi Neto G, Medeiros AA, Ishi M. *et al.* Uso de probióticos para frangos de corte: avaliação do desempenho zootécnico em aves desafiadas com *C. perfringens*. *Ars Veterinaria* 2004; 20(3):249-255.
- Seddon HR. Bulbar paralysis in cattle due to the action of a toxicogenic bacillus, with a discussion on the relationship of the condition to forage poisoning (botulism). *Journal Comparative Pathology and Therapeutics* 1992a; 35:147-190.
- Seddon HR. The specific identity of Bacillus parobotulinus. *Journal Comparative Pathology and Therapeutics* 1992b; 35:275-280.
- Sesti L. Doenças avícolas: qual é a mais preocupante? *Avisite especial*, 2002 [cited 2008 jan. 10]. Available from: <[http://www.avisite.com.br/reportagem/saude\\_avicola/default2.asp](http://www.avisite.com.br/reportagem/saude_avicola/default2.asp)>
- Shinllinger JE, Moley LC. Studies on ulcerative enteritis in quail. *J. Am Vet Med Assoc.* 1934; 84:25-35.

Vittori J, Schocken-Iturrino RP, Trovo KP, Ribeiro CAM, Barbosa GG, Souza LM. *et al.* *Alphitobius diaperinus* spp como veiculador de *Clostridium perfringens* em granjas avícolas do interior paulista, Brasil. *Ciência Rural* 2007; 37:894-896.

Winterfiel RW, Berkhoff GA. Ulcerative enteritis in robins. *Avian Disease* 1977; 21:328-330.

<b>Introdução</b>	<b>553</b>
<b>Histórico</b>	<b>553</b>
<b>Distribuição e ocorrência</b>	<b>554</b>
<b>Etiologia</b>	<b>554</b>
<i>Classificação</i>	554
<b>Morfologia</b>	<b>555</b>
<b>Propriedades</b>	<b>555</b>
<b>Ciclo</b>	<b>555</b>
<b>Patogenicidade</b>	<b>555</b>
<b>Patogenia e epizootiologia</b>	<b>556</b>
<i>Hospedeiros</i>	556
<i>Transmissão</i>	556
<i>Período de incubação</i>	556
<i>Patogenia</i>	556
<i>Morbidade e mortalidade</i>	557
<b>Sinais clínicos</b>	<b>557</b>
<b>Alterações anatomopatológicas</b>	<b>557</b>
<i>Alterações macroscópicas</i>	557
<i>Alterações microscópicas</i>	557

<b>Imunidade</b>	<b>558</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>558</b>
<b>Prevenção e controle</b>	<b>559</b>
<i>Tratamento</i>	559
<i>Vacinação</i>	560
<b>Importância econômica</b>	<b>560</b>
<b>Importância em Saúde Pública</b>	<b>560</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>561</b>

Tânia de Freitas Raso

## Introdução

clamidiose aviária é uma doença infecciosa sistêmica causada pela bactéria Gram-negativa *Chlamydophila psittaci*, anteriormente denominada *Chlamydia psittaci*. Infecta aves e humanos sendo caracterizada pelo seu parasitismo energético intracelular obrigatório. Inicialmente era conhecida como psitacose ou febre dos papagaios, pois se acreditava que só ocorria em psitacídeos. Posteriormente sua ocorrência foi confirmada em aves de exploração comercial sendo denominada ornitose. Atualmente, o termo clamidiose é utilizado para designar a enfermidade em qualquer espécie aviária e o termo psitacose para designar a doença em humanos. Os sinais clínicos variam ligeiramente entre as aves silvestres e de produção, sendo dependentes da espécie, idade e susceptibilidade do hospedeiro e do sorotipo envolvido. Diversas espécies, em particular os psitacíformes, apresentam freqüentemente o quadro de portador inaparente com eliminação intermitente do agente por longos períodos.

Nos últimos anos o interesse do médico veterinário na área de medicina de aves silvestres tem aumentado no mundo todo, incluindo o Brasil, em decorrência do aumento do número de criadores de aves silvestres destinadas aos domicílios (aves de estimação) e à produção comercial, bem como, pelo maior interesse na conservação de espécies ameaçadas. Tais fatos, associados à preocupação crescente com as zoonoses transmitidas por aves têm ressaltado a importância desta enfermidade.

Embora seja considerada uma das principais zoonoses transmitidas por aves silvestres, muitas pessoas associam sua ocorrência apenas aos psitacídeos. Contudo, em relação à avicultura comercial é de grande importância na criação e no abate de perus e patos. Nestas espécies, surtos da enfermidade causam grandes perdas econômicas em decorrência da mortalidade aviária e descarte das carcaças no abatedouro, além dos gastos com os humanos afetados. Em vista disso, medidas de prevenção e controle devem ser implementadas nos criatórios, granjas, abatedouros, lojas e quarentenários com o intuito de se evitar a disseminação do agente e, conseqüentemente, diminuir os prejuízos econômicos e o impacto da doença sobre a saúde pública.

## Histórico

A primeira descrição da enfermidade foi realizada em papagaios na Europa em 1874 e, no homem em 1879 sendo denominada de pneumotyphus. Em 1895 Morange descreveu a enfermidade como “psitacose”, derivado da palavra latina psittakus, que significa papagaio. No período de 1929-1930, uma grave epidemia de psitacose humana ocorreu na Europa e nos Estados Unidos da América, afetando cerca de 800 pessoas causando 300 óbitos. A partir de então, o agente foi corretamente identificado e a origem do surto foi atribuída a papagaios do gênero *Amazona*

importados da América do Sul. Em 1932, Meyer e Eddie descreveram o primeiro caso de psitacose humana transmitida por galinhas doentes. A ocorrência da doença foi relatada também em pombos em 1940 e em patos domésticos em 1948. Após 1950 tornou-se evidente que aves de exploração comercial, principalmente perus e patos, constituíam fonte de infecção humana. Embora os psitacídeos da América do Sul sejam incriminados como os portadores mais freqüentes do microrganismo, no Brasil a confirmação laboratorial da enfermidade é relativamente recente, sendo relatada em psitacídeos cativos em 1999. Nos anos recentes a ampliação dos estudos epidemiológicos e dos métodos de diagnóstico têm demonstrado um aumento do número de espécies aviárias naturalmente infectadas.

## Distribuição e ocorrência

A *Chlamydophila psittaci* é endêmica em todo o mundo. É amplamente distribuída entre as espécies aviárias, porém, sua incidência varia conforme o sorotipo envolvido, espécie e idade da ave afetada e fatores relativos ao manejo e ao ambiente. A maioria das aves apresenta-se cronicamente infectada e não demonstra sinais clínicos, no entanto, ao serem submetidas às condições de estresse, tornam-se doentes, eliminando o microrganismo em altas concentrações. Observa-se ainda que a prevalência da doença é subestimada tanto nas aves quanto nos humanos devido à ausência de diagnóstico laboratorial específico.

Estudos realizados na Bélgica com perus revelaram a presença do agente variando entre cerca de 50% a 80% das amostras examinadas na década de 90, sendo os sorotipos D e B prevalentes. Em codornas e perdizes um surto ocorrido em 1999 nos Estados Unidos da América acarretou 100% de morbidade e 40 a 50% de mortalidade nas aves de 2 a 4 semanas de idade.

Em Israel relatou-se infecção mista de *C. psittaci*, poxvírus e *Haemophilus gallinarum* em matrizes de frangos de corte que apresentaram conjuntivite severa e queda de 10% na postura. Na Inglaterra em 1990, galinhas de postura mantidas em gaiolas apresentaram-se ofegantes e com conjuntivite e à necropsia apresentaram traqueíte, pericardite e perihepatite. Embora a *E.coli* tenha sido isolada do fígado, todas as aves com conjuntivite foram testadas e positivas para detecção de antígeno de *C. psittaci* em suabe conjuntival. Apesar dos relatos a infecção natural em galinhas é rara sendo esta espécie considerada resistente à clamidiose.

Surto de clamidiose em aves silvestres e domésticas afetando humanos ocasionalmente são descritos. No Brasil, em 2004, um surto da doença em papagaios em quarentena causou 96,5% de mortalidade das aves, ocorrendo ainda, a contaminação dos funcionários do criatório.

## Etiologia

### Classificação

Page em 1966 classificou o microrganismo como uma bactéria pertencente ao gênero *Chlamydia*. Até a alguns anos o agente etiológico da clamidiose pertencia à ordem *Chlamydiales*, família *Chlamydiaceae*, com o único gênero *Chlamydia*, comportando quatro espécies: *Chlamydia psittaci*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* e *C. pecorum*. Em 1999 Everett *et al.* reclassificaram a família *Chlamydiaceae*, dividindo-a nos gêneros *Chlamydia* com três espécies (*C. trachomatis*, *C.*



muridarum e *C. suis*) e *Chlamydophila* com seis espécies (*C. psittaci*, *C. abortus*, *C. felis*, *C. caviae*, *C. pneumoniae* e *C. pecorum*). Desta forma, a *Chlamydia psittaci* passou a ser denominada *Chlamydophila psittaci* (**Tabela 1**) e os vários subtipos de *Chlamydia psittaci* que infectavam outros hospedeiros não-aviários são agora classificados como espécies novas.

Tabela 1 - Classificação taxonômica para a <i>Chlamydophila psittaci</i> ( <i>Chlamydia psittaci</i> ).	
Ordem Chlamydiales - Família Chlamydiaceae	
<u>Classificação</u>	
atual	
Classificação anterior	Gênero <i>Chlamydophila</i>
Espécies susceptíveis	
<i>Chlamydia psittaci psittaci</i>	<i>Chlamydophila</i> Aves
<i>Chlamydophila abortus</i> suínos	Ruminantes, eqüinos, murinos,
<i>Chlamydophila felis</i>	Felinos
<i>Chlamydophila caviae</i>	Cobaia

São descritos seis sorotipos aviários de *Chlamydophila psittaci*. O sorotipo A é endêmico entre psitacídeos causando freqüentemente infecção sistêmica de caráter agudo ou crônico, com eliminação intermitente do agente e em alguns casos pode causar doença em humanos. Este sorotipo também pode afetar pombos e passeriformes. O sorotipo B tem maior importância em pombos, mas também tem sido identificado em perus, passeriformes e psitacídeos. Os sorotipos C, D e E não têm hospedeiros aviários específicos, porém os dois primeiros são considerados de maior risco como doença ocupacional em funcionários de granjas e de abatedouros avícolas. O sorotipo C foi descrito em perus, patos, gansos e perdizes. O sorotipo D, considerado de alta virulência foi descrito em perus, gaivotas e psitacídeos sendo considerado de maior risco para funcionários e veterinários da indústria avícola. O sorotipo E foi descrito em perus, patos, pombos, avestruzes e emas, já o sorotipo F foi isolado apenas de periquitos. Os diversos sorotipos não são específicos dos grupos citados, podendo ser encontrados em outras espécies de aves, além do homem, diferindo quanto à patogenicidade e virulência. Diferentes sorotipos podem ser encontrados em um único hospedeiro.

## Morfologia

A *C. psittaci* possui duas formas metabólicas distintas, o corpo elementar (CE) e o corpo reticular (CR). O CE é a forma infecciosa do microrganismo, porém metabolicamente inerte. Possui uma estrutura esférica com diâmetro de 0,2 a 0,3µm, denso e imóvel apresentando resistência no ambiente extracelular. O CR é a forma intracelular, metabolicamente ativa, com diâmetro de 0,5 a 2µm, parede fina e flexível, não sobrevivendo fora da célula hospedeira. Possuem uma membrana externa semelhante à de algumas bactérias Gram-negativas, composta de fosfolipídeos, lipídeos, lipopolissacarídeos (LPS) e proteínas, além de uma importante proteína na membrana externa principal (MOMP- major outer membrane protein). A MOMP é uma proteína imunodominante com importante papel na imunidade das infecções por Chlamydiaceae.

## Propriedades

A *C. psittaci* é sensível ao calor e a agentes químicos que afetam os componentes lipídicos da parede celular, tais como formalina, peróxido de hidrogênio a 3%, álcool 70% e compostos de amônia quaternária. Sua multiplicação é inibida pela ação dos antibióticos derivados de tetraciclina, como clortetraciclina, oxitetraciclina e doxiciclina.

## Ciclo

A Chlamydophila é um parasita intracelular obrigatório com um ciclo de replicação característico de 48 horas em cinco fases. A primeira etapa tem início com o ataque e penetração dos CEs na superfície apical das células epiteliais colunares susceptíveis do hospedeiro. Após 1 a 3 horas a membrana da célula hospedeira susceptível invagina-se englobando o CE em uma vesícula endocito-plasmática onde permanece durante todo o ciclo, ficando assim protegido da ação das lisozimas do hospedeiro. Na segunda etapa, 8 a 12 horas após a infecção, ocorrem modificações na parede celular através da redução das ligações cruzadas entre as pontes dissulfeto das proteínas da membrana externa do microrganismo transformando-o em CR. Como o CR não tem capacidade de produzir fosfatos de alta energia, parasita a mitocôndria da célula hospedeira, de onde extrai toda a energia necessária para seu crescimento e multiplicação. Desta forma, inicia-se a síntese de DNA, RNA e proteínas permitindo o crescimento do microrganismo e multiplicação dos CRs por divisão binária. Cerca de 30 horas após a infecção inicial os CRs iniciam sua maturação transformando-se novamente em CEs. Desta forma, observa-se formação de microcolônias contendo de 100 a 500 organismos por célula (dependendo da característica do sorotipo), chamados de corpúsculos de inclusão ou corpos de Levintal-Collie-Lilie. Assim, 48 a 50 horas após a infecção as enzimas produzidas pela clamídia induzem a lise da célula hospedeira com conseqüente liberação dos CEs. A carência de elementos nutritivos na célula hospedeira faz com que as clamídias entrem temporariamente em estado letárgico, podendo permanecer sem atividade durante longo período.

## Patogenicidade

A patogenicidade da clamidiose depende da virulência do sorotipo. Os sorotipos virulentos são

mais comumente relacionados aos surtos e epidemias resultando em alta mortalidade das aves. Por outro lado, sorotipos menos virulentos podem causar epidemias de progressão lenta com taxas de mortalidade inferior a 5%. De forma geral, sorotipos mais virulentos replicam-se mais rapidamente produzindo maior número de organismos por célula parasitada e atingindo maior espectro de hospedeiros, enquanto os de baixa virulência muitas vezes induzem uma infecção assintomática. Sabe-se que a principal característica da clamidiose é o estado de portador inaparente e que a ativação da infecção latente e o desencadeamento da doença clínica dependem mais dos fatores de estresse e das condições gerais do hospedeiro do que das susceptibilidades de cada espécie. Contudo, a relação sorotipo X espécie pode ser determinante em alguns casos, pois um sorotipo de alta virulência para uma determinada espécie pode não causar doença clínica em outra. Ainda, o mesmo hospedeiro pode ser infectado simultaneamente por diferentes sorotipos. As infecções concomitantes podem afetar o sistema imune do indivíduo e complicar a infecção clamidiana, resultando em maior conversão em doença clínica e maior taxa de mortalidade.

## Patogenia e epizootiologia

### Hospedeiros

Cerca de 460 espécies aviárias pertencentes a 30 ordens são atualmente reconhecidas como sendo portadoras de *C. psittaci*. Entre as aves afetadas encontram-se os psitacídeos (araras, papagaios, periquitos), galídeos (galinhas, perus, faisões), columbídeos (pombos, rolinhas), passerídeos (canários, pardais, cardeais), anserídeos (patos, gansos), falconídeos (falcões, gaviões), charadriídeos (gaivotas) e ratitas (emas, avestruzes). A resistência das aves à clamidiose varia de espécie para espécie, sendo as galinhas mais resistentes à infecção em comparação aos perus, patos e pombos e os psitacídeos, mais susceptíveis à infecção. Aves jovens são mais susceptíveis à infecção, doença clínica e mortalidade que as aves mais velhas. No Brasil a *C. psittaci* foi detectada em diversas espécies de aves cativas e de vida livre, sendo encontrada em cerca de 30 espécies de Psitacídeos (araras, papagaios, maritacas e periquitos) além de Columbídeos (pombo doméstico). Em outras ordens aviárias, como dos ramphastídeos (tucanos e araçaris), Passerídeos e Strigídeos (corujas) foram detectados animais sororeagentes, o que indica a circulação do agente nestas populações aviárias.

### Transmissão

A transmissão da doença entre as aves ocorre por inalação ou ingestão do microrganismo e contato direto com secreções contaminadas. Filhotes de psitacídeos e columbídeos comumente se infectam no ninho através do regurgitado infectado dos pais durante a alimentação. A transmissão vertical pelo ovo é rara, contudo já foi relatada em galinhas, perus, patos, gansos, gaivotas e em alguns psitacídeos. Não se sabe a real importância dos artrópodes na transmissão da *C. psittaci*, mas ácaros e moscas têm sido sugeridos como suspeitos em surtos da doença em perus nos Estados Unidos da América.

### Período de incubação

O período de incubação em infecções naturais varia em função do número de microrganismos inalados ou ingeridos e da virulência do sorotipo para a espécie hospedeira. Perus jovens

infectados experimentalmente com sorotipos virulentos apresentaram período de incubação de 5 a 10 dias. Nos casos naturais esse tempo pode ser maior. Sorotipos menos virulentos podem resultar em períodos de incubação longos e sinais clínicos discretos, que podem não ser evidentes até 2 a 8 semanas após a infecção. Em pombos não se sabe ao certo o período de incubação, pois acredita-se que a doença seja endêmica e perpetuada ainda no ninho pelos pais infectados. Em psitacídeos relata-se períodos de semanas à meses, podendo se estender por anos.

## Patogenia

A infecção inicial ocorre quando CEs presentes em restos de penas e excreções secas se dispersam no ambiente pela circulação do ar, infectando as células epiteliais do sistema respiratório e digestório dos indivíduos susceptíveis. Perus infectados experimentalmente com *C. psittaci* via aerógena revelaram a presença do microrganismo nos pulmões, sacos aéreos e na membrana do pericárdio quatro horas pós-infecção. Após 48 horas de infecção, as clamídias foram detectadas no baço, fígado, rim e sangue e, às 72 horas, na medula óssea, testículos, ovários, músculos e secreções nasais e cloacais. Além disso, a ocorrência de edema das articulações das pernas, claudicação, artrite ou tenosinovite têm sido relatada em perus em associação com a *C. psittaci*.

Galinhas infectadas experimentalmente com *C. psittaci* via sacos aéreos apresentaram sinais clínicos (secreção nasal aquosa e asas pendentes) entre 3 a 11 dias e eliminaram intermitentemente o microrganismo entre 4 e 28 dias pós-inoculação contaminando as outras aves em contato na gaiola. Ao serem inoculadas por via oral as galinhas também transmitiram horizontalmente a *C. psittaci* para as aves sadias em contato, contudo, não demonstraram sinais clínicos da enfermidade.

Em condições naturais é difícil avaliar quando uma ave com infecção inaparente foi infectada, uma vez que o período de incubação da doença pode variar consideravelmente.

## Morbidade e mortalidade

A taxa de morbidade geralmente é elevada, todavia bastante variável. Na Europa, observou-se que em perus cepas virulentas causam em média 50 a 80% de morbidade, enquanto que cepas menos virulentas causam 5 a 20%; em patos e pombos a morbidade varia de 10 a 80%. Nos Estados Unidos da América estima-se que 10 a 40% dos psitacídeos são portadores, sendo em alguns criatórios observado 100% de morbidade. No Brasil, foram detectados anticorpos anti-*C. psittaci* em até 100% dos psitacídeos sem doença clínica evidente e, cerca de 16 a 56% de aves eliminando o agente.

A taxa de mortalidade é extremamente variável, sendo em perus de 10 a 30% com sorotipos virulentos e de 1 a 4% em sorotipos de baixa virulência. Em patos pode ser de 0 a 30% conforme a presença de outras infecções e idade da ave.

Infecções concomitantes por bactérias, principalmente *E. coli* e *Salmonella*, podem contribuir para o aumento da taxa de mortalidade.

## Sinais clínicos

A clamidiose pode se apresentar de diversas formas: superaguda, aguda, crônica e inaparente. Os sinais clínicos variam em função da espécie, idade e estado imune da ave, via de infecção, virulência da cepa envolvida e presença concomitante de outras doenças. A forma superaguda ocorre geralmente em aves jovens, sendo caracterizada por óbito em poucas horas. Na forma aguda comum em psitacídeos observa-se apatia, anorexia, desidratação, blefarite, conjuntivite, asas pendentes, tremores, além de alterações respiratórias, digestivas, urinárias, reprodutivas e, nos estágios terminais, neurológicas. Na forma crônica os sinais clínicos são discretos e, por isso, muitas vezes negligenciados, sendo caracterizados apenas por emagrecimento progressivo, conjuntivite e leves alterações respiratórias. A forma inaparente é caracterizada pela ausência de sinais clínicos e as aves permanecem como portadoras, podendo eliminar o agente de forma intermitente por vários meses, e ainda, apresentar alterações inespecíficas tais como perda de peso, deficiência no empenamento, infecções bacterianas oportunistas e queda no desempenho reprodutivo.

Em perus os sorotipos virulentos podem causar alterações respiratórias, anorexia, conjuntivite, excretas amarelo-esverdeadas e queda acentuada na produção de ovos. Em patos podem causar secreção serosa a purulenta nos olhos e narinas com um curso de doença debilitante severa.

## Alterações anatomopatológicas

### Alterações macroscópicas

O grau de severidade das lesões é variado, não existindo alterações macro ou microscópicas patognomônicas da doença. Em geral as lesões são similares nas diversas espécies aviárias, sendo a hepatomegalia, esplenomegalia, aerossaculite, pericardite e enterite as mais comuns. À necropsia observa-se baço aumentado e de consistência mole, contendo ou não focos necróticos esbranquiçados ou petéquias hemorrágicas na sua superfície, fígado aumentado, friável e de coloração amarelada ou esverdeada, com pequenos focos fibrinosos ou necróticos na cápsula ou na superfície de corte. A membrana do pericárdio pode se apresentar espessada, congesta e com exsudato fibrino ou seroso. Os pulmões geralmente apresentam-se congestos e as membranas dos sacos aéreos espessadas, turvas ou recobertas por exsudato fibrinopurulento. Ocasionalmente observa-se orquite e epididimite em perus.

### Alterações microscópicas

Histologicamente pode-se observar hiperplasia das células do sistema reticulo-endotelial, depleção linfóide, plasmocitose e áreas de necrose no baço, infiltrados mononucleares hepáticos e periportal heterofílicos. Infecções agudas são caracterizadas por necrose coagulativa multifocal, enquanto que infecções crônicas apresentam hiperplasia do ducto biliar e histiócitos, além da presença significativa de fibrose e infiltrados mononucleares. Lesões nos sacos aéreos são resultantes de infiltração de células mononucleares (especialmente macrófagos) e heterófilos. Os sacos aéreos podem estar espessados pela proliferação do epitélio e tecido conectivo. As alterações pulmonares são raras ou ausentes, entretanto, em alguns casos pode ocorrer edema, congestão ou pneumonia leve.

## Imunidade

Na maioria das espécies a resistência e imunidade não tem sido amplamente estudadas e os mecanismos de defesa dos hospedeiros não são bem conhecidos. Anticorpos anti-*C.psittaci* são regularmente produzidos pelo hospedeiro, evidenciando exposição prévia ao microrganismo sem contudo, confirmar infecção ativa. Mesmo na presença de títulos sorológicos elevados, a *Chlamydophila* persiste no hospedeiro devido à sua característica intracelular, e este elimina CEs ativamente. Aves soropositivas, mesmo após tratamento adequado, podem manter títulos de anticorpos elevados por semanas ou meses, dependendo do título inicial. Estes títulos persistentes são freqüentes em algumas espécies de psitacídeos. Resultados sorológicos negativos podem ser observados em infecções iniciais, em aves jovens ou imunossuprimidas, normalmente incapazes de produzir resposta imune detectável.

## Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da *C.psittaci* continua sendo um entrave para o controle da enfermidade devido às características biológicas do agente, a eliminação intermitente pelo hospedeiro, a resposta imune de cada espécie de ave e, principalmente, devido ao risco de contaminação laboratorial das pessoas envolvidas. O diagnóstico definitivo é obtido pelo isolamento ou detecção do agente etiológico. Os métodos de isolamento são dispendiosos e demorados, sendo aplicados rotineiramente apenas em laboratórios especializados e com biossegurança nível 3. Amostras de conjuntiva, orofaringe, cloaca, fezes ou tecidos das aves suspeitas podem ser utilizadas para isolamento do agente. Este pode ser obtido por inoculação em cultura de células das linhagens McCoy, HeLa, Vero, L929 ou Buffalo Green Monkey ou no saco vitelino de ovos embrionados de galinha de seis a sete dias de incubação. As monocamadas de células entre o segundo ao sexto dia pós-inoculação e os esfregaços das membranas dos sacos vitelinos dos embriões mortos, entre 4 a 12 dias, são fixados em metanol e submetidos aos métodos de coloração de Gimenez, Macchiavello ou Stamp. Tais colorações de rotina são úteis quando utilizadas para identificação do microrganismo a partir de isolados, contudo, sua utilização direta em amostras clínicas (citologia ou imprintings de órgãos) é questionável, pois os CEs e CRs são de difícil identificação podendo ser confundidos por pessoas não-treinadas com outras bactérias e precipitados do corante. Anticorpos monoclonais conjugados ao isotiocianato de fluoresceína são comumente utilizados para identificar as inclusões intracitoplasmáticas de *C. psittaci*.

Para detecção direta de *Chlamydiaceae* em amostras clínicas aviárias, diversos testes imunoenzimáticos (ELISA-Ag) e de imunofluorescência direta (IFD) têm sido utilizados. Contudo, estes testes eventualmente podem apresentar resultados falso-positivos devido às reações cruzadas com outros microrganismos, particularmente bactérias Gram-negativas, em amostras provenientes de fezes ou cloaca de aves. A técnica da reação em cadeia pela polimerase (PCR) e suas variações, PCR multiplex, PCR nested e PCR semi-nested têm sido aplicadas no diagnóstico laboratorial de *Chlamydiaceae*.

A detecção de anticorpos anti-*C.psittaci* é, em geral, utilizada como teste alternativo aos testes de detecção do agente. Entre os testes sorológicos disponíveis encontram-se os de fixação do complemento (FC), aglutinação em látex, aglutinação de corpos elementares, imunofluorescência indireta e ensaios imunoenzimáticos (ELISA indireto, sandwich ELISA e blocking ELISA). No entanto, atualmente os mais utilizados são a FC e o ELISA indireto. As maiores limitações se devem a dificuldade de produção de antígeno e utilização adequada da técnica nas diferentes

espécies de aves. A reação de FC é considerada a técnica padrão no diagnóstico sorológico de *C.psittaci*. Anticorpos fixadores de complemento geralmente são detectados 7 a 10 dias pós-infecção. Em um plantel com sinais clínicos de doença, um diagnóstico presuntivo poderá ser obtido se as aves apresentarem títulos de anticorpos  $\geq 64$ . Um aumento de quatro vezes ou mais no título de anticorpos em amostras pareadas de soro de um mesmo indivíduo, num prazo de aproximadamente duas semanas é considerado diagnóstico de infecção recente.

Em vista da complexa biologia das infecções por *C.psittaci* em aves, o uso de uma única técnica ou amostra pode não ser suficiente para detecção de um indivíduo positivo. Assim, quando da detecção do agente recomenda-se a colheita de mais de uma amostra clínica de cada ave num período de três a cinco dias ou a colheita de amostras de diferentes fontes (cloaca, orofaringe ou conjuntiva), associando, quando possível, ao teste sorológico, aumentando desta forma as chances de identificação de aves infectadas.

O diagnóstico diferencial deve ser feito principalmente para pasteurelose (principalmente em perus), salmonelose, micoplasmose e colibacilose.

## Prevenção e controle

A clamidiose aviária é uma doença de notificação obrigatória aos órgãos de saúde pública em diversos países, recomendando-se diversas medidas de controle, entre elas precauções com relação à fronteira, quarentena e tratamento de todo plantel suspeito. O grande número de espécies hospedeiras, a elevada incidência de infecções persistentes e de portadores inaparentes, associados às características peculiares da *C.psittaci*, prejudicam a adoção de medidas eficazes no controle da enfermidade.

## Tratamento

O tratamento, preconizado por 45 dias, é a principal medida instituída, no entanto, nenhum protocolo garante um tratamento efetivo ou a completa eliminação da *C. psittaci* em aves. Os CEs por serem metabolicamente inertes não são susceptíveis a ação de antibióticos, o que explica porque o tratamento da clamidiose é difícil e nem sempre eficaz. A antibioticoterapia inibe a eliminação do agente pela ave, mas esta continua susceptível a reinfecções com o mesmo sorotipo ou com sorotipos diferentes.

O tratamento pode ser realizado com clortetraciclina (CTC), doxiciclina (DC) ou oxitetraciclina (OTC) na ração, via oral ou injetável. Rações medicamentosas são de fácil administração, entretanto, a aceitação é variável, havendo necessidade de adaptação das aves ao novo alimento e a medicação, além do monitoramento do consumo. Dependendo da espécie aviária utiliza-se grãos e rações extrusadas ou peletizadas impregnados com CTC de 0,05% a 1%. Perus são tratados com CTC na concentração de 400g por tonelada de ração peletizada, devendo-se ter cuidado no preparo para não destruir a droga. A CTC deve ser administrada por duas semanas e retirada dois dias antes do abate.

Formulações orais de DC são utilizadas na dose de 25 a 50mg/kg para a maioria das aves silvestres. As aves devem ser monitoradas durante todo o tratamento e a medicação reduzida ou

suspensa se ocorrerem sinais de hepatotoxicidade e, em casos de regurgitação do medicamento, este deve ser substituído por outra forma de terapia. A injeção intramuscular de DC (75 a 100mg/kg de peso vivo) tem sido a escolha para tratamentos individuais e pequenos plantéis. Embora possa ocorrer irritação da musculatura peitoral no sítio de injeção de acordo com a formulação da droga, a DC tem como vantagens apresentar reduzida hepatotoxicidade e nefrotoxicidade, ser rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal, alcançar maiores concentrações teciduais em comparação às outras tetraciclina e ser facilmente eliminada pelos rins. A administração injetável de OTC é clinicamente efetiva, entretanto, em tratamentos prolongados pode causar irritação tecidual severa, sendo recomendado seu uso durante uma semana, após a qual deverá ser substituída por medicação oral. Estudos *in vitro* têm demonstrado a atividade anticlamidiana da enrofloxacina, embora relatos indicam que ela reduz os sinais clínicos, mas raramente elimina a *C. psittaci* de uma ave. Durante o tratamento deve-se evitar dietas com concentrações elevadas de cálcio e outros cátions bivalentes, pois eles inibem a absorção de tetraciclina e seus derivados.

Paralelamente ao tratamento com antibióticos, no caso de aves silvestres, estas devem receber tratamento suporte, fluidoterapia, suplementação da dieta e permanecer em ambiente isolado. Isso se faz necessário em função do prolongado período de tratamento preconizado, que pode predispor a ocorrência de infecções secundárias fúngicas e bacterianas.

Na avicultura comercial ou em qualquer outro sistema de criação as medidas de biossegurança são essenciais. Assim, para prevenir a disseminação do agente em um plantel medidas de limpeza e desinfecção do ambiente e de utensílios, isolamento e tratamento das aves infectadas, quarentena, manejo nutricional e sanitário adequados são fundamentais. Aves tratadas se infectam rapidamente em ambientes contaminados. As carcaças contaminadas devem ser adequadamente descartadas e vazios sanitários devem ser realizados nas granjas e abatedouros não apenas para evitar contaminações de novos lotes de aves como também contaminações humanas. Com o tratamento é possível controlar, porém não erradicar a *C. psittaci*. Ressalta-se que os fatores de estresse afetam negativamente a efetividade de um tratamento. Embora extensivamente utilizada, a quimioterapia em massa não é a solução, havendo a possibilidade de criar cepas resistentes e modificação da virulência da cepa entre as diferentes espécies aviárias.

## Vacinação

Até o momento, não se encontram disponíveis no mercado vacinas eficazes para prevenção da clamidiose, embora sejam produzidas e utilizadas experimentalmente em perus na Europa. A grande maioria das vacinas desenvolvidas tem sido preparadas com bacterinas produzidas a partir de suspensões concentradas de *Chlamydiaceae* inativadas por formalina. As proteínas da membrana externa (MOMP) da *Chlamydiaceae*, envolvidas no mecanismo de adesão à célula hospedeira têm sido pesquisadas para produção de vacinas com o DNA da MOMP e com fragmentos do gene da MOMP clonados em sistemas de expressão. Embora as vacinas desenvolvidas tenham revelado capacidade de reduzir, de alguma forma, a incidência da doença clínica nas diversas espécies testadas, até o momento nenhuma delas foi efetivamente capaz de induzir uma resposta imune duradoura.

## Importância econômica



Desde 1950 nos Estados Unidos da América, epidemias têm causado grandes prejuízos econômicos aos produtores de aves comerciais devido à condenação de carcaças ao abate, queda na produção de ovos e gastos com antibióti- coterapia. Epidemias nos Estados Unidos da América envolvendo perus resultaram em taxas de condenação de carcaças de 5,8%, com prejuízos estimados em U\$120,000.00, além dos gastos associados aos funcionários infectados. No Brasil não existem informações sobre seu impacto econômico na avicultura comercial, todavia, surtos em psitaciformes resultaram em despesas decorrentes do tratamento, diagnóstico e contaminação humana.

## Importância em Saúde Pública

De ocorrência esporádica, a psitacose representa uma das principais zoonoses decorrente do contato com aves. Embora constitua alto risco de infecção para a população envolvida no comércio, criação e abate de aves, informações precisas sobre sua incidência são desconhecidas na maioria dos países devido as dificuldades no diagnóstico e por falta de comunicação aos órgãos competentes. Estudos soroepidemiológicos indicam que a prevalência é maior do que se relata; apenas nos Estados Unidos da América, cerca de 100 a 200 casos da doença são relatados por ano.

Humanos se infectam pela inalação de aerossóis presentes no ambiente, em penas, secreções ou tecidos de aves infectadas e materiais contaminados. A *C. psittaci* ao ser inalada pelo homem, infecta as células epiteliais do trato respiratório causando uma bacteremia primária que afeta as células do sistema reticuloendotelial do fígado e baço; e após uma segunda bacteremia, ocorre infecção pulmonar. O período de incubação da psitacose varia de 5 a 15 dias. Os sintomas clínicos, caracterizados por hipertermia, fadiga, cefaléia, calafrios, mialgia, anorexia, fotofobia, náuseas, vômitos, dores torácicas e sudorese abundante, muitas vezes são semelhantes aos de uma gripe ou outra enfermidade respiratória. Algumas vezes, no entanto, são inaparentes e por isso a doença não é adequadamente diagnosticada. Nos casos mais graves, ocorre pneumonia atípica severa, com tosse seca, respiração difícil e dolorosa e raramente, manifestações crônicas que incluem neurite com dor intensa, insuficiência cardiovascular, tromboflebite, meningite, encefalite e até mesmo óbito.

Dentre as cepas aviárias, as de psitacídeos e perus parecem ser mais virulentas aos seres humanos que as oriundas de outras espécies, as quais raramente causam doença clínica. Surtos de psitacose envolvendo psitacídeos, em criatórios, lojas ou residências são freqüentemente relatados. Na avicultura comercial, surtos de psitacose são relatados afetando funcionários de granjas e abatedouros de patos e perus, sendo algumas vezes relacionados com perdizes, codornas e pombos. Um surto em uma Escola de Medicina Veterinária nos Estados Unidos da América foi relatado após contato com aves, reafirmando a necessidade dos humanos se prevenirem da contaminação ao manipularem aves vivas, carcaças ou dejetos. À necropsia, o uso de avental, luvas, máscara e óculos, além de umedecer a carcaça da ave com água e detergente são medidas básicas para evitar a inalação de partículas infecciosas. Em alguns casos, recomenda-se inclusive realizar a necropsia em cabines de segurança biológica.

Nos casos graves, o diagnóstico laboratorial é extremamente importante, pois a ausência de um tratamento específico pode resultar em óbito do indivíduo. Em pacientes tratados adequadamente

raramente a doença é fatal, contudo a ausência de sinais patognomônicos associada à demora no diagnóstico aumentam o risco de mortalidade. Em geral, as reinfecções são comuns. O diagnóstico diferencial em humanos deve incluir principalmente *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Legionella* sp. e vírus da influenza.

## Bibliografia

- Andersen AA. Comparison of pharyngeal, fecal, and cloacal samples for the isolation of *Chlamydia psittaci* from experimentally infected cockatiels and turkeys. 1996; 8:448-450.
- Andersen AA, Grimes JE, Shivaprasad HL. Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates from ratites. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation* 1998; 10:186-188.
- Andersen AA, Vanrompay D. Avian Chlamydiosis (Psittacosis, Ornithosis). In: Saif YM *et al.* Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University; 2003. p.863-879.
- Anderson DC, Stoesz PA, Kaufmann AF. Psittacosis outbreak in employees of a turkey-processing plant. *American Journal Epidemiology* 1978; 107:140-148.
- Arzey GG, Arzey KE. Chlamydiosis in layer chickens. *Australian Veterinary Journal* 1990; 67(12):461.
- Bennedsen M, Filskov A. An outbreak of psittacosis among employees at a poultry abattoir. In: Proceedings of IV European Society for Chlamydia Research; 2000; Helsinki. p.338.
- Bourke SJ, Carrington D, Frew CE. *et al.* A comparison of the seroepidemiology of chlamydial infection in pigeon fanciers and farmers in the U.K. *Journal of Infection* 1992; 25:919-928.
- Camus AC. *et al.* Chlamydiosis in commercial rheas (*Rhea americana*). **Avian Diseases** 1994; 38:666-671.
- Erbeck DH, Nunn SA. Chlamydiosis in pen-raised bobwhite quail (*Colinus virginianus*) and chukar partridge (*Alectoris chukar*) with high mortality. **Avian Diseases** 1999; 43:798-803.
- Everett KDE. Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye. *Veterinary Microbiology* 2000; 75:109-126.
- Everett KDE, Bush RM, Andersen AA. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *International Journal Systematic Bacteriology* 1999; 49:415-440.
- Filstein MR, Ley AB, Vernon MS. *et al.* Epidemic of psittacosis in a college of veterinary medicine. *Journal American Veterinary Medical Association* 1981; 179:569-572.
- Flammer K. Chlamydia. In: Altman RB. *et al.* Avian medicine and surgery. Philadelphia:

- W.B.Saunders; 1997. p.364-379. Franson JC, Pearson JE. Probable epizootic chlamydiosis in wild California (Larus californicus) and Ring-billed (Larus delawarensis) Gulls in North Dakota. *Journal of Wildlife Diseases* 1995; 31:424-427.
- Fudge AM. A review of methods to detect Chlamydia psittaci in avian patients. *Journal Avian Medicine Surgery* 1997; 11:153-165.
- Gerlach H. Chlamydia. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR. editors. *Avian medicine: principles and application*. Florida: Wingers, 1994. p.984-996.
- Grimes JE. Detection of Chlamydial Infections. In: Roskopf WJ Jr, Woerpel RW editors. *Diseases of caged and aviary birds*, 3rd ed. Malvern: Williams and Wilkins; 1996. p.827-835.
- Grimes JE, Arizmendi F. Usefulness and limitations of three serologic methods for diagnosing or excluding chlamydiosis in birds. *Journal American Veterinary Medical Association* 1996; 209:747-750.
- Hedberg K, White KE, Forfang JC. *et al.* An outbreak of psittacosis in Minnesota turkey industry workers: implications for modes of transmission and control. *American Journal Epidemiology* 1989; 130:569-577.
- Hinton DG, Shipley A, Galvin JW. *et al.* Chlamydiosis in workers at a duck farm and processing plant. *Australian Veterinary Journal* 1993; 70:174-176.
- Holzinger-Umlauf HA, Marschang RE, Gravendyck M, Kaleta EF. Investigation on the frequency of Chlamydia sp. infections in tits (Paridae). *Avian Pathology* 1997; 26:779-789.
- Jensen AE, Andersen AA, Tappe JP Jr, Thoen CO. Characterization of circulating antibodies against Chlamydia psittaci in turkeys. *Avian Diseases* 1990; 34:878-887.
- Kaleta EF, Taday EM. Avian host range of Chlamydia spp. based on isolation, antigen detection and serology. *Avian Pathology* 2003; 32:435-461.
- Lardner AJ. *et al.* Human psittacosis linked to a bird distributor in Mississippi - Massachusetts and Tennessee, 1992. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1992; 41:794-797.
- Lublin A, Mechani S, Levisohn S, Malkinson M, Weisman Y. Leg problems in turkeys associated with Chlamydia psittaci. *Veterinary Record* 1995; 137:328.
- Lublin A, Shudari G, Mechani S. *et al.* Egg transmission of Chlamydia psittaci in turkeys. *Veterinary Record* 1996; 139:300.
- Mlkinson M, Machany S, Aronovici A, Davidov K, Weisman. Mixed infection with Chlamydia psittaci, fowlpox virus and Haemophilus gallinarum in broiler breeder chicks. *Veterinary Record* 1987; 120(19):461-462.
- Messmer TO, Skelton SK, Moroney JK. *et al.* Application of a nested, multiplex PCR to

psittacosis outbreaks. *Journal Clinical Microbiology* 1997; 35:2043-2046.

Meteyer UC, Chin RP, Castro AE. *et al.* An epizootic of chlamydiosis with high mortality in a captive population of euphonias (*Euphonia violaceas*) and hummingbirds (*Amazilia amazilias*). *Journal of Zoo Wildlife Medicine* 1992; 23:222-229.

Moroney JF, Guevara R, Iverson C. *et al.* Detection of chlamydiosis in a shipment of pet birds, leading to recognition of an outbreak of clinically mild psittacosis in humans. *Clinical Infectious Diseases* 1998, 26:1425-1429.

Newman CPStJ, Palmer SR, Kirby FD, Caul EO. A prolonged outbreak of ornithosis in duck processors. *Epidemiology Infectious* 1992; 108:203-210.

Page LA. Experimental ornithosis in turkeys. **Avian Diseases** 1959; 3:51-66.

Raso TF. Detecção de infecção por *Chlamydia psittaci* em papagaios do gênero *Amazona* mantidos em cativeiro [dissertação]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1999.

Raso TF. *Chlamydophila psittaci* em psitacídeos de vida livre e cativeiro e suas implicações à saúde pública [tese]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 2004.

Raso TF, Berchieri Jr A, Pinto AA. Evidence of *Chlamydophila psittaci* infection in captive Amazon parrots in Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 2002; 33(2):118-121.

Raso TF, Pinto AA. *et al.* An outbreak of chlamydiosis in captive blue-fronted amazon parrots (*Amazona aestiva*) in Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 2004; 35(1):94-96.

Raso TF, Seixas GHF, Guedes NMR, Pinto AA. *Chlamydophila psittaci* in free-living Blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) and Hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Veterinary Microbiology* 2006; 117:235-241.

Raso TF. Clamidiose. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL editors. *Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária*. São Paulo: Rocca; 2006. p.760-767.

Salinas J, Caro MR, Cuello F. Comparison of different serological methods for the determination of antibodies to *Chlamydia psittaci* en pigeon sera. *Journal Veterinary Medicine B* 1993; 40:239-244.

Schnorr KL.. Chlamydial vaccines. *Journal American Veterinary Medical Association* 1989; 195:1548-1561.

Takahashi T, Takashima I, Hashimoto N. Shedding and transmission of *Chlamydia psittaci* in experimentally infected chickens. **Avian Diseases** 1988; 32:650-658.

Vanrompay D. Avian Chlamydial Diagnostics. In: Fudge AM editor. *Laboratory medicine avian and exotic pets*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000. p.99-110.

Vanrompay D, Butaye P, Van Neron A, Ducatelle R, Haesebrouck F. The prevalence of *Chlamydia*

psittaci infections in Belgian commercial turkey poults. *Veterinary Microbiology* 1997; 54:85-93.

Vanrompay D, Cox E, Volckaert G. *et al.* Protection of turkeys against *Chlamydophila psittaci* challenge by parenteral and mucosal DNA immunisation. In: *Proceedings of IV European Society for Chlamydia Research*; 2000; Helsinki. p.392.

Vanrompay D, Ducatelle R, Haesebrouck F. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. *Veterinary Microbiology* 1995; 45:93-119.

Verminnen K, Van Loock M, Cox E, Goddeeris BM, Vanrompay D. Protection of turkeys against *Chlamydophila psittaci* challenge by DNA and rMOMP vaccination and evaluation of the immunomodulating effect of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Vaccine* 2005; 23:4509-4516.

Wittenbrink MM, Mrozek M, Bisping W. Isolation of *Chlamydia psittaci* from a chicken egg: evidence of egg transmission. *Journal Veterinary Medicine B* 1993; 40:451-452.

<b>5.1 - Enfermidade de Marek, Complexo Leucótico Aviário e Reticuloendoteliose</b> <i>Cláudio Wageck Canal, Taylor Marcelo Corrêa Barbosa</i>	<b>569</b>
<b>5.2 - Doença de Newcastle</b> <i>Antonio Carlos Paulillo, Luciano Doretto Júnior</i>	<b>587</b>
<b>5.3 - Influenza aviária</b> <i>Hamilton Luis de S. Moraes, Carlos Tadeu Pippi Salle, Luiz Felipe Caron</i>	<b>631</b>
<b>5.4 - Bronquite infecciosa das galinhas</b> <i>José Di Fábio, Laura Yaneth Villarreal Buitrago</i>	<b>629</b>
<b>5.5 - Doença infecciosa da bolsa de Fabrício</b> <i>Alberto Bernardino, Eduardo Leffer</i>	<b>651</b>
<b>5.6 - Adenovirose, reovirose, rotavirose e virose intestinais</b> <i>Nelson Rodrigo da Silva Martins, José Sérgio de Resende</i>	<b>677</b>
<b>5.7 - Síndrome da queda de postura - EDS-76</b> <i>Inaldo Sales Patrício, Edir Nepomuceno da Silva</i>	<b>713</b>
<b>5.8 - Bouda aviária</b> <i>Alberto Bernardino</i>	<b>723</b>
<b>5.9 - Anemia infecciosa das galinhas</b> <i>Liana Brentano</i>	<b>735</b>
<b>5.10 - Encefalomielite aviária</b> <i>Paulo César Martins, Paulo Lourenço da Silva</i>	<b>763</b>
<b>5.11 - Metapneumovírus aviário</b> <i>Clarice Weis Arns, Marcelo Zuanaze</i>	<b>777</b>
<b>5.12 - Laringotraqueíte infecciosa das galinhas</b> <i>Nilce Maria Soares Queiroz Gama, Cláudio Wageck Canal</i>	<b>787</b>

# Enfermidade de Marek, Complexo Leucótico Aviário e Reticuloendoteliose

<b>Enfermidade de Marek</b>	<b>569</b>
<i>Introdução</i>	569
<i>Histórico</i>	569
<i>Distribuição e ocorrência</i>	570
<i>Etiologia</i>	570
<i>Patogenia e epizootia</i>	571
<i>Sinais clínicos</i>	571
<i>Morbidade e mortalidade</i>	572
<i>Alterações anatomopatológicas</i>	572
<i>Imunidade</i>	573
<i>Diagnóstico</i>	574
<i>Prevenção, controle e tratamento</i>	575
<i>Vacinação</i>	575
<i>Resistência genética</i>	575

<i>Biossegurança</i>	576
<b>Complexo leucótico aviário</b>	<b>576</b>
<i>Introdução</i>	576
<i>Histórico</i>	576
<i>Etiologia</i>	576
<i>Distribuição e ocorrência</i>	577
<i>Patogenia e epizootia</i>	577
<i>Patologia</i>	578
<i>Sinais clínicos</i>	578
<i>Alterações anatomopatológicas</i>	578
<i>Imunidade</i>	578
<i>Resistência genética</i>	578
<i>Diagnóstico</i>	579
<i>Prevenção, controle e tratamento</i>	579
<b>Reticuloendoteliose</b>	<b>580</b>
<i>Introdução</i>	580
<i>Histórico</i>	580
<i>Distribuição e ocorrência</i>	580



<i>Etiologia</i>	580
<i>Patogenia e epizootia</i>	581
<i>Neoplasia aguda das células reticulares</i>	581
<i>Neoplasia crônica</i>	581
<i>Síndrome da doença do refugio</i>	581
<i>Diagnóstico</i>	582
<i>Prevenção e controle</i>	582
<b>Diagnóstico diferencial da enfermidade de Marek, complexo leucótico aviário e reticuloendoteliose</b>	<b>583</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>583</b>

# Enfermidade de Marek, Complexo Leucótico Aviário e Reticuloendoteliose

Cláudio Wageck Canal, Taylor Marcelo Corrêa Barbosa

A formação de tumores ou neoplasias é uma característica comum a diversas doenças que acometem as aves. Este capítulo descreve algumas destas enfermidades, causadas por agentes infecciosos e com grande importância econômica para a indústria avícola. Algumas dessas doenças têm sido muito estudadas, não somente pelo impacto econômico que causam na Avicultura mundial mas também como modelo para a pesquisa médica de neoplasias.

Doenças tumorais são relativamente comuns na maioria das aves, algumas de formação congênita e outras de origem infecciosa. Duas famílias de vírus são responsáveis pela maioria destas transformações celulares: Herpesviridae e Retroviridae. As três principais doenças neoplásicas das aves: Enfermidade de Marek (EM), Leucose Aviária (LA) e Reticuloendoteliose (RE) são descritas neste capítulo. Apesar de conhecidas há muito tempo, todas ainda representam um sério perigo para a indústria avícola mundial. O surgimento de variantes virulentas, no caso da EM, e de diferentes sorotipos de Leucose Aviária, demonstram a necessidade de constante controle e investigação destas doenças. Algumas formas destas três doenças são muito similares e, portanto, o diagnóstico diferencial será abordado em conjunto ao final do capítulo.

## Enfermidade de Marek

### Introdução

A enfermidade de Marek (EM) é uma doença linfoproliferativa, causada por um *Herpesvírus* e caracterizada pela infiltração de células em um ou mais dos nervos periféricos, gônada, íris, vísceras, músculo e pele. Antes da utilização de vacinas, a EM constituía uma séria ameaça à Indústria Avícola; contudo, devido às vacinas disponíveis nem sempre serem totalmente efetivas em todos locais e momentos, algumas perdas ainda ocorrem.

### Histórico

A comunicação de paresia em frangos, devido a uma infiltração mononuclear em nervos periféricos, por József Marek, em 1907, foi o primeiro relato da doença. Surtos da doença foram reconhecidos nos EUA a partir de 1914, e subseqüentemente, na Nova Zelândia, Grã-Bretanha, Holanda e vários outros países. Surtos de EM aguda com alta mortalidade e preponderância de linfomas viscerais têm sido observados desde os anos 40, e tornaram-se comuns nos anos 60 e 70.

Trabalhos sobre a importância da constituição genética das aves na suscetibilidade a essa doença iniciaram nos anos 30 e foram os primeiros esforços para controlar perdas através da seleção de reprodutores mais resistentes.

Nos anos 60, pela primeira vez, a doença foi transmitida experimentalmente com sucesso e, em 1967, um *Herpesvírus* foi caracterizado como o agente etiológico, após sua propagação em cultivos celulares. A atenuação do vírus e sua utilização como vacina representaram um dos maiores avanços contra a EM e constituiu-se na primeira vacina efetiva contra o câncer em todas as espécies.

## Distribuição e ocorrência

A EM existe em todos os países produtores de aves do mundo e, provavelmente, todos os lotes de aves sofrem algum prejuízo devido à ela. As perdas são especialmente altas em áreas de produção mais intensiva, o que pode representar a existência de formas mais virulentas da doença que ocorrem como surtos nessas áreas. Isolados excepcionalmente virulentos têm sido implicados como causadores de falhas vacinais nesses locais.

## Etiologia

O vírus da enfermidade de Marek (VEM) pertence à família Herpesviridae e, devido à sua estrutura molecular e organização genômica, está alocado na sub-família Alphaherpesviridae, embora seu tropismo por linfócitos seja similar ao dos Gammaherpesviridae. O VEM é designado como sorotipo 1 e é o protótipo deste grupo. Testes sorológicos identificaram outros dois sorotipos não oncogênicos que foram isolados de galinhas e perus, sendo denominados sorotipo 2 do VEM e de sorotipo 3 do VEM, também conhecido como HVT (do inglês, herpesvírus dos perus), respectivamente. Quando é citado o VEM, refere-se aos vírus do sorotipo 1, exceto quando outro é indicado.

As partículas virais são típicas dos *Herpesvírus*, com os virions, normalmente, achados no núcleo e, mais raramente, no citoplasma e espaços extra-celulares. Os nucleocapsídeos medem 85-100 nm e as partículas envelopadas medem 150-160 nm de diâmetro. Partículas virais preparadas de epitélio do folículo da pena medem 273-400 nm e possuem uma aparência pleomórfica.

O genoma é constituído de uma fita dupla de DNA linear, com um tamanho aproximado de 160 - 180 mil pares de bases. Os 3 sorotipos possuem estruturas genômicas semelhantes a todos os alfa*Herpesvírus*, que consistem de uma longa região única e de uma curta região única, cada uma circundada por repetições invertidas. Esses genomas codificam cerca de 90 genes conhecidos, entretanto o número de genes identificados têm aumentando muito com novos testes de biologia molecular nos últimos 15 anos. As proteínas costumam ser agrupadas conforme sua localização no genoma viral e atividade biológica.

Uma região que contém um número variável de repetições de 132 pares de bases foi identificada. Cepas atenuadas possuem um maior número dessas repetições do que cepas virulentas. Isto possibilita a distinção de diferentes cepas através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

A replicação dos três sorotipos do VEM é semelhante a de outros *Herpesvírus* associados às células. O início da infecção se dá pela ligação do vírus à células susceptíveis por meio de receptores ainda não totalmente conhecidos. A transferência da infecção de célula a célula é aumentada pela formação de pontes intracelulares e esse é, provavelmente, o principal modo de disseminação do vírus *in vitro* e *in vivo*. A taxa de replicação varia com a cepa e o número de

passagens do vírus, da temperatura e do tipo de células.

Três tipos gerais de interações do vírus com as células são conhecidos: produtiva, latente e transformante, os quais ocorrem distintamente durante o curso da infecção.

Na infecção produtiva, ocorre a replicação do DNA, síntese de antígenos e, em alguns casos, partículas virais são produzidas. A infecção produtiva das células do folículo da pena de galinhas resulta na produção de um grande número de virions envelopados infecciosos, conhecidos como vírus livres. Já em outros tipos de células, a maioria dos virions produzidos não são envelopados e, conseqüentemente, não são infecciosos. Este tipo de infecção sempre leva a formação de inclusões virais no núcleo da célula e normalmente acarreta a morte celular.

As infecções latentes não são produtivas e podem ser detectadas somente pela hibridização do DNA viral com sondas ou métodos que reativem o genoma viral, como o cultivo in vitro. Embora alguns genes possam ser transcritos, a produção protéica não ocorre e normalmente nenhum antígeno associado ao vírus ou tumor pode ser detectado. A inoculação em pintos susceptíveis ou o cultivo in vitro dessas células resulta na reativação do vírus com a produção de partículas e antígenos virais.

A infecção transformante ocorre somente em células infectadas pelo VEM do sorotipo 1. O fenótipo das células transformadas é caracterizado por uma maior expressão do genoma viral em relação à infecção latente, que resulta na formação de tumores. O principal, se não o único, antígeno viral produzido pelas células transformadas é o pp38. Essas células também expressam um antígeno associado à superfície de tumores (MATSA), codificado pelas próprias células e importante para o diagnóstico diferencial da EM.

O genoma do VEM pode ser encontrado integrado aos cromossomas do hospedeiro em múltiplos sítios durante os três tipos de infecção.

## Patogenia e epizootia

A galinha é o mais importante hospedeiro natural da EM, embora a doença tenha sido raramente descrita em codornas, faisões e perus. A principal forma de transmissão natural da EM ocorre pelo contato direto ou indireto entre as galinhas, através de aerossóis. As células epiteliais na camada de queratina dos folículos da pena são permissivas à replicação e produção de partículas infecciosas. O VEM associado às penas e fezes é a principal fonte de infecção, e permanece contaminando galpões por muitos meses.

Muitas aves sem sintomatologia podem ser portadoras e transmitir o vírus continuamente, que pode permanecer indefinidamente nos galpões em resíduos de lotes anteriores. Alguns insetos, como o cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) podem transportar o VEM passivamente. Contudo, mosquitos, ácaros de vida livre e oocistos de *Eimeria* não puderam ser associados à transmissão.

Provavelmente não existe transmissão vertical para a progênie e a transmissão pela contaminação externa do ovo também é pouco provável devido à baixa resistência do vírus nas condições de umidade e temperatura utilizadas na incubação. A transmissão experimental pode ser realizada pela inoculação parenteral em pintos susceptíveis de 1 dia, com suspensões de tumores, sangue,

vírus livres de células, ou através do contato com aves infectadas. A instilação intra-traqueal ou inalação de vírus livres de células são também efetivas.

O período de incubação da EM, experimentalmente induzida, é bem estabelecido. Pintos inoculados com 1 dia de idade começam a excretar o vírus 2 semanas após, com a excreção máxima ocorrendo entre a terceira e quinta semana de vida. Infecções citolíticas ocorrem dos 3 a 6 dias após a inoculação e são seguidas de lesões degenerativas nos órgão linfóides (bursa e timo), o que normalmente pode causar imunodepressão. Infiltrações de células mononucleares podem ser encontradas nos nervos e outros órgãos depois de 2 semanas. Paralisia transitória dos membros pode ser vista após 8 a 18 dias pós-infecção, apesar de que, a nível de campo, paralisias são vistas mais tarde (4 a 10 semanas de idade), provavelmente como consequência de infecção tardia.

Embora esses números representem o menor período de incubação, existe uma grande variação influenciada pela cepa do vírus, dose, quantidade de anticorpos maternos e rota de inoculação; assim como pela linhagem, sexo e doenças imunodepressoras intercorrentes.

É difícil determinar o período de incubação da EM sob condições de campo. Embora surtos possam ocorrer em aves jovens, com 3 a 4 semanas de idade, a maioria dos casos iniciam depois de 8 a 9 semanas. Em lotes de matrizes e poedeiras, os sinais clínicos normalmente aparecem entre 16 a 20 semanas, mas podem ser vistos também após o início da produção e até mesmo em lotes após a “muda forçada”. Nestes casos é muito difícil estabelecer a idade em que ocorreu a infecção e, portanto, quase impossível determinar o período de incubação. Entretanto, sabe-se que o mesmo pode ser de dias, meses ou até mesmo anos.

## Sinais clínicos

Devido a um ou mais nervos de diferentes regiões estarem afetados, os sinais nervosos variam de ave para ave. Normalmente, estão associados com paresia assimétrica progressiva e mais tarde, paralisia completa de uma ou mais extremidades. Se os nervos das asas estiverem comprometidos, elas ficam caídas; e se for o caso dos nervos do pescoço, a ave pode ficar com a cabeça baixa e com torcicolo. O comprometimento do nervo vago pode levar à disfunção do papo, que pode aumentar muito de volume. A incoordenação e posturas incomuns ocorrem geralmente devido aos distúrbios locomotores serem mais facilmente reconhecidos.

A síndrome da paralisia transitória foi descrita e reproduzida, embora não ocorra com frequência desde que a vacinação tem sido empregada, e afeta aves entre 6 e 10 semanas. As aves afetadas mostram graus variáveis de ataxia e paralisia parcial ou total que iniciam 8 a 12 dias após a inoculação do vírus e duram de 1 a 2 dias. Algumas aves recuperam-se, podendo morrer após algumas semanas em decorrência de linfomas induzidos pelo vírus.

Em surtos agudos da EM, a síndrome é mais rápida. Inicialmente, as aves apresentam severa depressão. Alguns dias após, várias aves desenvolvem ataxia e posteriormente, paralisia uni ou bilateral das extremidades. Alguns animais morrem sem desenvolver doença clínica e outros podem se tornar caquéticos, desidratados ou comatosos.

Infecção da inervação ocular pode causar cegueira com o envolvimento da íris e perda da

possibilidade de se adequar a intensidade de luz. A pupila pode se tornar irregular e, em estágios adiantados, torna-se somente um pequeno ponto. Opacidade ou despigmentação pontual ou difusa da íris, também são vistos. Animais que não sucumbem de lesões agudas ou linfomatosas podem mostrar sinais como perda de peso, anorexia e diarreia. Normalmente, a morte resulta da desidratação e fome, devido à impossibilidade de locomoção até os comedouros e bebedouros.

## Morbidade e mortalidade

Antes da utilização das vacinas, a mortalidade nos lotes afetados variava de poucas aves até 30% e ocasionalmente 60%. Atualmente, quase todos os lotes de galinhas poedeiras são vacinados e isso reduziu as perdas para menos de 5% na maioria das regiões. Frangos de corte são vacinados na maioria dos países, podendo ocorrer perdas de 0,1 a 0,5% e condenações de 0,2% ou mais. A incidência da doença é muito variável e, em geral, a mortalidade é quase igual à morbidade. Depois que a EM inicia, a mortalidade aumenta gradualmente, persistindo por 4 a 10 semanas. Os surtos podem ocorrer em lotes isolados, em vários lotes de uma região ou em lotes sucessivos em uma mesma granja.

Vários fatores relacionados ao vírus, hospedeiro e meio ambiente influenciam as perdas nos lotes afetados. Cepas do vírus associadas com surtos agudos de EM são mais virulentas e, normalmente, causam mais linfomas viscerais do que as cepas associadas com a forma clássica.

Fatores relacionados ao hospedeiro incluem o sexo, anticorpos maternos, constituição genética e idade. Os anticorpos maternos reduzem a mortalidade, sinais clínicos, paralisia transitória e síndrome da mortalidade precoce, provavelmente por limitarem a disseminação do vírus aos tecidos durante os primeiros dias após a exposição. Parece provável que a resposta imune do hospedeiro à infecção seja o fator mais importante e possivelmente, a base comum do que é chamado de “resistência associada à idade” e “resistência genética”.

Variações na incidência da EM não explicadas por outros mecanismos podem ocorrer devido ao fato de alguns lotes serem naturalmente infectados pelo sorotipo 2 do VEM e, dessa forma, serem naturalmente vacinados contra as cepas oncogênicas.

Fatores ambientais e infecções intercorrentes também afetam a incidência e a severidade da EM, como altas concentrações de aves, micotoxinas e infecções com outros vírus imunodepressivos, como o vírus da doença infecciosa da bursa e o vírus da anemia das galinhas.

## Alterações anatomopatológicas

Lesões nos nervos periféricos são achados frequentes nas aves afetadas. Alterações macroscópicas não são vistas no cérebro, mas podem ocorrer nos nervos periféricos, raízes e gânglios da medula espinhal. Um estudo em 502 aves afetadas mostrou que 99% dos casos podiam ser diagnosticados somente pelo exame dos plexos celíaco, mesentérico cranial, braquial e ciático; nervo de Remak e nervo maior esplâncnico. Destes, o plexo celíaco estava alterado em 78% das aves e os plexos dos nervos ciático e braquial estavam maiores do que os respectivos troncos.

Os nervos periféricos afetados apresentam perda das estrias, coloração acinzentada ou amarelada

e algumas vezes, aparência edematosa. Devido às lesões ocorrerem normalmente de forma unilateral, é importante a comparação com os nervos opostos no caso de alterações discretas, bem como a exposição das ramificações nervosas em algumas aves, porque o aumento de diâmetro varia em grau de uma porção do nervo afetado à outra.

Tumores linfóides podem ocorrer em qualquer local, mas principalmente no fígado, baço, rins, coração, mesentério, gônadas, pulmões, bolsa, timo, glândula adrenal, proventrículo, pâncreas, intestino, pele, músculos esqueléticos e íris. A cepa do vírus e a linhagem do hospedeiro influenciam na localização das lesões. Tumores viscerais são mais comuns nas formas agudas da doença e podem ser encontrados na ausência de lesões nervosas macroscópicas. As lesões macroscópicas na íris vão desde a despigmentação até irregularidades na pupila. Ambas são o resultado da infiltração de células mononucleares na íris.

As lesões não neoplásicas da EM são a atrofia da bolsa e do timo, assim como lesões degenerativas da medula óssea e de várias vísceras, que são conseqüência de infecções intensamente citolíticas que podem resultar na morte das aves antes que os linfomas se desenvolvam. Aves de linhagens suscetíveis, inoculadas com algumas cepas do VEM, podem desenvolver arteriosclerose oclusiva, apresentando lesões que lembram as da arteriosclerose crônica humana.

Existem dois tipos principais de alterações histopatológicas nos nervos periféricos. Um é de caráter essencialmente inflamatório, sendo caracterizado por uma infiltração de linfócitos pequenos e plasmócitos, usualmente acompanhado de edema e, algumas vezes, de desmielinização e proliferação das células de Schwann. O outro tipo é essencialmente neoplásico, consistindo de massas de linfoblastos proliferando e, em alguns casos, de desmielinização e proliferação das células de Schwann. Esses dois tipos de lesão podem ocorrer em nervos distintos da mesma ave ou em diferentes áreas do mesmo nervo.

As lesões na pele são predominantemente inflamatórias, mas também podem ser linfomatosas. Essas estão localizadas ao redor dos folículos das penas e consistem basicamente de agregados de células em proliferação e de um acúmulo de células mononucleares com alguns histiócitos e plasmócitos na derme. As lesões proliferativas, quando intensas, causam a ruptura da epiderme, resultando na formação de úlceras.

As lesões neoplásicas nas vísceras são mais proliferativas, consistindo na presença de pequenos e médios linfócitos, linfoblastos e células reticulares primitivas. A composição celular dos tumores é similar em todos os órgãos, embora o padrão de envolvimento possa variar.

A replicação do VEM na bolsa e no timo resulta em lesões degenerativas nesses órgãos. As lesões da bolsa consistem em atrofia das camadas cortical e medular dos folículos linfáticos, assim como necrose folicular, formação de cistos e infiltração linfóide

interfolicular. A atrofia do timo pode ser bastante severa e envolver tanto o córtex quanto a medula do órgão. Pintos infectados na ausência de anticorpos maternos podem apresentar medula óssea aplástica e anemia com necrose focal ou generalizada em vários órgãos. A medula óssea também pode desenvolver tumores nodulares múltiplos ou apresentar-se histologicamente normal. A infecção produtiva das células hematopoiéticas é a provável causa da anemia que algumas aves

apresentam, embora a possibilidade da infecção simultânea com o vírus da anemia das galinhas (CAV) não possa ser descartada.

## Imunidade

Após a infecção pelo VEM, uma resposta imune humoral e mediada por células desenvolve-se nas aves imunocompetentes. Estas envolvem vários tipos de respostas que podem ser direcionadas contra um grande número de antígenos do vírus e do tumor do próprio hospedeiro. Vacinas de vírus inativados reduzem as infecções citolíticas precoces, infecções latentes e formação de tumores, enquanto que vacinas de células tumorais mortas somente protegem contra a formação de tumores.

A resposta de anticorpos não é necessária para a resistência à EM, contudo, desempenha um papel importante em pintos, nos quais os anticorpos reduzem o nível de infecção, provavelmente por impedirem a sua disseminação. Anticorpos neutralizantes e precipitantes podem ser detectados uma a duas semanas após o contato com o vírus, persistindo pelo resto da vida da ave. O título dos anticorpos neutralizantes está diretamente correlacionado com a sobrevivência das aves infectadas.

Devido aos anticorpos não serem necessários para a resistência imune, deduz-se que a imunidade mediada por células é importante, o que é reforçado pela observação de que células T e a imunidade vacinal são necessárias para a proteção. Também a resistência inata provida por células assassinas naturais (NK), macrófagos e citocinas são importantes no controle da infecção pelo VEM.

A imunidade gerada pelas vacinas com vírus vivos, seja o HVT, VEM do sorotipo 2 ou do sorotipo 1 atenuado, é direcionada contra antígenos do vírus e dos tumores. Ela protege contra a replicação inicial dos vírus virulentos e reduz o nível da infecção latente.

O VEM causa imunodepressão, o que pode resultar da infecção citolítica dos linfócitos, ou indiretamente, pelo aumento da atividade de populações de células supressoras. Ambas as respostas, humoral e celular, podem estar diminuídas mas não totalmente abolidas na EM.

## Diagnóstico

Na elaboração do diagnóstico, todos os pontos anteriormente abordados devem ser levados em conta, como sinais clínicos, lesões micro e macroscópicas, mortalidade e morbidade, idade das aves e outros. Nesta seção, abordaremos principalmente o diagnóstico laboratorial, sendo que o diagnóstico diferencial das outras enfermidades tumorais será abordado conjuntamente no final do capítulo.

O aumento de diâmetro dos nervos periféricos e os linfomas viscerais são comuns na EM, entretanto nenhuma dessas lesões ocorre sempre ou é patognomônica dessa enfermidade. Assim, outros critérios, como a idade das aves e a localização das lesões, devem ser levados em conta. Historicamente, as aves são consideradas suspeitas para a EM quando pelo menos um dos seguintes achados ocorre:



- Aumento de volume dos nervos periféricos;
- Tumores linfóides em vários tecidos de aves com menos de 16 semanas, como o fígado, pele, coração, gônadas, proventrículo e músculos;
- Tumores linfóides em aves com mais de 16 semanas sem envolvimento da bolsa cloacal;
- Descoloração da íris e irregularidade da pupila.

Embora esse critério não seja sempre correto, o erro de diagnóstico em lotes deve ser pouco comum quando várias aves são examinadas com cuidado. Dessa maneira, o diagnóstico baseado somente no critério das lesões não pode ser considerado definitivo e deve incluir testes laboratoriais.

O exame histológico de seções de tecidos corados com hematoxilina e eosina revela uma população mista de linfócitos pequenos e grandes, linfoblastos e plasmócitos nos tumores e em lesões nervosas da EM. Também o exame histológico de impressões das lesões obtidas de aves recém- mortas pode revelar maiores detalhes das células envolvidas. No entanto, a histopatologia dificilmente pode diferenciar as lesões da EM das geradas na leucose linfóide e reticuloendoteliase.

A utilização da PCR e da imunohistoquímica para a detecção do DNA e antígenos do vírus na lesão melhorou muito a possibilidade de correlacionar a lesão com o agente. Protocolos de PCR podem detectar especificamente o DNA do sorotipo 1 do VEM nos tumores. A detecção de antígenos do VEM pode ser feita por imunohistoquímica utilizando anticorpos específicos. A exclusão da presença de DNA e de antígenos do vírus da reticuloendoteliase e do vírus da leucose aviária nessas mesmas lesões, através de PCR e imunohistoquímica, ajudam no diagnóstico definitivo da EM.

Devido ao VEM estar em todos os tipos de criação de galinhas e a vacinação ser largamente empregada, a sua detecção por si só não tem valor prático se sua presença não for correlacionada às lesões. O VEM pode ser detectado a partir de um a dois dias após a infecção ou cinco dias após a exposição por contato e daí até o fim da vida da ave. O VEM pode ser isolado e multiplicado em cultivos celulares para posterior caracterização ou produção de vacinas. Devido à forte associação do vírus com as células, células viáveis são o inóculo preferido, embora preparações livres de células da pele, fezes e folículos das penas possam conter o VEM infeccioso.

Células de rim de galinha e fibroblastos de embrião de pato são as células preferidas para o isolamento do VEM do sorotipo 1, enquanto que fibroblastos de embrião de galinha são as preferidas para o isolamento dos sorotipos 2 e 3. As placas de lise celular induzidas nessas culturas pelos diferentes sorotipos podem ser distinguidas morfológicamente com alguma prática, mas a detecção e caracterização por anticorpos monoclonais específicos para o sorotipo geram uma resposta mais confiável.

A determinação da patogenicidade do VEM do sorotipo 1 pode ser realizada pela inoculação de aves não vacinadas e vacinadas com HVT ou vacinas bivalentes. Embora, extremamente laboriosa, esta ainda é a única técnica descrita capaz de classificar os diferentes graus de virulência do sorotipo 1 do VEM. Para isso, é importante que a amostra isolada esteja livre de outros VEM, já que a contaminação pode alterar a patogenicidade aparente do isolado e,

freqüentemente, os três sorotipos podem ser isolados da mesma ave.

Procedimentos que ajudam na obtenção de isolados sorotipicamente puros são a utilização de aves sentinelas não vacinadas, a purificação e clonagem do isolado em cultivo celular e a utilização de células resistentes à infecção por determinados sorotipos.

A detecção de antígenos do vírus ajuda na detecção do agente e pode ser utilizada também para a sua sorotipagem. Ela envolve a detecção dos antígenos por anticorpos policlonais ou monoclonais específicos para o vírus ou sorotipo do vírus nos cultivos celulares utilizados no isolamento, ou diretamente nos tecidos onde houver infecção produtiva. Esses anticorpos podem ser utilizados em diversos testes, como imunofluorescência, imunoperoxidase, ágar gel imunoprecipitação e ELISA de captura.

A detecção do ácido nucléico do VEM pode ser feita por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Dependendo do protocolo utilizado, esse teste pode discriminar entre cepas de campo e vacinais ou detectar o DNA do vírus em linfomas, embora não seja suficientemente sensível para detectar infecções latentes. Outros testes utilizados para a detecção do DNA e do vírus são a hibridização de ácidos nucléicos e a microscopia eletrônica, embora sejam pouco utilizados na prática, devido à menor sensibilidade, maior utilização de mão-de-obra e custo.

A detecção de anticorpos específicos no soro tem uma aplicação mais limitada, mas pode ser utilizada no estudo da patogenia e no monitoramento de lotes livres de patógenos específicos (SPF). Essa detecção pode ser feita por ágar gel imunoprecipitação, imunofluorescência, ELISA e vírus-neutralização, embora nenhum dos testes até hoje descritos discriminem o sorotipo do VEM.

## Prevenção, controle e tratamento

Não existe nenhum tratamento para a EM, logo, medidas de controle e prevenção devem ser tomadas para diminuir os prejuízos da infecção pelo VEM. O desenvolvimento de vacinas efetivas para o controle da enfermidade representou um grande avanço, já que representava a maior causa de perdas na avicultura na década de sessenta.

A vacinação representa a estratégia central para a prevenção e controle da EM, embora a resistência genética e as práticas de biossegurança sejam importantes adjuvantes e possam assumir um papel maior devido às limitações crescentes da vacinação.

## Vacinação

A vacinação para a EM, usualmente, atinge uma proteção maior que 90% em condições comerciais, entretanto muita atenção está sendo direcionada para lotes em que as perdas pela EM são grandes. As causas dessas falhas vacinais são difíceis de detectar em estudo retrospectivos, embora a exposição precoce ao vírus e a emergência de novas cepas do VEM possam ser causas importantes.

Existem vacinas efetivas baseadas nos 3 sorotipos virais, combinações dos sorotipos e vacinas de DNA recombinante. Isolados naturalmente avirulentos do sorotipo 2 têm sido utilizados

combinados ao HVT, devido à atividade sinérgica entre os sorotipos 2 e 3. Em um estudo que avaliou a eficácia das principais cepas utilizadas como vacina, a cepa CVI988 (sorotipo 1) gerou o maior grau de proteção, no entanto esse tipo de estudo não tem sido sempre reproduzível quando realizado em condições e laboratórios diferentes. Somente existem vacinas associadas às células para os sorotipos 1 e 2, sendo que para o HVT existe, além desta forma, a de vírus livres de células. Um grande esforço está sendo despendido no desenvolvimento de vacinas por métodos de DNA recombinante. Vírus da boubá aviária ou HVT que expressam uma ou mais proteínas de vírus do sorotipo 1 do VEM têm demonstrado efeito protetor e poderão estar disponíveis a nível comercial nos próximos anos.

As vacinas são normalmente administradas após a eclosão, por via parenteral, e as doses não deveriam ser menores que 1,500 unidades formadoras de placas (ufp). Alguns autores acham que a vacinação de embriões com 18 dias acelera o desenvolvimento da imunidade por alguns dias e propuseram este método para controlar os efeitos prejudiciais da exposição precoce das aves ao VEM virulento. Esse processo de vacinação foi automatizado e é utilizado em um grande número de empresas devido ao menor custo de mão-de-obra e maior precisão, embora alguns trabalhos demonstrem não ter havido uma significativa redução das perdas pela EM no campo após a introdução desta prática de vacinação.

A exposição precoce ao vírus é uma das causas mais importantes de perdas pela EM, pois são necessários até 7 dias para que uma sólida imunidade seja estabelecida. Perdas severas podem ocorrer em aves de postura com idades diferentes, já que a exposição precoce é a regra nesses tipos de criação. O estresse ou infecções pelo vírus da reticuloendoteliose, vírus da doença infecciosa da bolsa, *Reovírus* e vírus da anemia das galinhas podem interferir na imunidade vacinal.

## Resistência genética

A existência de linhagens de aves com diferentes suscetibilidades para a EM têm permitido a sua seleção e manutenção para fins comerciais. Parece importante que essa seleção seja feita com aves vacinadas, já que isto reproduz as condições que as aves encontram no campo. Em razão dos métodos de seleção existentes, da ausência de correlação negativa com características produtivas e do benefício gerado, não é de se estranhar que as empresas que comercializam reprodutores estejam colocando maiores esforços no desenvolvimento de linhagens com resistência genética à EM.

## Biossegurança

As práticas de biossegurança e a desinfecção ambiental para limitar a exposição precoce ao VEM são cruciais como adjuvantes da vacinação. Infelizmente, o manejo atual das aves de postura comercial costuma alojar lotes de aves com idades diferentes. A reutilização da mesma cama em lotes sucessivos é também uma prática que favorece a permanência do vírus nos galpões. Esse descuido em prevenir a exposição precoce ao vírus é, talvez, a mais importante causa de falhas vacinais. As medidas de higiene, seguidamente, parecem ser efetivas na diminuição de grandes perdas em lotes vacinados.

# Complexo leucótico aviário

## Introdução

O grupo de doenças do complexo leucótico compreende uma grande variedade de neoplasias benignas e malignas das galinhas causadas por retrovírus das aves. Devido aos vírus causadores dessas doenças pertencerem à mesma família e causarem tumores, eles serão discutidos juntos na maior parte deste capítulo, ressaltando-se os agentes e doenças quando necessário.

## Histórico

O primeiro relato de uma doença leucótica foi feito em 1868 por Roloff, seguido de um relato de leucemia em galinhas por Caparini em 1896. A primeira distinção entre leucose eritróide, mielóide e linfóide foi feita por Ellermann em 1921. Payne e colegas, em 1989, fizeram o primeiro isolamento de uma cepa de retrovírus do subgrupo J que causava a leucose mielóide e que causou sérios problemas sanitários até recentemente.

## Etiologia

O grupo de vírus da leucose aviária (VLA) pertence ao gênero *Alfaretrovirus*, dentro da grande família *Retroviridae*. Os VLAs que ocorrem em galinhas foram divididos em 6 subgrupos (A, B, C, D, E e J), baseados na capacidade de infectar fibroblastos de galinha de diferentes tipos genéticos e nos antígenos do envelope viral, identificados por testes de vírus e soro-neutralização. O subgrupo J é o mais comum atualmente, tendo sido isolado de frangos de corte no final dos anos 80. Vírus dos subgrupos F, G, H e I têm sido isolados de faisões, codornas e perdizes.

Algumas cepas de VLA não possuem um ou mais dos genes necessários para replicação e são conhecidos como vírus defectivos, sendo o seu subgrupo determinado pelo do vírus auxiliar utilizado para a sua propagação. Os vírus de um mesmo subgrupo apresentam alguma vírus-neutralização cruzada; já os de diferentes subgrupos não. Anticorpos gerados contra uma cepa específica tendem a neutralizar de forma mais eficiente os vírus homólogos do que os vírus heterólogos do mesmo subgrupo.

O genoma do virion é composto por RNA de fita simples e sentido positivo e possui ao redor de 7.200 a 7.500 bases. Sua organização genômica é, do sentido 5' para 3', gag/pro-pol-env, que codificam, respectivamente, o antígeno grupo específico (GAG) e a protease (PRO), a DNA polimerase RNA dependente (transcriptase reversa, RT), a integrase (INT) e as glicoproteínas do envelope (ENV). O virion possui duas cópias do genoma viral, característica única dos retrovírus que pode facilitar o aumento da diversidade das cepas. Alguns desses vírus que transformam (geram a célula tumoral) de forma aguda também possuem oncogenes adquiridos do hospedeiro, com ou sem substituição dos genes necessários para replicação.

A penetração na célula hospedeira depende da presença de um receptor específico do subgrupo. Nesse momento, o vírus funde seu envelope lipídico ao da célula hospedeira, liberando o genoma com o capsídeo no citoplasma. Nele, por ação da transcriptase reversa presente no virion, o RNA genômico é transformado em uma fita dupla de DNA que é dirigida para o núcleo da célula e integrada ao DNA de um cromossomo do hospedeiro, através da integrase viral, possivelmente de

forma aleatória. O genoma viral integrado na forma de DNA é chamado de pró-vírus, e uma célula hospedeira pode conter até 20 cópias deste genoma viral. A formação de novos virions depende da síntese do RNA viral e de novas proteínas de vírus, as quais migram para a membrana citoplasmática, de onde saem pelo processo de brotamento.

O genoma da galinha possui várias famílias de elementos semelhantes aos retrovírus. Os vírus do subgrupo E (endógeno) possuem genomas completos ou defectivos em quase todas as galinhas. Eles ocorrem em células somáticas e nas gônadas, sendo transmitidos geneticamente para a progênie por ambos os sexos (retrovírus endógeno). Quando o genoma completo está presente, virions completos do subgrupo E podem ser produzidos; mas quando somente o genoma incompleto está presente, não há formação de virions, a não ser que a célula seja concomitantemente infectada por outro retrovírus exógeno, denominado, neste caso, de vírus auxiliar.

## Distribuição e ocorrência

A incidência da infecção é alta e, possivelmente, a maioria dos lotes foram expostos ao VLA quando atingem a maturidade sexual. Já a incidência da doença clínica é geralmente baixa. Casos esporádicos de leucose linfóide (LL) ocorrem na maioria dos lotes e, ocasionalmente, as perdas podem ser tão altas quanto 23% em matrizes. Já a leucose mielóide (LM) que ocorria ocasionalmente, aumentou sua incidência a partir de 1989, chegando a produzir perdas de até 30% em matrizes, sendo que o auge da doença no Brasil ocorreu em 1998, mas hoje aparentemente está sob controle e casos clínicos são esporádicos.

Quanto à incidência da infecção, dos subgrupos que causam a LL, o A e B são mais encontrados no campo que os C e D. Já o subgrupo E endógeno ocorre em quase todas as linhagens de galinhas mas apresenta baixa patogenicidade. O subgrupo J, que causa a LM, chegou a infectar todas as linhagens comerciais, entretanto atualmente a maioria das companhias de genética já eliminou a doença de seus plantéis.

## Patogenia e epizootia

Retrovírus do gênero relacionado ao VLA podem ser isolados de infecções naturais em galinhas, perus, faisões, codornas e perdizes. Contudo, experimentalmente, alguns desses vírus podem ser adaptados para várias outras espécies de aves e até para mamíferos.

Os VLAs exógenos podem ser transmitidos horizontalmente, de ave para ave, ou verticalmente, da matriz para a progênie. Embora somente um pequeno número de pintos seja infectado verticalmente, esse tipo de transmissão é o mais importante, visto que provê o meio de manter a infecção de uma geração para a outra. A transmissão vertical, através do albúmen do ovo, é também chamada de congênita, para diferenciar da transmissão vertical do tipo genética, causada pelos VLAs endógenos. A infecção não se dissemina rapidamente de aves infectadas para as outras através do contato indireto, provavelmente devido à pequena resistência do vírus no meio ambiente.

Quatro classes sorológicas/viológicas ocorrem em aves maduras como consequência da infecção pelos VLAs:

**I) Sem viremia e sem anticorpos (V-A-):** aves de lotes não infectados ou resistentes à infecção em um lote infectado. Aves suscetíveis em lotes infectados recaem em uma das próximas três categorias.

**II) Com viremia e com anticorpos (V+A+):** são as aves infectadas horizontalmente que geraram anticorpos mas ainda não controlaram a infecção.

**III) Sem viremia e com anticorpos (V-A+):** a maioria das aves infectadas por infecção horizontal que geraram anticorpos e controlaram a infecção.

**IV) Com viremia e sem anticorpos (V+A-):** são as aves infectadas verticalmente, as quais não desenvolvem resposta imune e são as maiores excretoras de vírus para as aves do seu lote e para a progênie.

Os embriões infectados congenitamente não desenvolvem resposta imune ao vírus e, após o seu nascimento, compõem a classe V+A-, também chamadas de persistentemente infectadas. Essas aves são normalmente mais suscetíveis a desenvolver tumores e morrerem do que as que desenvolvem anticorpos.

A excreção do vírus no albúmen do ovo e a sua transmissão para o embrião são consequência da produção dos vírus pelas glândulas secretoras de albúmen do oviduto. Entretanto, menos da metade dos ovos que possuem o vírus no albúmen geram embriões infectados, provavelmente devido à inativação do vírus por anticorpos ou pelo calor.

O vírus está presente na saliva e nas fezes das aves persistentemente infectadas, que são a principal fonte de infecção horizontal. Infecções que ocorrem depois dos primeiros sete dias de idade têm uma menor probabilidade de resultar em tumores.

## Patologia

Os VLAs podem causar um ou mais tipos de neoplasia, dependendo do subgrupo e da cepa específica do vírus, linhagem das aves e talvez, do meio ambiente. Além da LL e LM (ou mielocito-matose), esses vírus são capazes de produzir endoteliomas, sarcomas, mieloblastoses, eritro-blastoses, osteo-petroses, hemangiomas, nefromas, nefroblastomas, hepatocarcinomas, tecomas, fibromas, fibrossarcomas, mixomas, mixossarcomas, sarcomas histiocíticos, osteomas, sarcoma osteogênico, condrossarcomas e outros. Os fortes promotores para expressão dos genes presentes no genoma desses vírus são integrados em vários locais do genoma do hospedeiro. Dependendo do tipo de célula infectada e de onde os pró-vírus são integrados, pode ocorrer uma expressão anormal de proteínas regulatórias do hospedeiro, o que gera essa grande variedade de neoplasias.

Alguns vírus integram mais freqüentemente em determinados locais do genoma da ave. Dessa maneira, induzem uma neoplasia particular ou distúrbio fisiológico mais freqüentemente do que outros. As cepas que transformam de forma aguda normalmente possuem oncogenes em seu genoma.

Além das neoplasias, várias patologias podem ser causadas por determinadas cepas, como anemia, hepatite, imunodepressão, refugagem, miocardite, síndrome crônica circulatória, sinais neurológicos e menor fertilidade.

## Sinais clínicos

As aves afetadas podem não apresentar nenhum sinal da doença. Os sinais clínicos são inespecíficos, mas quando iniciam, usualmente, seu curso é rápido. A crista e a barbeta podem estar pálidas, murchas ou cianóticas. Geralmente, ocorrem inapetência, emaciação e fraqueza da ave. O aumento do fígado, bexiga e rins pode, algumas vezes, ser detectado pela palpação. O abdômen pode estar aumentado e as penas podem ter manchas de uratos e pigmentos da bile. Lotes com altas taxas de infecção podem apresentar diminuição na produção de ovos.

## Alterações anatomopatológicas

Os tumores podem ser vistos em vários órgãos, especialmente no fígado, rins, ovários, bolsa cloacal, coração e superfície de ossos. Os tumores têm coloração branca a cinzenta e podem ser difusos ou focais. Nos casos de leucose linfóide (LL), poderá haver uma predominância de tumores na bolsa cloacal, embora algumas vezes, não possam ser detectados sem a incisão do órgão e exame da superfície do epitélio. Já nos casos de leucose mielóide (LM), poderá haver predominância de tumores na superfície dos ossos, principalmente no esterno. Devido ao aspecto semelhante desses tumores produzidos pelos retrovírus e pelos induzidos na enfermidade de Marek e reticuloendoteliose, fazem-se necessários exames específicos para o diagnóstico diferencial.

Microscopicamente, na LM, os tumores são constituídos de massas compactas de mielócitos, similares aos normalmente encontrados na medula óssea, apresentando núcleo volumoso, vesicular e geralmente excêntrico. O citoplasma dessas células contém grânulos eosinofílicos, geralmente esféricos.

Já na LL, todos os tumores apresentam origem focal e multicêntrica. Os tumores consistem de agregados de células linfóides volumosas, que variam muito pouco em tamanho e pertencem ao mesmo estágio primitivo de diferenciação (linfoblasto). Essas células apresentam membrana citoplasmática pouco definida; o citoplasma basofílico contém um núcleo vesicular, no qual há a marginação da cromatina e um ou mais nucléolos acidofílicos bem evidentes. Esses detalhes característicos podem ser melhor observados em esfregaços do tumor corados por May-Grünwald- Giemsa, Wright ou outros corantes. Ao contrário do que ocorre na EM, no qual os tumores possuem características infiltrativas, na LL, os mesmos tendem a formar nódulos que causam a compressão das células do órgão afetado.

## Imunidade

A maior parte dos pintos torna-se infectada por VLAs exógenos, transmitidos pelos colegas do lote e, após uma viremia transiente, desenvolvem anticorpos vírus neutralizantes (VN) que atingem altos títulos e persistem pelo resto da vida da ave. Esses anticorpos são passados para a progênie e fornecem proteção passiva que dura de 3 a 4 semanas. Os anticorpos maternos retardam a infecção pelo VLA, reduzem a incidência de tumores e reduzem a viremia e a excreção do vírus.

Linfócitos citotóxicos direcionados contra antígenos do envelope viral também ocorrem nas aves infectadas. Pouco se sabe sobre a imunidade anti-tumoral, embora haja uma resposta contra antígenos associados à superfície de células tumorais que gera um retardo no crescimento ou até

regressão dos tumores. A infecção pelo VLA pode causar imunodepressão em algumas circunstâncias.

## Resistência genética

Existem dois níveis de resistência genética: resistência da célula à infecção pelo vírus e a resistência ao desenvolvimento de tumores. A herança da resistência celular à infecção é do tipo Mendeliana e controlada por loci autossômicos independentes. Alguns desses genes codificam para o receptor subgrupo específico na superfície da célula que interage com a glicoproteína viral, permitindo a penetração e infecção da célula-alvo. O fenótipo da suscetibilidade celular associada com esses genes é feito por uma convenção que reconhece os subgrupos virais aos quais a célula da galinha (C) é resistente. Por exemplo, uma célula C/AE identifica uma célula resistente aos subgrupos A e E, mas suscetível aos subgrupos B, C, D e J.

## Diagnóstico

Além da presença de lesões macro e microscópicas, idade das aves, histórico do lote e da linhagem, mortalidade e localização dos tumores, é necessário demonstrar a presença do VLA associado às lesões para o diagnóstico definitivo. Para o isolamento e identificação, o plasma, o soro e os tumores de aves com lesões são as melhores fontes de vírus infecciosos, antígenos virais e DNA do pró-vírus. Os VLAs podem ser isolados em pintos suscetíveis e, em ovos embrionados, alguns isolados são capazes de produzir lesões na membrana corioalantóica. Atualmente, procedimentos que utilizam cultivos celulares têm sido mais utilizados devido à rapidez e economia que proporcionam.

O teste de indução do fator de resistência (IFR) utiliza a propriedade dos cultivos celulares de, uma vez infectados por um ALV de um subgrupo, tornarem-se resistentes à infecção por outro vírus do mesmo subgrupo. O material suspeito é inoculado em cultivos de fibroblastos que são subcultivados a cada 3 a 4 dias. Em cada passagem, uma alíquota das células inoculadas é testada para verificar a suscetibilidade com cada subgrupo.

A presença do antígeno viral p27 é a base para a maioria dos testes sorológicos de detecção dos VLAs. O material suspeito pode ser inoculado em culturas de fibroblastos suscetíveis (cultivos primários ou linhagens celulares) por pelo menos 8 dias para permitir a multiplicação do vírus e a conseqüente produção da p27 em grande quantidade. Uma prática comumente realizada em laboratórios é a passagem das células inoculadas a cada 6-7 dias e detecção do antígeno viral p27 depois da segunda ou terceira passagem. A fixação de complemento por um soro hiperimune em extratos preparados a partir desses cultivos é a base do teste de COFAL. Também podem ser utilizados testes de ELISA de captura e radioimunoensaio para detectar a p27 nesses cultivos, ou diretamente do material suspeito. Testes de ELISA comerciais para essa finalidade podem ser encontrados no mercado.

Cultivos de fibroblasto de embrião transformados com cepas não produtoras de VLAs dos subgrupos A, B, C, D e J são a base dos testes de mistura de fenótipos (MF). Quando o material suspeito inoculado nessas células contém um VLA exógeno do mesmo subgrupo utilizado para produzir a célula, o vírus endógeno é produzido.



Testes de imunohistoquímica, como a imuno- fluorescência, podem ser utilizados para detectar antígenos do vírus em culturas de fibroblastos de embrião. Para isso, os anticorpos utilizados podem ser monoclonais ou policlonais específicos para um determinado subgrupo.

Todos os VLAs possuem a enzima transcriptase reversa, utilizada para a produção do DNA do pró- ví-rus; e a sua detecção direta por anticorpos, ou indireta pela sua atividade, também indicam a presença do vírus.

A detecção dos ácidos nucleicos do vírus, por PCR ou hibridização, é cada vez mais utilizada. Existem diversos protocolos para detecção do material genético dos VLAs, alguns capazes de detectar todos os subgrupos de VLAs (não específicos) e outros capazes de detectar somente subgrupos específicos. Estes últimos são específicos para regiões do gene das glicoproteínas do envelope, o que possibilita a diferenciação exata entre cepas de diferentes subgrupos.

Para a detecção de anticorpos, pode ser utilizado o soro, plasma ou albúmen do ovo. Testes de vírus- neutralização empregam o princípio de que os anticorpos gerados contra um determinado subgrupo ou isolado reagem neutralizando mais eficientemente os vírus do subgrupo homólogo do que do heterólogo. Após a incubação de quantidades conhecidas do vírus com diluições do soro, a mistura é adicionada a um cultivo celular para determinar se o vírus foi neutra- lizado. Também podem ser empregados testes de peroxidase ligada a anticorpos ou de ELISA. Estão disponíveis no mercado testes de ELISA para a detecção de anticorpos específicos contra o VLA do subgrupo J.

## Prevenção, controle e tratamento

Não existe tratamento eficaz para o controle da infecção viral ou tumor, logo, o mesmo deve ser feito através de medidas de prevenção e biosegurança. Os VLAs exógenos podem ser erradicados dos lotes atualmente, visto que existem técnicas mais práticas e sensíveis para a sua detecção e eliminação dos portadores, o que é fundamental para evitar a transmissão vertical do vírus. Para estabelecer lotes livres do agente, é necessário incubar, criar e manter em isolamento grupos de galinhas livres da infecção. Para isto, os ovos embrionados devem ser adquiridos de matrizes que não estejam transmitindo o vírus congenitamente. Estas são selecionadas, preferencialmente, entre as aves de caráter sorológico/viológico V-A-, já que estas nunca tiveram contato com o vírus ou são geneticamente resistentes, embora também possam ser selecionadas entre as aves V-A+ quando testes sensíveis para a detecção do vírus são utilizados. Normalmente, as aves V- são selecionadas por testes que detectam o vírus em suabes de cloaca ou vagina, como o ELISA, ou no albúmen do ovo, como o ELISA e o teste de COFAL direto e, mais recentemente, pela PCR. Muito cuidado deve ser tomado para que o teste utilizado não esteja detectando vírus endógenos, não produtivos. Para evitar este tipo de problema, atualmente se utiliza o teste de ELISA de captura após a propagação das amostras em fibroblastos de embrião ou em linhagens celulares suscetíveis somente a vírus exógenos (C/E).

Contudo, é pouco provável que um único teste detecte todas as galinhas potencialmente excretoras do vírus, devendo ser feita uma combinação de testes que deverão ser realizados durante várias gerações até que a erradicação seja alcançada. Na avicultura moderna, essas medidas são tomadas pelas empresas que produzem as linhagens comerciais. Algumas empresas, após a eliminação da infecção do VLA subgrupo J de seus plantéis, estão agora trabalhando para diminuir ou mesmo

eliminar vírus endógenos de suas linhagens. Às empresas compradoras cabe somente escolher as linhagens livres ou com uma baixa percentagem de aves V+ e fornecer condições ambientais que diminuam a transmissão vertical e manifestação da doença.

## Reticuloendoteliose

### Introdução

O termo reticuloendoteliose (RE) é utilizado para designar um grupo de síndromes causadas por retrovírus do grupo do vírus da reticuloendoteliose (VRE), distintos genética e morfológicamente do grupo dos vírus relacionados ao vírus da leucose aviária (VLA). As síndromes designadas de RE são a neoplasia aguda das células reticulares, a neoplasia crônica dos tecidos linfóides e outros tecidos, e a síndrome da doença do refugo.

### Histórico

O primeiro isolamento do VRE ocorreu em 1958 a partir de um peru com linfomas viscerais. Outros autores que estudaram essa mesma cepa designaram a doença de reticuloendoteliose devido às células mais abundantes encontradas nos tumores.

### Distribuição e ocorrência

A infecção pelo VRE é comum, mas não totalmente disseminada, em frangos, perus, patos, codornas e, provavelmente, outras espécies de aves. A doença já foi descrita em diversos países, incluindo, os Estados Unidos, Brasil, Austrália, Japão, México, Egito, Coreia e outros países Europeus e Africanos. Muitos destes relatos estão associados a contaminação pelo VRE de vacinas para a enfermidade de Marek. Nos EUA, dois lotes de reprodução foram contaminados após a administração de vacina contra boubá aviária contaminada. No Brasil, também ocorreram casos de RE associados à administração de vacinas nos anos 80, mas poucos estudos têm sido feitos para determinar a incidência da infecção em nosso meio. A forma crônica neoplásica já foi descrita em frangos, perus, patos, gansos, faisões, codornas, e, até mesmo em espécies silvestres ameaçadas de extinção, como é o caso das aves da pradaria da região central dos EUA.

Devido à infecção pelo VRE ser muito mais comum do que a doença clínica, e o VRE poder infectar um grande número de espécies de aves, estima-se que o agente esteja presente em todos os continentes. Dessa forma, os prejuízos econômicos advindos da RE relacionam-se, principalmente, ao impedimento da exportação de aves para reprodução, ao monitoramento dos plantéis e vacinas, aos efeitos imunodepressivos que a infecção pode causar e também, em espécies silvestres, a infecção pode significar um potencial perigo para a extinção destes espécies. Estudos sorológicos têm indicado que a incidência da infecção está aumentando nos EUA e Japão, embora as causas não sejam conhecidas.

### Etiologia

A RE é causada por retrovírus das aves designados de grupo do vírus da reticuloendoteliose (VRE), distintos morfológicamente, imunologicamente e estruturalmente do grupo dos vírus relacionados à leucose aviária (VLA). Dentro da classificação dos retrovírus, os VRE pertencem

ao gênero *Gammaretrovirus*, juntamente com os vírus relacionados à leucemia murina. O grupo VRE é composto pela cepa T, vírus sincicial do pinto, vírus da anemia infecciosa dos patos, vírus da necrose do baço e outros isolados de galinhas, patos, perus, faisões e gansos. Esses diferentes isolados parecem antigenicamente uniformes e pertencem a um único sorotipo, embora possam apresentar patogenicidade diferente.

As partículas virais possuem aproximadamente 100 nm de diâmetro e são envelopadas. O genoma é constituído de RNA de fita simples, com polaridade positiva e um tamanho de aproximadamente 8.700 bases. Os vírus defectivos possuem genomas menores e possuem oncogenes, capazes de transformar a célula. Sua replicação e transmissão são semelhantes às descritas para os VLA.

## Patogenia e epizootia

Os hospedeiros naturais são os perus, galinhas, patos, faisões, gansos, codornas e experimentalmente, também a galinha de Angola. No laboratório, cultivos celulares de um grande número ou talvez de todas as espécies de aves e até de alguns mamíferos podem ser utilizados na sua propagação.

As aves expostas ao vírus desenvolvem uma viremia transiente, seguida pelo aparecimento de anticorpos a partir de sete a dez dias. Ocorre transmissão horizontal e vertical, semelhantes ao que ocorre nos VLA (para maior concisão não serão abordadas aqui). Contudo, se comparado com o VLA, o VRE é transmitido de forma menos eficiente verticalmente, os machos são transmissores mais eficientes e a infecção horizontal parece mais difícil de controlar. Insetos, como moscas e mosquitos, têm sido descritos como vetores mecânicos do vírus.

Existem três formas de apresentação clínica da doença: a neoplasia aguda das células reticulares, a neoplasia crônica e a síndrome da doença do refugio. Para maior simplicidade e mais detalhes sobre a patologia, imunidade, sinais clínicos, lesões macro e microscópicas, as formas de apresentação clínica serão descritas separadamente a seguir.

## Neoplasia aguda das células reticulares

A neoplasia aguda das células reticulares é causada pela cepa T (do inglês peru – turkey), um VRE defectivo - pois é impossibilitado de replicar sem o auxílio de outro VRE - e que possui o oncogene v-rel. O seu menor período de incubação é de três dias, mas a morte normalmente ocorre entre seis e vinte e cinco dias após a infecção. A inoculação de pintos ou perus recém-nascidos resulta em poucos sinais clínicos e mortalidade de até 100% devido à rápida evolução da doença.

As aves afetadas apresentam o baço e o fígado aumentados de volume e com lesões focais ou difusas. Essas lesões também podem ser encontradas nos rins, pâncreas, coração e gônadas. No sangue, pode haver uma diminuição do número de heterófilos e um aumento do número de linfócitos, que resulta numa leucemia acentuada antes da morte.

Na neoplasia aguda das células reticulares, as alterações microscópicas são geralmente caracterizadas pela infiltração e proliferação de células grandes e vesiculares, descritas como

células mononucleares do sistema reticuloendotelial, ou células mesenquimais primitivas. Algumas lesões são constituídas quase que unicamente dessas células, enquanto que outras incluem também pequenas células linfóides, que provavelmente indicam uma resposta imune do hospedeiro contra a lesão primária. Essa resposta imune é do tipo humoral e celular, e parece ser gerada tanto contra antígenos do vírus quanto do tumor.

## Neoplasia crônica

As neoplasias crônicas podem ou não envolver a bolsa cloacal e são causadas por VRE não defectivos. Os linfomas da bolsa podem apresentar-se semelhantes aos encontrados na leucose linfóide, um caso raro em que a mesma doença é causada por dois agentes diferentes. Assim como nesta, a co-infecção com o sorotipo 2 do VEM aumenta a incidência desse tipo de tumor. Os linfomas podem também afetar o timo, coração, fígado, pâncreas, baço, rins, proventrículo e intestino, e são semelhantes aos encontrados na EM. O período de incubação pode ser tão pequeno quanto seis semanas, mas há casos de desenvolvimento de tumores até as 90 semanas de idade. Embora não seja comum, os nervos periféricos podem ser afetados.

## Síndrome da doença do refugo

Na síndrome da doença do refugo, geralmente não há tumores. É causada por VRE não defectivos. As lesões encontradas podem ser pequeno desenvolvimento corporal, atrofia do timo e bolsa cloacal, enterite, anemia, aumento de volume dos nervos periféricos, desenvolvimento anormal das penas (“Nakanuke”) e necrose do fígado e baço. Num trabalho recente com infecção experimental de codornas, observou-se que o peso corporal pode ser reduzido em até 50% nos lotes infectados. Até mesmo a progênie de lotes infectados teve um desempenho zootécnico abaixo dos animais controle.

As aves afetadas podem estar muito deprimidas e pálidas, e as aves-refugo podem ser detectadas com seis dias de idade. As perdas podem chegar a 50% do lote afetado. A aparência microscópica dos nervos aumentados é similar àquela observada na EM, o que pode complicar o diagnóstico, mas dificilmente levará à apresentação de transtornos locomotores.

A infecção pode ser acompanhada por uma menor resposta imune, tanto humoral quanto celular, que facilita o aparecimento de infecções oportunistas ou leva a falhas na vacinação para EM e doença de Newcastle. Essa imunodepressão resulta normalmente da infecção vertical ou de vacinas contaminadas com o VRE administradas nos primeiros dias de vida, e não da infecção pelo contato com aves infectadas (horizontal).

## Diagnóstico

Além da presença de lesões macro e microscópicas, é necessário demonstrar a presença do VRE para o diagnóstico definitivo. Isso decorre da ocorrência da forma clínica da enfermidade não ser tão grande quanto a da EM e da LA, mas também por que as lesões poderem ser indistinguíveis entre as três doenças.

Para o isolamento e identificação, aves com lesões são a melhor fonte de vírus infecciosos, antígenos virais e DNA do pró-vírus. São utilizados cultivos celulares suscetíveis que são

inoculados com suspensões de células tumorais, sangue total, plasma ou soro e outros. Os cultivos celulares devem ser subcultivados pelo menos duas vezes, por sete dias. Como raramente são identificados efeitos citopáticos do vírus nas células infectadas, com exceção da cepa T, a identificação da infecção é feita de forma indireta. A detecção dos antígenos do VRE é feita, utilizando-se métodos que empreguem anticorpos policlonais ou monoclonais específicos, como imunofluorescência, imunoperoxidase, fixação de complemento e ELISA de captura. O DNA do pró-vírus pode ser detectado através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tumores, sangue ou mesmo em vacinas. Ainda não há um ELISA de captura disponível comercialmente, o que poderia facilitar a detecção do vírus, como no caso de Leucose Aviária.

A sorologia pode ser utilizada para confirmar a infecção prévia pelo VRE, para testar lotes destinados à exportação para a presença da infecção e para estudos epidemiológicos. A presença de anticorpos específicos pode ser feita através de vírus-neutralização, imunofluorescência indireta, ELISA e outros. Testes de ELISA comerciais estão disponíveis. Os anticorpos específicos podem ser detectados a partir do soro ou albúmen do ovo. Entretanto, é importante lembrar que a sorologia, por si só, não pode ser utilizada para o diagnóstico definitivo.

## Prevenção e controle

Como não existe tratamento, medidas de controle e prevenção devem ser utilizadas na RE, semelhantes às tomadas contra a leucose aviária. Contudo, na prática, poucas vezes têm sido utilizadas, seja porque a doença é esporádica e autolimitante, ou porque ainda não existe o conhecimento necessário. Essas medidas devem visar à eliminação da transmissão vertical, através da eliminação das matrizes contaminadas e a diminuição da transmissão horizontal pela criação da progênie em condições de isolamento. Para a detecção das matrizes infectadas, um ELISA de captura, embora ainda não disponível comercialmente, tem mostrado ser um teste adequado a nível laboratorial, devido a sua capacidade de processar um grande número de amostras. Alguns laboratórios estão trabalhando para o desenvolvimento de um kit que possa ser produzido em larga escala e comercializado.

Em programas de erradicação da doença, como o caso de um criatório que visa à preservação de uma espécie ameaçada de extinção nos EUA, utiliza-se soro, plasma ou mecônio como amostra para o isolamento do vírus em cultivo celular, com identificação por imunofluorescência.

Outro ponto que deve ser levado em conta é que o reservatório natural da doença ainda não foi identificado. Sabe-se que moscas e mosquitos podem transmitir o vírus. Ainda, o VRE tem uma particularidade quase que exclusiva, a de inserir o seu material genético dentro do DNA de outros vírus. A inserção completa ou parcial do genoma do VRE já foi descrita em poxvírus e em vírus da EM. Pouco se sabe sobre esta habilidade do VRE, mas certamente isto representa uma grande vantagem para o vírus se manter no ambiente por um maior período.

## Diagnóstico diferencial da enfermidade de Marek, complexo leucótico aviário e reticuloendoteliose

As lesões da enfermidade de Marek (EM), leucose linfóide (LL), leucose mielóide (LM) e reticuloendoteliose (RE) podem ser confundidas em alguns casos. O diagnóstico deve levar em

conta a história, sinais, lesões macro e microscópicas, além da identificação direta ou indireta do agente ser altamente recomendável. Contudo, nesta secção serão destacados somente alguns pontos que merecem maior atenção.

Normalmente, as leucoses não ocorrem antes de quatorze semanas de idade e a maior mortalidade ocorre entre vinte e quatro e quarenta semanas. Já a EM pode ocorrer tão cedo quanto quatro semanas de idade e o pico de mortalidade varia de dez a vinte semanas. Entretanto, deve-se lembrar que lesões causadas por leucose podem aparecer tão cedo quanto 6 semanas e há descrições de EM até mesmo após as 100 semanas de idade, reforçando a necessidade de identificação do agente infeccioso.

A histopatologia, quando realizada por pessoal com prática, ajuda na diferenciação dos tumores induzidos por esses diferentes agentes, com algumas exceções. O aumento de volume dos nervos periféricos pode ocorrer na EM e na RE e a adoção dos critérios de infecção, descritos no diagnóstico da EM, pode ajudar na diferenciação. Ambos os tipos de lesões nervosas também podem ser confundidas com a neuropatia espontânea, uma provável doença autoimune.

Os linfomas da bolsa causados pelo VRE podem ser semelhantes aos encontrados na leucose linfóide. Assim como nesta, a co-infecção com o sorotipo 2 do VEM aumenta a incidência desse tipo de tumor. Quando não há envolvimento da bolsa, os linfomas afetam o timo, coração, fígado e baço e são semelhantes aos encontrados na EM. Nesses casos, somente a detecção do ácido nucléico, do antígeno do vírus ou tumor específicos de um agente, e não do outro, podem ajudar na diferenciação. Nos últimos anos, têm sido observadas infecções simultâneas pelo EM e RE em diversos tumores encontrados em matrizes e poedeiras. Ainda não é conhecido se este acontecimento é uma verdadeira infecção dupla ou se é o caso do genoma do VRE estar integrado no genoma do VEM. Estudos estão sendo realizados para um melhor entendimento desta relação. Um fato relevante a relatar é que, em vários destes tumores com dupla infecção, as lesões histopatológicas são semelhantes as encontradas na LL, o que pode dificultar um diagnóstico preciso quando este não considera a identificação do genoma ou antígenos dos vírus.

Após o desenvolvimento de protocolos de PCR específicos para o VRE, sorotipos do VEM e subgrupos do VLA, o diagnóstico diferencial dessas enfermidades tornou-se muito mais preciso e confiável. Também os ensaios de imunohistoquímica para detectar antígenos específicos do tumor e dos vírus em seções dos tumores parecem constituir-se em um grande avanço no diagnóstico diferencial dessas enfermidades.

## Bibliografia

Barbosa T, Zavala G, Cheng S, Villegas P. Pathogenicity and transmission of reticuloendotheliosis virus isolated from endangered prairie chickens. **Avian Diseases** 2007; 51:33-39. 2007.

Becker Y, Tabor E, Asher Y, Davidson I, Malkinson M, Witter RL. PCR detection of amplified 132 bp repeats in Marek's disease virus type 1 (MDV-1) DNA can serve as an indicator to initial genomic rearrangement leading to the attenuation of virus virulence. **Virus Genes** 1993; 7:277-287.

Davidson I, Borovskaya A, Peri S, Malkinson M. Use of polymerase chain reaction for the

diagnosis of natural infection of chickens and turkey with Marek's disease virus and reticuloendotheliosis virus. **Avian Pathology** 1995; 24:281-292.

Fadly A, Payne LN. Leukosis: sarcoma group. In: Saif YM, Barnes J, Glisson J, MacDougall L, Swayne D. editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State Press; 2003. p.465-516.

Gimeno IM, Witter RL, Fadly AM, Silva RF. Novel criteria for the diagnosis of Marek's disease virus-induced lymphomas. **Avian Pathology** 2005; 34:332-340.

Murphy FA. Virus taxonomy. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. editors. Fields virology. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott- Raven; 1996. p.15-58.

Witter RL, Fadly AL. Reticuloendotheliosis. In: Saif YM, Barnes J, Glisson J, MacDougall L, Swayne D. editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State Press; 2003. p.517-535.

Witter RL. Avian viral tumors. In: Whiteman CE, Bickford AA, editors. Avian disease manual. 3rd ed. Pennsylvania: The American Association of Avian Pathologists; 1989; p.21-29

Witter R, Schat KA. Marek's disease. In: Saif YM, Barnes J, Glisson J, MacDougall L, Swayne D. editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State Press; 2003 p.407-465.

Zavala G, Lucio-Martinez B, Cheng S, Barbosa T. Sarcomas and myelocytomas induced by a retrovirus related to myeloblastosis-associated virus type 1 in White Leghorn egg layer chickens. **Avian Diseases** 2006; 50:201-208.

<b>Etiologia</b>	<b>587</b>
<b>Resistência do vírus</b>	<b>588</b>
<b>Epidemiologia</b>	<b>588</b>
<b>Hospedeiros</b>	<b>589</b>
<b>Panzootias</b>	<b>589</b>
<b>A doença no Brasil</b>	<b>590</b>
<b>Difusão</b>	<b>591</b>
<b>Evolução da doença</b>	<b>592</b>
<b>Patologia</b>	<b>592</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>593</b>
<b>Sinais clínicos</b>	<b>593</b>
<b>Infecção experimental</b>	<b>594</b>
<b>Amostras para isolamento viral</b>	<b>594</b>
<b>Cultura viral</b>	<b>595</b>
<b>Identificação viral</b>	<b>596</b>
<b>Índices de patogenicidade</b>	<b>596</b>
<b>Índice de patogenicidade intracerebral (IPIC)</b>	<b>597</b>
<b>Tempo médio de morte embrionária (TMME)</b>	<b>597</b>
<b>Índice de patogenicidade intravenosa (IPIV)</b>	<b>597</b>
<b>Testes sorológicos</b>	<b>597</b>
<b>Teste de hemaglutinação (HA)</b>	<b>598</b>
<b>Teste de inibição da hemaglutinação (HI)</b>	<b>598</b>
<b>Controle e prevenção</b>	<b>599</b>
<b>Vacinas</b>	<b>600</b>
<b>Vacinas e reações pós-vacinas</b>	<b>600</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>602</b>



**Antonio Carlos Paulillo, Luciano Doretto Júnior**

Doença de Newcastle (DN), também conhecida como pseudo- peste aviária, pneumoencefalite aviária, desordem respiratório- nervosa e internacionalmente - disease, faz parte da lista de doenças emergenciais do código zoonitário internacional da Organização Mundial de Saúde Animal - OIE e a notificação dos focos da doença é compulsória.

A definição mais recente da DN é uma infecção de ave causada por um vírus do sorotipo Parainfluenzavirus aviário tipo 1 (APMV-1) que apresente Índice de Patogenicidade Intracerebral (IPIC) em pintos - Gallus gallus - SPF (Specific-Pathogen-Free) de um dia de idade maior do que 0,7. Ou, demonstrar, através de seqüenciamento, os aminoácidos básicos do genoma viral na posição terminal "C" da proteína F2 e Fenilalanina na posição 117 da posição terminal "N" da proteína F1. O termo "múltiplos aminoácidos básicos" refere-se aos três últimos resíduos de arginina ou lisina entre as posições 113 e 116 do genoma viral.

## Etiologia

Os vírus membros da família Paramyxoviridae são vírus RNA envelopados, fita simples, que possuem genoma não segmentado de polaridade negativa. Durante o processo de replicação, o vírus apresenta o capsídeo projetado no citoplasma e o envelope aderido à superfície da célula infectada. Através da microscopia eletrônica de transmissão, as partículas aparecem pleomórficas, variando entre 100 e 500nm de diâmetro, de formato aproximadamente esférico e, transversalmente, o filamento mede 100nm.

A família paramyxoviridae é subdividida em duas sub-famílias: Pneumovirinae, composta por dois gêneros, o Pneumovirus e Metapneumovirus e a sub-família Paramyxovirinae, que é composta por cinco gêneros:

- 1- Morbillivirus** - cujo protótipo é o vírus da rubéola, incluindo o vírus da cinomose canina.
- 2- Respirovirus** - onde o modelo desse gênero é o vírus da parainfluenza humana e bovina .
- 3- Rubulavirus** - o protótipodessegêneroeóvírusdacaxumbahumana.
- 4- Henipavirus** - o protótipo deste vrus é o Hendravirus, um agente zoonótico de equínos.
- 5- Avulavirus** - O vírus da doença de Newcastle (VDN), Avian Parainfluenzavirus tipo 1 (APMV-1) e os outros parainfluenzavirus aviários foram recentemente colocados nesse gênero.

Os membros do gênero Avulavirus que infectam as espécies de aves apresentam nucleocapsídeo em forma de espiral, com aproximadamente 18nm de diâmetro e 5nm de espessura. As partículas virais apresentam projeções típicas cobrindo toda superfície que está inserida dentro do envelope. Essas projeções ou espículas são encontradas em dois tamanhos: uma maior, de aproximadamente 8nm de comprimento, que consiste em uma simples glicoproteína (HN), onde estão associadas às atividades de hemaglutinação e neuraminidase. As espículas menores são formadas pela

glicoproteína F que está associada à habilidade do envelope viral em fundir-se às membranas celulares do hospedeiro, seguindo a introdução do material genético viral na célula e causar a fusão das células infectadas, resultando no característico efeito citopático, formação de sincício.

Os dados dos testes de inibição da hemaglutinação (HI), imunodifusão dupla em gel de ágar (AGP), soro-neutralização (SN), inibição da neuraminidase e outros testes sorológicos e propriedades da estrutura viral têm sido utilizadas para diferenciar os nove grupos de parainfluenzavirus aviários. Os sorotipos tem sido descritos como APMV-1 a APMV-9.

O mesmo esquema de nomenclatura utilizado para os influenzavirus tipo A foi adotado para nomear os parainfluenzavirus de aves. Deve-se descrever sempre: **1.** Sorotipo, **2.** Espécie ou tipo de ave onde o virion foi isolado, **3.** Localização geográfica do isolamento, **4.** Número ou nome de referência e **5.** Ano de isolamento. (exemplo: APMV- 3/parakeet/Netherlands/449/75).

A **Tabela 1** descreve o protótipo de cada um dos sorotipos, bem como o hospedeiro usual e os sintomas observados nas aves afetadas. A exceção do APMV-6, que ocasionalmente foi isolado de perus. Dados patológicos em galináceos foram descritos apenas com vírus dos sorotipos APMV-1, APMV-2 e APMV-3.

Tabela 1 - Parainfluenzavirus aviários - protótipos, hospedeiros naturais e sintomas em galináceos.		
Estirpe - protótipo do vírus	Hospedeiros naturais usuais	
Sintomas observados em galináceos		
APMV-1 (vírus da doença de Newcastle) de acordo com a patogenicidade do vírus isolado, da espécie e do perfil imunológico do hospedeiro: Extremamente patogênico a infecção inaparente	Diversas espécies	Varia
APMV-2/chicken/Califórnia/Yucaipa/56	Perus, galinhas, psitacídeos e Doença respiratória variando de branda a severa, com ou sem problemas na produção de ovos	
(1) *APMV-3/TURKEY/Wisconsin/68	Perus	
(2) *APMV-3/parakeet/Netherlands/449/75	Psitacídeos e psitacídeos	

severa queda na produção de ovos		
APMV-4/duck/Hong Kong/D3/75 Desconhecida	Palmípedes (patos e gansos)	
APMV-5/budgerigar/Japan/Kunitachi/74 Nenhuma infecção descrita em  - Estirpe não hemaglutinante - galináceos	Budgerigars	
APMV-6/duck/Hong Kong/199/77 respiratória branda e pequeno aumento no índice de mortalidade em perus; nenhuma observação em patos e gansos	Patos gansos e perus	Doença
APMV-7/dove/Tennessee/4/75 infecção descrita em silvestres e avestruzes	Pombos domésticos e galináceos	Nenhuma
APMV-8/goose/Delaware/1053/76 Nenhuma infecção descrita em  galináceos	Patos e gansos	
APMV-9/domestic duck/New York/22/78 Nenhuma infecção descrita em  galináceos	Patos	
* As amostras isoladas de perus e psitacídeos podem ser diferenciadas através de testes sorológicos.		

## Resistência do vírus

O VDN possui um envelope formado de membrana celular modificada, a partir do brotamento viral da célula do hospedeiro no momento da multiplicação. Esta é uma importante característica do parainfluenzavírus aviário porque esse envelope produz então um meio ambiente instável, onde a ação da luz solar, luz UV, do aquecimento, da oxidação, do pH e a maioria dos agentes químicos destroem o vírus.

O APMV-1 é inativado a temperatura ambiente com os seguintes compostos químicos: álcool

etílico 70%, fenol 3%, tintura de iodo 1%, lisol 1%, soda cáustica 2%, acetona 50% e permanganato de potássio diluído 1:5.000. Temperaturas elevadas e a radiação solar facilitam a inativação do virion pelos agentes químicos, enquanto que baixas temperaturas interrompem a sua inativação. Algumas estirpes são inativadas a 56°C em cinco minutos, porém outras levam até seis horas para serem destruídas. São inativados em poucos segundos a 100°C. O cozimento a 80°C destrói o virion em produtos cárneos. Em penugem de pintos conservados a 37°C, o vírus permanece viável por até 87 dias, e na superfície de ovos por até 126 dias. Em aviários, o VDN permanece ativo por até 235 dias e quando exposto à radiação solar direta, o vírus morre rapidamente. Em órgãos de aves infectadas e conservadas a 37°C, o virion permanece ativo por até 125 dias. O VDN quando exposto a luz ultravioleta com raios de 1.600 a 1.800

Å, é inativado entre 0,8 e 1,08 segundos. O VDN pode suportar extremos de pH, entre 2 e 10, por algumas horas. A papaína inativa o VDN no pH 7,0, mas o título hemaglutinante é pouco afetado.

## Epidemiologia

Para fins didáticos, estirpes do VDN têm sido agrupadas, em cinco patotipos com base nos sinais clínicos observados nas aves infectadas. Eles são:

- 1- Velogênico viscerotrópico** - apresenta-se altamente patogênica, culminando em altos índices de mortalidade. Frequentemente são observadas lesões hemorrágicas intestinais e respiratórias;
- 2- Velogênico neurotrópico** - forma que apresenta alta mortalidade e usualmente são observados sinais nervosos e respiratórios;
- 3- Mesogênico** - apresenta sinais respiratórios mais brandos, ocasionalmente sintomatologia nervosa, mas com baixa mortalidade;
- 4- Lentogênica ou vacinal** - apresenta infecções respiratórias brandas ou subclínicas.
- 5- Entérica assintomática** - consiste usualmente de infecção entérica subclínica.

As classificações desses patotipos raramente são vistas no campo, uma vez que essas descrições referem-se a observações em aves SPF inoculadas com os respectivos patotipos. Ainda, em nível de campo, sinais clínicos observados em aves infectadas com estirpes lentogênicas podem ser exacerbados com infecções por outros microorganismos ou quando condições adversas ambientais estão presentes.

## Hospedeiros

O VDN tem sido declarado como agente infectante em várias espécies animais. Além de aves, o VDN pode infectar várias espécies de répteis, principalmente serpentes, e mamíferos, até o homem.

Em aves, já é definido que o VDN é capaz de infectar, experimental ou naturalmente, mais de 241 espécies de aves, representando 27 das 50 ordens de aves existentes.

## Panzootias

A história da doença de Newcastle é marcada por no mínimo três grandes panzootias, no entanto, é difícil dizer precisamente como e quando a DN emergiu e determinar o período em que cada panzootia tenha se difundido.

A primeira se iniciou com a emergência da DN em 1926 e a sua difusão para a maioria dos países do mundo. A difusão da doença nos diferentes países variou consideravelmente. Na Inglaterra, a doença desapareceu em 1928, na Ásia e Oriente Médio a DN se difundiu de 1926 a 1942 e para o resto da Europa, África e América, a difusão da amostra asiática ou de Doyle parece ter ocorrido um pouco mais tarde, entre 1940 e 1950.

A segunda panzootia da DN parece ter surgido no final de 1960 no Oriente Médio. Nesta, a difusão foi consideravelmente mais forte do que a primeira, atingindo todos os continentes e muitos países até o ano de 1973. Esta rápida difusão estava associada ao grande comércio de espécies de psitacídeos, principalmente da América do Sul, América Central e Sudeste da Ásia, envolvendo transporte aéreo.

A terceira panzootia emergiu inicialmente no Oriente médio em 1970, onde foi relatada principalmente como uma doença neurotrópica em pombos de competição, causada por uma amostra de VDN distinguível das outras amostras por anticorpos monoclonais e chamada de Pigeon type (PPMV-1). A principal forma de difusão deu-se através da exposição e comercialização de pombos e a sua presença foi confirmada em mais de vinte países, incluindo muitos países Europeus, Canadá, EUA, Hong Kong e Sudão. Em alguns países a doença acometeu outras aves silvestres, e a avicultura comercial. Na Inglaterra em 1984, esta amostra viral foi responsável por vinte surtos da doença em frangos de corte como resultado da contaminação de ração farelada por pombos infectados que viviam na fábrica de ração.

A história indica que de tempos em tempos amostras do VDN emergem de fontes desconhecidas por razões incertas e que elas têm a capacidade de se difundir por todo o mundo através de aves susceptíveis. O uso profilático de vacinas preveniu em muitos países a emergência e a difusão de novas panzootias, mas existem evidências do isolamento do vírus virulento em aves exóticas e surtos da doença em aves domésticas de alguma parte do mundo, devido ao relaxamento na política de comercialização

## **A doença no Brasil**

O histórico do problema no Brasil começou com o aparecimento do primeiro surto da DN em Belém e Macapá, território do Amapá, em 1953, e a sua introdução ocorreu aparentemente por conta da importação de carcaças congeladas de aves procedentes dos Estados Unidos da América para um dos hotéis da capital paraense. Depois foram assinalados surtos nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais.

Após o primeiro impacto na década de 50 a DN, embora endêmica, foi observada apenas esporadicamente, acometendo planteis de pequena expressão econômica, controlando-se rapidamente os focos através de vacinação e medidas profiláticas complementares.

Na década de 70, constatou-se o ressurgimento da enfermidade de Newcastle sob uma forma

altamente patogênica, conhecida como Newcastle viscerotrópica. Tanto assim, que no período de 1970 a 1975 foram diagnosticados aproximadamente 1350 focos desta enfermidade, sendo que em 1972 ocorreu o maior número de focos, cerca de 560. Em 1975 foram observados 173 focos envolvendo aproximadamente 1.300.000 aves enfermas.

No período de 1971 a 1979 a doença de Newcastle (9,8% de prevalência) constituiu-se no terceiro problema sanitário mais freqüente para a avicultura de corte de Minas Gerais e outros Estados da federação.

Entre 1975 a 1980, a doença de Newcastle (10,68% de prevalência) constituiu-se no segundo problema sanitário mais freqüente para a indústria avícola (reprodutoras, poedeiras e frangos de corte) de Minas Gerais e outros 14 Estados da federação.

No ano de 1983 foram oficialmente notificados 218 focos da doença de Newcastle com um comprometimento de aproximadamente 60.000 aves.

Entre 1984 a 1987 a DN foi notificada em 1.074 focos comprometendo 401.108 aves. Em 1984, 74,52% dos casos foram notificados no Rio Grande do Sul, comprometendo 75.541 aves. Já no ano de 1987, o estado de Sergipe foi o responsável por 84,98% dos casos notificados, comprometendo 34.300 aves.

Nos anos de 1988 e 1989, houve uma redução significativa no número de focos da DN, totalizando 399 focos, comprometendo 227.648 aves.

Em 1990 no estado de Minas Gerais, foram notificados 46 focos da DN, acometendo 245.803 aves. No estado do Paraná, no ano de 1991 foram notificados dois focos da doença de Newcastle, acometendo 43.300 aves.

No biênio 1992 e 1993, foram notificados 132 focos, comprometendo 70.447 aves. Neste período, o estado de Minas Gerais foi novamente o mais atingido, sendo em 1992, responsável por 98,89% dos casos, totalizando 66.800 aves acometidas e em 1993, no mesmo estado, a doença foi notificada em 64,26% dos focos, comprometendo 2.313 aves.

No ano de 1994 foram notificados 63 focos da DN acometendo 2.539 aves, sendo 1.010 no estado do Piauí, 650 aves no Paraná e o restante distribuído em seis outros estados da federação.

No período de 1995 a 1999 foram notificados 17 focos da doença de Newcastle acometendo 582 aves. Esse baixo número de aves acometidas nestes focos indica o comprometimento apenas de aves de fundo de quintal, ou seja, neste período não foi notificado foco da doença de newcastle em criações comerciais no Brasil.

No ano de 1997, o episódio do isolamento do VDN no estado de São Paulo, em avestruzes importadas dos Estados Unidos e da Namíbia, não foi considerado foco da doença. Da mesma forma, em 1999 no estado do Paraná foi isolado VDN de aves exóticas importadas, principalmente psitacídeos e palmípedes, e também não foi considerado foco nacional, por se tratar de aves importadas. Em ambas as ocorrências, todas as aves importadas e possíveis contatos foram sacrificados e destruídos para evitar a disseminação do VDN.

Nos anos de 2000 e 2001 ocorreram episódios isolados da doença nos estados do Rio de Janeiro e Goiás, respectivamente, onde foram realizadas todas as medidas de eliminação dos focos, que em ambas as situações, não se caracterizaram como áreas de produção comercial.

**Tabela 2** - Morbidade e mortalidade verificadas nos focos da doença de Newcastle no Rio de Janeiro (2000) e em Goiás (2001).

<b>Estado</b>	<b>Susceptível</b>	<b>Morbidade</b>	<b>Mortalidade</b>	<b>Destruídos</b>
Goiás	3.414	773	770	2.644
Rio de Janeiro	76.500	1.400	1.400	75.100
Total	79.914	2.173	2.170	77.744

No estado do Rio de Janeiro (2000), foram notificados três focos no município de São José do Vale do Rio Preto. Tratava-se de pequenas propriedades de frango de corte, não vinculadas ao sistema de integração com a indústria, tendo como finalidade o abastecimento do mercado local. A região de ocorrência dos focos se caracteriza por áreas montanhosas e rios, sendo estes fatores limitantes à disseminação do vírus para outras regiões. Neste episódio, foi identificado o vírus da doença de Newcastle, APMV-1, com índice de patogenicidade intracerebral de 1,66 e 1,69.

Em maio de 2001, foram registrados três focos, no município de Nova Roma - GO. Os focos ocorreram em propriedades rurais de subsistência sem expressão comercial, localizadas em região de assentamento de trabalhadores sem terra. A avicultura industrial de expressão comercial de exportação de frango de corte no Estado de Goiás está localizada no município de Rio Verde a 619km e no Distrito Federal distante 242km, da área afetada. O agente identificado foi o vírus da doença de Newcastle, APMV-1, com índice de patogenicidade intracerebral de 1,61.

Em ambas, as situações de emergência, foram adotadas todas as medidas previstas na legislação sanitária brasileira, pela Portaria SDA nº 183/94, e as preconizadas nas normas internacionais, estabelecidas pelo Código Zoossanitário Internacional, da OIE.

No ano de 2006, a doença de Newcastle foi diagnosticada em três locais equidistantes no Brasil, sendo identificada em Vale Real, no estado do Rio Grande do Sul, em aves de fundo de quintal em Manaus (AM), em pato doméstico e em Lambari D'Oeste, no estado de Mato Grosso, em aves de fundo de quintal. Por se tratar de isolamento viral em aves não comerciais e a atuação nos focos seguirem o preconizado pelas normas internacionais, o Brasil não sofreu restrições comerciais.

Vale ressaltar que até o ano de 1996, a maioria dos focos da doença de Newcastle notificados ao Ministério da Agricultura, não foram realizados diagnósticos laboratoriais e confirmativos, sendo notificados apenas com base nas suspeitas clínicas e isolamento viral sem a respectiva caracterização do agente e, portanto, em alguns dos focos notificados, o VDN patogênico poderia não estar presente.

## **Difusão**

A transmissão do VDN por contato através de produtos contaminados ou por aerossóis de aves

infectadas é uma das principais formas de difusão do agente da DN. Aves apresentando sintomas respiratórios excretam vírus em aerossóis que podem ser inalados por aves susceptíveis. Da mesma forma, como esse vírus também se replica em células epiteliais do trato digestivo, pode ser difundido por fezes contaminadas, através da sua ingestão direta ou indiretamente através da ingestão de ração ou água contaminada ou ainda pela inalação de pequenas partículas produzidas pelas fezes secas.

Alguns animais, principalmente pequenos roedores, insetos e artrópodes, os quais transitam entre aves infectadas e aves susceptíveis, podem representar um potencial para a difusão da DN, transmitindo mecanicamente o vírus.

O movimento de pessoas com seus calçados, roupas e veículos e o transporte de equipamentos entre granjas contaminadas e susceptíveis foi o método de difusão mais importante na Califórnia, durante a segunda grande panzootia.

Devido a elevada resistência do VDN à temperatura de congelamento, o comércio de produtos e subprodutos de aves abatidas para consumo, durante surtos da doença, merece destaque na difusão da DN quanto a comercialização entre regiões e ou países.

Ainda, subprodutos de aves infectadas e utilizadas como matérias primas para rações têm sido um método comum de difusão do vírus. Durante a terceira grande panzootia, dados epizootiológicos confirmaram que a maioria dos surtos que ocorreu na Inglaterra estava diretamente ligada à ração originada de fábricas que eram habitadas por populações de pombos infectados. Este episódio deixou claro que as fábricas de ração devem investir em biossegurança para evitar a presença não apenas de pombos, mas de qualquer tipo de ave que poderá servir de vetor do VDN.

Até o momento, não existe comprovação científica de que o VDN possa ser difundido por meio de ovos de galinhas infectadas. Por outro lado, a infecção e morte do embrião podem ocorrer durante os primeiros quatro ou cinco dias de incubação de ovos naturalmente infectados.

## Evolução da doença

O período de incubação do VDN pode ser de até 15 dias, com média de 2 a 6 dias. Em galinhas susceptíveis, o surto da DN pode ser extremamente severo onde 100% das aves afetadas morrem em até 72 horas sem apresentar qualquer sinal clínico. Pombos podem apresentar mortalidade de até 80%, enquanto que canários geralmente apresentam doença branda com baixa mortalidade e a perdiz (*Rhynchotus rufescens*) não apresenta sinais clínicos, nem mortalidade quando infectadas experimentalmente com VDN patogênico. O mesmo pode ocorrer com a codorna (*Coturnix japonica*) e com o marreco de Pequim (*Anas platyrinchos*), porém, estas espécies quando infectadas são capazes de difundir o VDN para galinhas SPF.

Geralmente não existe infecção persistente em aves domésticas. Em psitacídeos podem desenvolver uma infecção crônica a nível renal com potencial de eliminação de partículas virais por longo período.

## Patologia

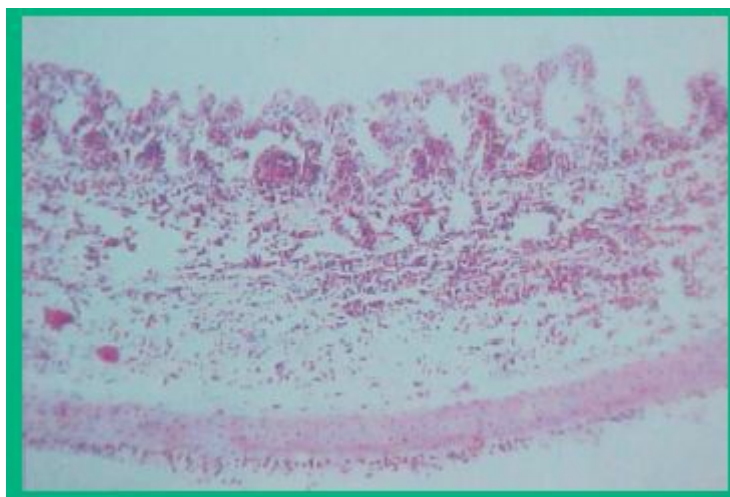


Não existem lesões patognomônicas para qualquer uma das formas da doença de Newcastle. Vírus que apresentam baixa patogenicidade produzem infecções clinicamente inaparentes com ausência ou o mínimo de lesões, enquanto que outros patótipos produzem sinais clínicos variados da doença.

Estirpes patogênicas do VDN podem causar anorexia, depressão, respiração acelerada, descarga nasal e ocular, conjuntivite, rinite, estertor, dispneia, ataxia, convulsões e tremores em todas as idades de aves e uma acentuada queda na produção de ovos. À necrópsia podem ser observados edema da cabeça, região do pescoço, peritraqueal e entrada do tórax, hemorragias e ulcerações na laringe, turvação dos sacos aéreos e inflamação da traquéia, culminando com destruição do epitélio traqueal e hemorragia. Frequentemente são observadas hemorragias no coração e aumento do volume do saco pericárdio. No trato digestivo, hemorragias petequiais na mucosa do proventrículo e no intestino são frequentemente observadas. Nesse último órgão, as vezes observa-se hemorragia na sua luz e até inflamação acentuada na mucosa da cloaca. Na maioria dos casos observa-se diarreia verde brilhante ou sanguinolenta. Ainda pode ocorrer peritonite sero-fibrinosa e petéquias no peritônio. Sinais nervosos marcantes como torcicolos, tremores e paralisias das pernas e asas usualmente ocorrem após os outros sinais clínicos serem observados e frequentemente terminam em morte.

Lesões microscópicas podem variar consideravelmente e também podem apresentar pequeno valor no diagnóstico da DN. O patótipo mais patogênico do VDN pode causar lesões necróticas acompanhada de hemorragia na maioria dos órgãos infectados. Quando ocorre envolvimento do trato respiratório, podem ser observadas inflamação, infiltrado celular e hemorragia na traquéia e as vezes lesões proliferativa e exsudativa nos pulmões. Na forma mais branda da doença, pode-se observar infiltração linfocitária nos sacos aéreos, pulmões e traquéia. Quando observamos sinais clínicos nervosos, o exame microscópico do sistema nervoso central apresenta degeneração neuronal, agregado perivascular de células linfocíticas e proliferação das células endoteliais.

A mortalidade com as estirpes patogênicas pode rapidamente exceder a 90% em galinhas e perus, porém, em algumas espécies de aves silvestres, como: maynas, lories, perdiz, codorna, avestruz e a maioria dos psitacídeos e aves domésticas, como: patos e gansos, a infecção pode não apresentar qualquer sintomatologia.



**Figura 1** - Traqueíte - lesões hemorrágicas e edema de submucosa em galinha infectada com o vírus da doença de Newcastle.

## Diagnóstico

O isolamento viral e a posterior caracterização é o único método seguro de diagnóstico da doença de Newcastle.

## Sinais clínicos

Os sinais clínicos descritos para a DN são muito parecidos ou idênticos a outras enfermidades infecciosas, como: bronquite infecciosa, laringo- traqueíte, coriza, doença crônica respiratória, dentre outras, que causam principalmente sintomas digestivos e respiratórios, indistinguíveis da DN, portanto, sinais clínicos isoladamente não apresentam uma base confiável para o diagnóstico da DN.

As estirpes dos vírus da doença de Newcastle podem ser agrupadas em patótipos com base nos sinais clínicos em galináceos. No entanto, outros fatores também são importantes para estabelecer a patogenicidade do virion da DN. Além dos galináceos, infecções de outras espécies, idade, estado imune, co-infecção com outros agentes, estresse, via de exposição e dose do vírus podem ser importantes no estabelecimento da patogenicidade.

A doença causada por uma amostra de vírus extremamente patogênica pode aparecer repentinamente, culminando com alta mortalidade, às vezes, na ausência de outros sinais clínicos. Surto com o patótipo Velogênico Viscerotrópico do VDN iniciam-se com apatia, alterações respiratórias, debilidade, finalizando com prostração e morte. Pode ainda ocorrer edema ao redor dos olhos e da cabeça. Diarréia esverdeada é freqüentemente observada em aves no início da infecção e anteriormente à morte. Em aves susceptíveis a mortalidade freqüentemente chega a 100%.

As aves acometidas por vírus velogênicos neurotrópicos apresentam doença respiratória severa, acompanhada por sinais neurológicos. A produção de ovos reduz drasticamente. A morbidade pode chegar a 100%, mas a mortalidade é, geralmente, próxima de 50% em aves adultas e de até 90% em aves jovens.

As amostras mesogênicas do VDN usualmente causam doença respiratória em campo. Em aves adultas, observa-se marcante redução da produção de ovos que pode estender-se por semanas. Sinais nervosos podem ocorrer, mas não são freqüentes. A mortalidade apresenta-se baixa, exceto em aves susceptíveis e ou aves que apresentam infecções concomitantes.



**Figura 2** - Torcicolo, sintoma nervoso da doença de Newcastle.

A infecção de algumas espécies de aves silvestres com vírus patogênicos pode não mostrar qualquer sintomatologia clínica, porém, essa espécie animal pode difundir o VDN para planteis susceptíveis.

Os vírus lentogênicos da DN não causam doenças em aves adultas. Em aves jovens, susceptíveis, uma doença respiratória branda à moderada pode ser observada, às vezes como resultado da infecção com uma amostra mais patogênica, como a amostra vacinal LaSota, ou estirpes cujo IPIC aproxima-se de 0,7, sendo agravada principalmente com infecções secundárias, podendo ocorrer mortalidade. A vacinação ou infecção de frangos de corte susceptíveis, dias antes do abate, com estas estirpes de vírus, pode levar a colisepticemia com aeros- saculite, resultando em condenações no abatedouro.

Na Dinamarca, durante o período de quarentena de avestruzes importadas, 18 de 76 aves de três a quatro meses de idade morreram sem apresentar sinais clínicos de doença e nenhuma das mortes foram relacionadas à doença infecciosa. Porém, uma estirpe do VDN altamente patogênico foi isolada de amostras de intestinos colhidas das carcaças. O mesmo quadro foi observado no Brasil, em 1997, durante a quarentena de avestruzes importadas da Namíbia e dos Estados Unidos, onde o VDN patogênico foi isolado de aves saudáveis, sem apresentar qualquer sintomatologia da doença.

## **Infecção experimental**

A progressão e o resultado de infecções experimentais envolvendo o APMV-1 diferem em várias espécies de aves domésticas e silvestres. Esses resultados variam principalmente com a idade, o estado imune, com a via de inoculação, dose do inoculo e o ambiente, se a inoculação experimental ocorreu em ambiente aberto ou em ambiente controlado (salas, cabines ou isoladores).

Galinhas e perus susceptíveis, em inoculações experimentais com vírus patogênico, podem apresentar mortalidade de 100%, às vezes, sem apresentar qualquer sintomatologia da doença. Esse mesmo patotipo pode apresentar baixo ou nenhuma mortalidade em palmípedes, pombos, psitacídeos e algumas espécies de passeriformes.

Aves como maynas e canários, inoculadas com VDN patogênico não apresentaram qualquer sintomatologia da doença, mas a taxa de mortalidade foi de 21%.

Em avestruzes, dois grupos de aves com 14 meses de idade foram inoculados com VDN patogênico, sendo um deles inoculado via intravenosa com  $10^9$  DLE<sub>50</sub> e o outro, via oral com  $2 \times 10^9$  DLE<sub>50</sub>. Apenas o grupo de aves inoculadas via intravenosa apresentou tosse produtiva, depressão e mortalidade de 25%. O grupo de aves inoculadas via oral não foi observado qualquer sinal clínico de doença, nem mortalidade e as aves apresentaram baixo nível de anticorpos contra o VDN. No Brasil, resultados de um experimento envolvendo avestruzes de dois meses de idade, inoculados com VDN patogênico e mantidos em isoladores, com ambiente controlado, comprovou que esta espécie animal é resistente a infecção experimental. Não foi observada qualquer sintomatologia clínica, nem mortalidade. Aves SPF que coabitaram o mesmo ambiente não se infectaram e não apresentaram qualquer sintomatologia clínica e/ou mortalidade.

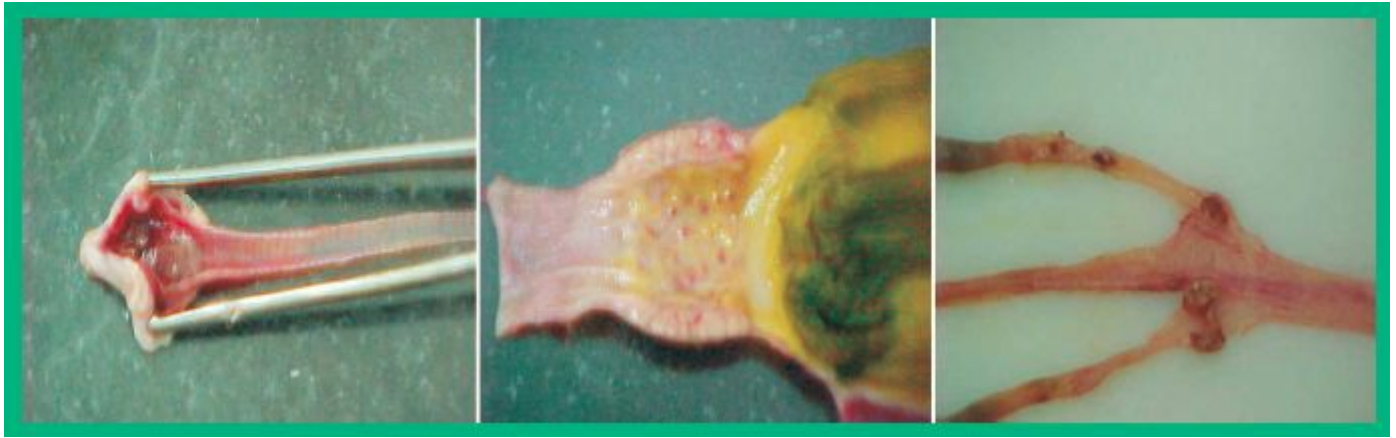
Em perdizes inoculadas experimentalmente em isoladores com  $108,0$  DLE<sub>50</sub> de VDN patogênico via oral, não apresentou qualquer sintomatologia nem mortalidade, mas o virion foi reisolado até 12 dias após a inoculação. Aves SPF que coabitaram o mesmo ambiente, se infectaram e morreram, apresentando lesões sugestivas da doença, demonstrando o caráter de portador das perdizes. Nesta mesma linha de pesquisa, outras espécies de aves foram investigadas com o objetivo de avaliar o estado de portador do VDN. Assim, a galinha d'angola, o pato, a codorna e o marreco doméstico mostraram-se resistentes ao desafio experimental com vírus patogênico da DN, sem apresentar qualquer sintomatologia ou mortalidade, entretanto, o VDN pode ser reisolado das suas fezes. Da mesma forma, estes vírus infectaram as aves SPF que coabitaram o mesmo ambiente e morreram. Desse modo, ficou evidenciada a importância dessas aves (perdiz, codorna, pato, galinha d'angola e marreco de Pequim) do ponto de vista epidemiológico, como fonte disseminadora do VDN para aves SPF conviventes, decorridos até 13-15 dias da infecção experimental com este patógeno. Outro aspecto relevante foi a caracterização da importância da vacinação na supressão do estado de portador do VDN dessas aves pesquisadas.

É pertinente notar que o esclarecimento de importantes aspectos epidemiológicos da DN, entre eles, o papel representado pelas espécies de aves estudadas (perdiz, codorna, pato, galinha d'angola e marreco de Pequim) como fonte de infecção de VDN para aves domésticas conviventes, abre novas fronteiras para investigação dessa enfermidade em outras espécies aviárias domésticas, semi-domésticas, silvestres, exóticas ou migratórias, em confinamento ou não.

## Amostras para isolamento viral

O isolamento viral e a posterior caracterização é o único método seguro de diagnóstico da DN. Portanto, quando um lote apresentar doença respiratória e ou digestiva severa acompanhada de alta mortalidade e lesões sugestivas da DN, é necessário tentar isolamento viral de aves mortas recentemente ou de aves apresentando sintomatologia. Amostras de aves mortas poderão consistir de suabes oro-nasais, assim como de amostras colhidas à necropsia, como pulmão, rins, intestinos (incluindo conteúdo), proventrículo, baço, cérebro, fígado e coração. Esses materiais podem ser colhidos separadamente ou em pool, onde amostras procedentes de intestinos e proventrículo (materiais mais contaminados) são usualmente processadas separadas dos outros

materiais.



**Figura 3** - Infecção do vírus da doença de Newcastle em galinhas. Lesões em traquéia, proventrículo e ceco e tonsila cecal.

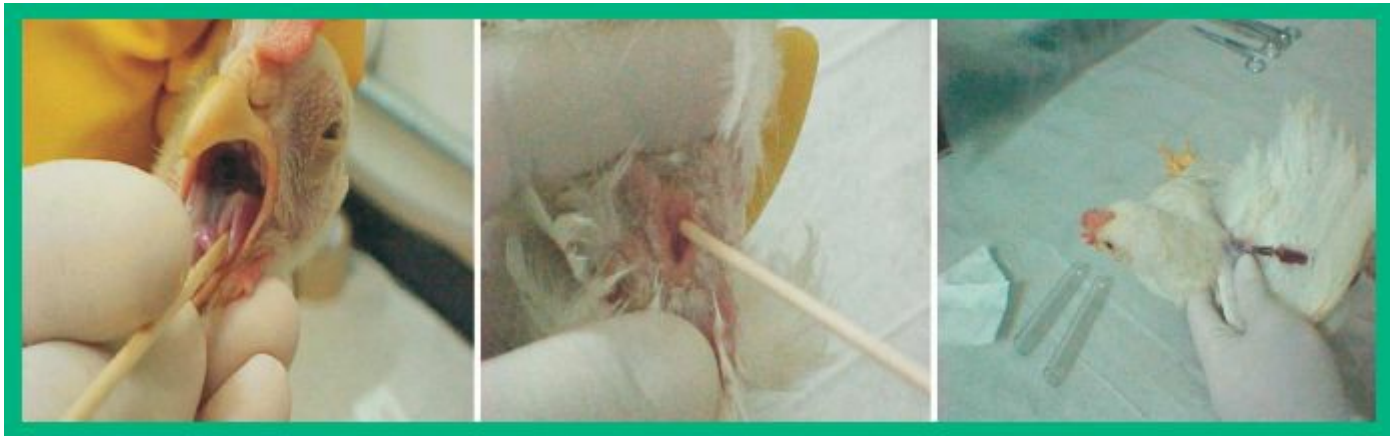
Amostras de aves vivas devem incluir suabes traqueais e cloacais, que deve apresentar conteúdo fecal. Em aves delicadas, de pequeno porte, que podem morrer durante a colheita de suabe, fezes frescas pode ser uma alternativa adequada.

As amostras colhidas para diagnóstico da DN devem ser colocados em solução salina tamponada (PBS), com pH 7,0 a 7,4, contendo antibióticos. As concentrações dos antibióticos devem variar de acordo com as condições locais, mas pode ser por exemplo: penicilina (2.000UI/ml); estreptomicina (2mg/ml), gentamicina (50mg/ml) e micostatina (1.000UI/ml) para tecidos e suabes traqueais, deve apresentar concentrações cinco vezes maiores para fezes e suabes cloacais. É importante ajustar o pH para 7,0 a 7,4 após a adição dos antibióticos. Fezes e tecidos devem ser colocados obedecendo à quantidade de 10 a 20% em relação à quantidade da solução de antibiótico. Se o material colhido não for processado de imediato (até uma a duas horas após a colheita), esse pode ser mantido a 4°C por até quatro dias, ou ser congelado a -20°C por um período indeterminado.

## Cultura viral

Os tecidos devem ser picotados em finas partículas e macerados. A seguir, esse material e também os materiais de fezes devem ser clarificados por centrifugação em 1.000g por aproximadamente 10 minutos. Esse procedimento pode ser realizado até a temperatura ambiente, desde que a temperatura não exceda 25°C, e o sobrenadante deve ser colhido e armazenado sob refrigeração por até quatro dias, quando então, uma quantidade entre 0,1 à 0,3ml deve ser inoculado na cavidade alantóide de no mínimo cinco ovos SPF embrionados de 9 a 11 dias de incubação. Após a inoculação, os ovos devem ser incubados a 35 a 37°C por um período de quatro a sete dias. Os ovos devem ser avaliados diariamente e os Ovos contendo embriões mortos durante as primeiras 24 horas devem ser descartados. Os ovos contendo embriões mortos e todos aqueles que permanecerem vivos até o período final de incubação devem ser resfriados a 4°C por no mínimo quatro horas e o líquido alantóide de cada ovo deve ser testado quanto a sua atividade hemaglutinante. Fluidos alantóides que apresentarem resultado negativo devem ser colhido (podendo ser em pool de cada material) e inoculado em mais uma série de ovos SPF. O material

suspeito somente poderá ser considerado como negativo após três passagens consecutivas em ovos SPF e em todas elas não se observar atividade hemaglutinante.



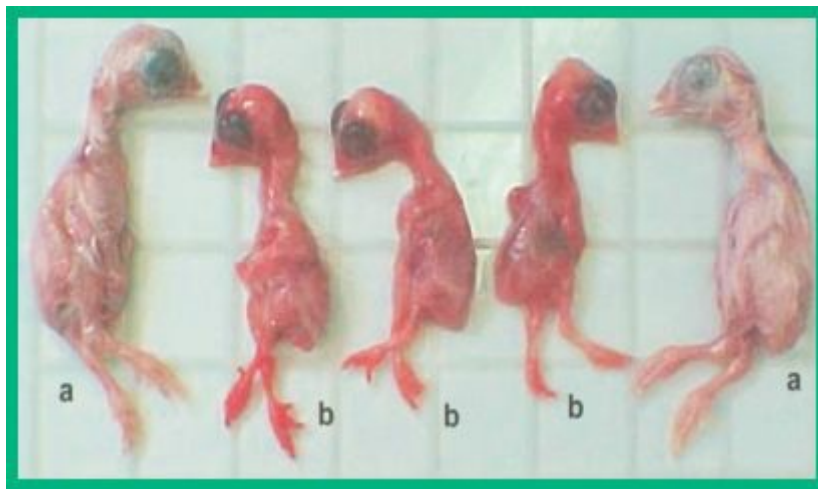
**Figura 4** - Colheita de material em ave viva. Suabe de traquéia, suabe de cloaca e colheita de sangue.



**Figura 5** - Necropsia e colheita de órgãos de origem respiratória, digestiva e outros utilizados na pesquisa viral. Detalhes do acondicionamento dos materiais em soluções de antibióticos específicos para cada grupo de órgãos.

## Identificação viral

A atividade hemaglutinante pode ser causada por bactérias presentes ocasionalmente no líquido alantóico. Esta contaminação deve ser confirmada por culturas bacteriológicas. Se há presença de contaminação bacteriana, o líquido alantóico deve ser filtrado com uma membrana de 450nm e ou tratado com antibióticos, antes de sua re- inoculação nos ovos embrionados.



**Figura 6** - (a) Embriões controles não inoculados. (b) Embriões de 13 dias mortos após a inoculação com vírus da doença de Newcastle - Observar lesões hemorrágicas.

A atividade hemaglutinante de líquido alantóide estéril para bactéria pode ser devido a presença de um dos 15 subtipos hemaglutinantes do vírus da influenza A (Orthomyxovirus) ou de um dos oito sorotipos de parainfluenzavirus aviários hemaglutinantes.

Vale lembrar que o APMV-5 não é hemaglutinante, entretanto, a sua identificação deve ser realizada através do teste de neutralização viral com anti-soro de referência.

O vírus da doença de Newcastle pode ser confirmado através do uso de anti-soro específico no teste de inibição da hemaglutinação ou no teste de neutralização viral. Usualmente é utilizado anti-soro preparado em galinhas SPF com uma estirpe vacinal do VDN.

No teste de HI podem ocorrer reações cruzadas principalmente entre o APMV-1 e o sorotipo APMV- 3. Para sua interpretação há necessidade de se trabalhar com antígenos padrões e antissoros, positivo e negativo, controles.

## Índices de patogenicidade

A grande variação na virulência dos diferentes isolados do VDN aliada ao uso frequente de vacinas vivas indica que o isolamento de um VDN de aves apresentando ou não sintomas clínicos, não confirma o diagnóstico da doença de Newcastle. Dessa forma, deve-se avaliar o índice de patogenicidade da estirpe isolada (definição de doença de Newcastle). Alguns pesquisadores estão desenvolvendo testes *in vitro* para analisar a base molecular de patogenicidade do VDN, mas ainda hoje a avaliação da patogenicidade é baseada em pelo menos um dos seguintes testes *in vivo*: IPIC (conforme a definição da doença de Newcastle), TMME e IPIV.

## Índice de patogenicidade intracerebral (IPIC)

A partir do líquido alantóico infectivo, com título em HA maior que 24 (1:16), deve ser diluído a 1:10 em salina isotônica estéril, sem aditivos, e a partir daí, inocular 0,05ml, pela via intracerebral, em 10 pintos SPF, de um dia de idade. Consideram-se pintos de um dia, pintos que tenham entre 24 e 40 horas de vida.

Deve-se examinar os pintos, a cada 24 horas, por um período de oito dias. Em cada dia as aves devem receber uma das seguintes pontuações: pintos saudáveis = 0; pintos doentes = 1; pintos mortos = 2.

As aves mortas devem receber pontuação 2, diariamente após a morte, até o final teste.

O índice IPIC é a pontuação média recebida por ave, por dia, durante o período de oito dias.

Nas amostras do VDN mais patogênicas, este índice se aproxima de 2,0 enquanto para as estirpes vacinais, este índice se aproxima de 0,0.

É importante ressaltar que a definição mais recente da DN, é uma infecção de aves causada por um vírus do sorotipo Parainfluenzavirus aviário tipo 1 (APMV-

1) que apresente IPIC maior do que 0,7.

## Tempo médio de morte embrionária (TMME)

Após realizar diluições decimais, na faixa de  $10^{-6}$  a  $10^{-9}$  do líquido alantóico infectivo, em solução salina, inocular 0,1 ml, de cada diluição em no mínimo 5 ovos SPF embrionados, com 9 a 11 dias de incubação, pela via alantóide e incubar os ovos a 37°C.

Deixar uma amostra do mesmo líquido alantóico na geladeira (4°C) por oito horas e depois inocular 0,1ml de cada diluição em no mínimo cinco ovos da mesma idade e incubar a 37°C.

Os ovos devem ser observados durante sete dias, duas vezes ao dia, e os dados de mortalidade embrionária devem ser registrados.

A dose letal mínima é a maior diluição capaz de matar todos os embriões.

TMME é o tempo médio, em horas, para a dose letal mínima matar todos os embriões e se classifica em:

- **Velogênica** - menos de 60 horas para matar.
- **Mesogênica** - entre 60 e 90 horas para matar.
- **Lentogênica** - mais de 90 horas para matar.

## Índice de patogenicidade intravenosa (IPIV)

Este índice é calculado a partir da inoculação intravenosa em frangos SPF, com seis semanas de idade.

São inoculados 10 aves por via intravenosa com 0,1ml do líquido alantóico infectivo, com título de HA maior que 24 (1:16), diluído a 1:10 em salina isotônica estéril isenta de aditivos.

Devem-se examinar as aves, a cada 24 horas, por um período de 10 dias. Em cada dia as aves devem receber uma das seguintes pontuações: ave saudável = 0; ave doente = 1; ave parálitica =



2; ave morta = 3.

As aves mortas devem receber pontuação 3, diariamente após a morte, até o final teste.

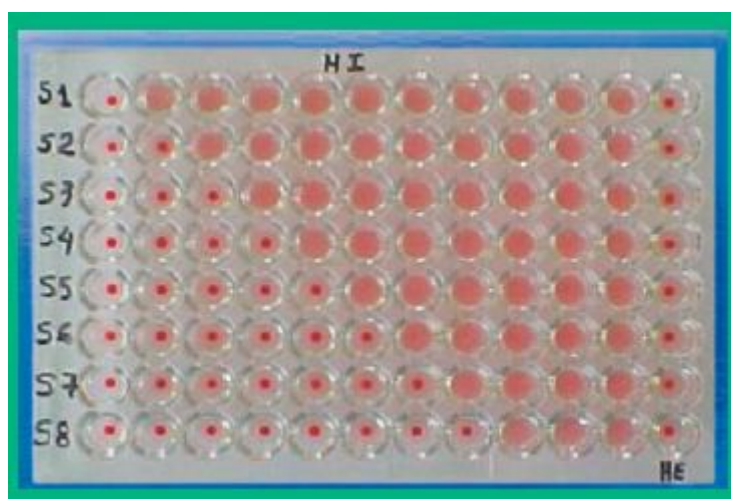
O índice IPIV é a pontuação média recebida por ave, por dia, durante o período de 10 dias. Amostras lentogênicas e algumas mesogênicas apresentam IPIV zero, enquanto que amostras patogênicas o IPIV se aproxima de 3.0.

## Testes sorológicos

Em áreas onde não se utilizam programas de vacinação, e ou, em áreas onde a DN estão erradicada, os testes sorológicos podem ser utilizados como meio de diagnóstico, visto que dificilmente reações positivas serão inespecíficas, porém os resultados positivos podem não indicar doença, mas sim infecção com o VDN.

O VDN pode ser empregado como antígeno em uma ampla variedade de testes sorológicos, neutralizações e no ELISA. Até o momento, o teste de HI é o mais utilizado. Neste teste o soro de galinha raramente apresenta reação inespecífica positiva e não há necessidade de realizar tratamento prévio do soro. Soros de outras espécies às vezes podem causar hemaglutinação de hemácias de galinhas, portanto esta propriedade deve ser inicialmente removida pela inativação a 56°C por 30 minutos e por meio da adsorção do soro com hemácias de galinhas. Isto é feito através da adição de 0,025ml de hemácia de galinha concentrada para cada 0,5ml de anti-soro, agitar levemente e deixar em repouso por 30min; após, a solução deve ser centrifugada a 800g por 2 a 5min e o soro adsorvido colhido.

Variações nos procedimentos para os testes de HA e HI ([Figura 7](#)) podem estar sendo realizados em diferentes laboratórios. A seguir será descrito uma metodologia aceita internacionalmente onde os resultados podem ser comparáveis. Deve-se utilizar microplacas com 96 cavidades, com fundo em "U" ou em "V" onde o volume final para ambos os testes é 0,075ml. Os reagentes necessários para esse teste são solução salina isotônica - PBS (0,1M), pH 7,0-7,2 e hemácias colhidas de no mínimo três aves SPF, utilizando-se como anticoagulante solução de Alsever. Na impossibilidade de colher sangue de aves SPF, pode-se utilizar galinhas não vacinadas, monitoradas regularmente e que se apresente livres de anticorpos para o VDN. A suspensão de hemácias deve ser lavada três vezes em PBS antes do uso, na concentração de 1%. Devem-se utilizar controles positivos e negativos do antígeno e do anti-soro para validar o teste.



**Figura 7** - Teste de Inibição da Hemaglutinação (HI).

## Teste de hemaglutinação (HA)

- a)** Colocar 0,025ml de PBS em cada uma das cavidades da microplaca a ser utilizada.
- b)** Colocar 0,025ml da suspensão do vírus a ser testado (antígeno inativado ou líquido alantóide infectivo) na primeira cavidade de uma fileira. Para determinar a quantidade do conteúdo hemaglutinante, deve-se realizar diluições seriadas com pipeta de 0,025ml até a última cavidade da fileira.
- c)** Colocar 0,025ml de solução de hemácia a 1% em cada uma das cavidades da microplaca.
- d)** A solução é misturada agitando-se a microplaca lentamente. A leitura é realizada após 40 minutos a temperatura ambiente (20°C) ou após 60 minutos a temperatura de refrigeração (4°C), quando então as hemácias das cavidades controles já depositaram formando botão.
- e)** O título de HA é determinado deitando-se a microplaca e observando a presença ou ausência de "lágrima" escorrendo. O título deve ser atribuído a maior diluição que apresenta hemaglutinação completa. Essa diluição representa uma unidade hema- glutinante (1 UHA).

## Teste de inibição da hemaglutinação (HI)

- a)** Colocar 0,025ml de PBS em cada uma das cavidades da microplaca a ser utilizada.
- b)** Colocar 0,025ml de soro, a ser testado, na primeira cavidade de cada fileira.
- c)** Realizar diluições seriadas com pipetas de 0,025ml até a última cavidade da fileira.
- d)** Adicionar 4 UHA do antígeno inativado ou líquido alantóide infectivo em 0,025ml em cada uma das cavidades em teste e manter a microplaca por 30 minutos a temperatura ambiente (20°C) ou após 45 minutos a temperatura de refrigeração (4°C).
- e)** Após, adiciona-se 0,025ml da solução de hemácia a 1% em cada uma das cavidades da microplaca.

- f)** A solução é misturada agitando-se a microplaca lentamente. A leitura é realizada após 40 minutos a temperatura ambiente (20°C) ou após 60 minutos a temperatura de refrigeração (4°C), quando então as hemácias das cavidades controles já depositaram formando botão.
- g)** O título de HI é a maior diluição do soro capaz de causar inibição completa das 4 UHA do antígeno. Somente as cavidades que apresentarem botão de hemácias iguais às cavidades controles devem ser consideradas.
- h)** A validação do teste deve ser comparada com os resultados do soro controle negativo, que não pode apresentar título superior a 22 (1:4) e o controle positivo para qual o título pode apresentar-se com uma diferença de até uma diluição do título conhecido.

A sorologia no diagnóstico da DN está relacionada a avaliação do estado imune das aves que tiveram contato com o VDN, seja ele vacinal ou patogênico. Título de HI pode ser considerado positivo se apresentar título a partir de 1:16 (24) contra 4 UHA do antígeno. Alguns laboratórios preferem utilizar 8UHA no teste de HI. Quando se utiliza essa quantidade, a interpretação dos resultados deve ser alterada, portanto, têm-se títulos positivos a partir de 1:8 (23).

Existe uma variedade de kits comerciais de ELISA disponíveis no mercado e eles são baseados em diferentes estratégias para a detecção de anticorpos para o VDN, incluindo entre eles o sistema de ELISA indireto, "sanduíche" e o competitivo utilizando anticorpos monoclonais. Nesse último kit uma subunidade antigênica é utilizada. Usualmente cada teste foi avaliado e validado pelo laboratório produtor, portanto é muito importante que as instruções especificadas pelo fabricante sejam cuidadosamente seguidas.

## Controle e prevenção

A principal estratégia de controle da DN é a interdição de qualquer propriedade com foco da DN e a destruição dos produtos infectados ou expostos para remover as formas mais ativas de difusão do VDN. Isso é feito em associação com a quarentena e controle do trânsito de animais, para conter o vírus, descontaminação para remover qualquer vírus remanescente, vigilância para determinar a extensão da infecção e zoneamento para definir as áreas infectadas e livres da doença.

Quando se suspeita de foco de doença de Newcastle, deve-se inicialmente entrar em contato com um veterinário especialista em aves ou um veterinário oficial que deverá notificar ao Serviço de Defesa Sanitária Animal do Município/Estado, com a maior brevidade possível.

No Brasil, o Ministério da Agricultura possui um laboratório de referência para a doença de Newcastle, cuja principal responsabilidade é dar o diagnóstico definitivo de doença de Newcastle. Esse laboratório possui estrutura adequada de biossegurança com isoladores que podem trabalhar com pressão negativa e/ou positiva, onde são realizados todos os testes de caracterização viral.

Aliada às medidas de biossegurança que as granjas devem possuir, a vacinação é o instrumento mais eficiente no controle da doença de Newcastle.

Para implementar um programa de vacinação, existem algumas considerações que devem ser feitas, como:

### *Qual é o nível de imunidade materna das aves?*

Altos níveis de anticorpos maternos podem interferir com a vacinação. Porém essa vacinação resulta no desenvolvimento de imunidade local protetora, enquanto o desenvolvimento de altos níveis de anticorpos circulantes, pode estar deprimido. Para DN, a meia vida dos anticorpos maternos é de quatro a cinco dias e títulos de anticorpos maternos acima de 1:8 interfere com a primeira vacinação. Dessa forma o conhecimento do estado imune materno do lote é muito importante para planejar um programa de vacinação.

### *Qual é a possibilidade de desafios com vírus patogênicos na região?*

Aves de corte criadas em regiões de baixo desafio (ou ausência) podem não receber vacinação contra DN (opção que poderá colocar em risco o estado sanitário da região e do Estado), ou receber uma única dose a partir do primeiro dia de vida. Porém onde a pressão de desafio é grande, as aves de corte devem receber mais de uma dose vacinal durante o seu ciclo de vida. Em alguns países, onde a presença de vírus patogênico é marcante, as aves recebem mais de uma e até três doses de vacina contra DN, sendo uma delas, vacina inativada.

### *Qual estirpe vacinal é mais indicada?*

Algumas estirpes vacinais não são indicadas para aves jovens. Outras não são apropriadas para serem administradas pela via spray. Deve-se saber ainda qual é a eficiência da estirpe vacinal para a via de administração escolhida. Para primeira vacinação as estirpes B1, Ulster ou VG-GA pode ser uma das utilizadas. A estirpe LaSota, por ser mais patogênica, deve ser utilizada para segunda vacinação.

### *Qual é a via de vacinação mais eficiente?*

A via de vacinação mais eficiente é aquela onde pelo menos 80% das aves receberam uma dose vacinal. As vias individuais, como ocular, nasal e injetável, são as que apresentam maior eficiência, porém em lotes muito grandes, tornam-se inviáveis a sua utilização, então, devem-se escolher métodos de vacinação em massa, como água de bebida ou spray. A vacinação deve ser muito bem executada para não ocorrer falhas.

### *Para que realizar monitoraria sorológica do lote?*

A monitoria sorológica auxilia na montagem dos programas de vacinação. Um lote com altos títulos de imunidade materna, não deve ser vacinado com um dia de idade e sim a partir de quatro dias. Por outro lado em regiões com altos índices de desafios com vírus patogênicos, pode-se avaliar a necessidade da administração de mais alguma dose vacinal.

### *Quais doenças estão presentes no lote?*

Lotes infectados com *Mycoplasma gallisepticum* (MG) apresentam altos níveis de reação respiratória à vacinação. Aplicação da estirpe vacinal LaSota pelo método spray em lote positivo

para MG resulta em reações extremamente severas, inclusive com mortalidade.

## Vacinas

Desde o surto inicial da DN, estudos dirigidos para a prevenção e o controle da doença, através da vacinação têm sido realizados. Três estratégias de vacinação têm sido utilizadas: imunização com vírus atenuado, infecção com vírus manipulado para indução de doença suave e infecção com vírus naturalmente suave.

Inicialmente, os esforços foram concentrados para a produção de vacinas atenuadas, onde cepas do VDN, de alta patogenicidade, como a Herts 33, Mukteswar e Komarov, foram passadas sucessivamente em embriões de galinhas para produção de um vírus de baixa virulência. O principal problema com estas vacinas é que embora atenuadas, até certo ponto, elas ainda eram capazes de causar doença e alta mortalidade em aves susceptíveis. Mais tarde, a estirpe Roakin foi selecionada para ser utilizada como vacina viva, a qual foi amplamente usada nos EUA. Todavia, esta estirpe era demasiadamente patogênica e não podia ser administrada às aves com menos de quatro semanas de idade.

O problema foi superado pela seleção e uso de duas cepas naturalmente suaves, ou seja, B1 e LaSota, as quais poderiam ser administradas precocemente à pintos.

Com a evolução natural dos estudos imunológicos atinentes ao sistema Newcastle, abriram-se novas perspectivas no campo da imunoprofilaxia, especialmente com o advento de imunógenos vivos preparados com estirpes enterotrópicas, como a amostra Ulster, considerada avirulenta e uma cepa de laboratório isolada de perus com afinidade entérica, causando mínima reação vacinal, a amostra VG-GA.

No Brasil, 100% das vacinas produzidas ou importadas para o controle da DN são controladas pelo Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/ Campinas-SP, do Ministério da Agricultura.

Em um futuro próximo, vacinas manipuladas geneticamente já estarão disponíveis em todo o mundo, onde problemas com reações vacinais não serão mais evidentes.

## Vacinas e reações pós-vacinas

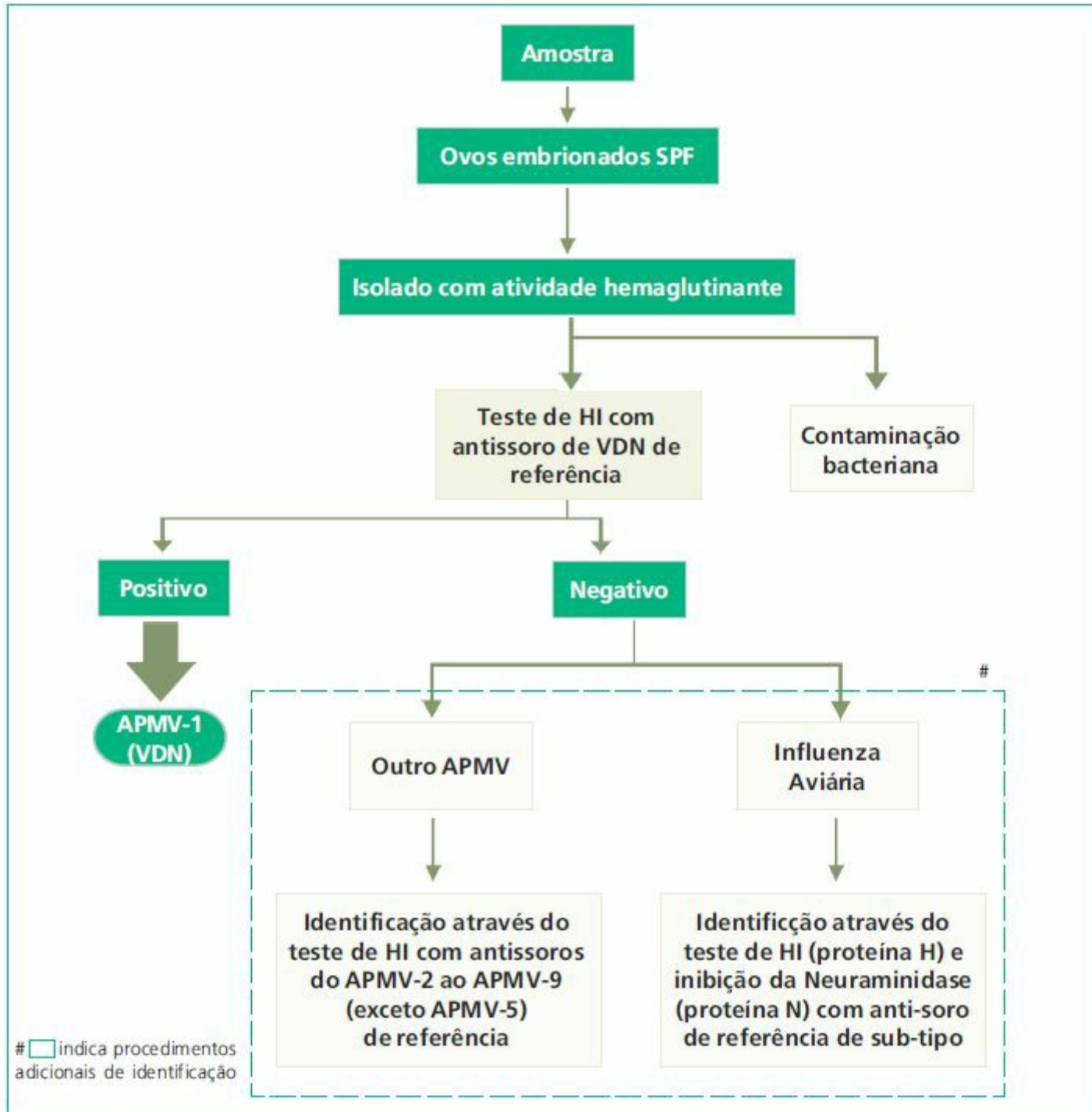
No Brasil, até recentemente, os esforços para a profilaxia da DN estavam orientados para a imunização ativa, mediante o emprego convencional de vacinas vivas de caráter lentogênico, sendo empregadas, sobretudo, as estirpes B1 e LaSota. Apesar de sua considerável eficácia comprovada por experimentação científica, este tipo de vacina tem a desvantagem de induzir reações respiratórias indesejáveis; ou quando se tem a presença de outros quadros respiratórios sub-clínicos que se exacerbam pelo estímulo vacinal.

Tais reações podem resultar em redução da taxa de crescimento, elevação do índice de mortalidade e aumento da susceptibilidade para colibacilose, conduzindo assim a um estrangulamento da produção avícola.

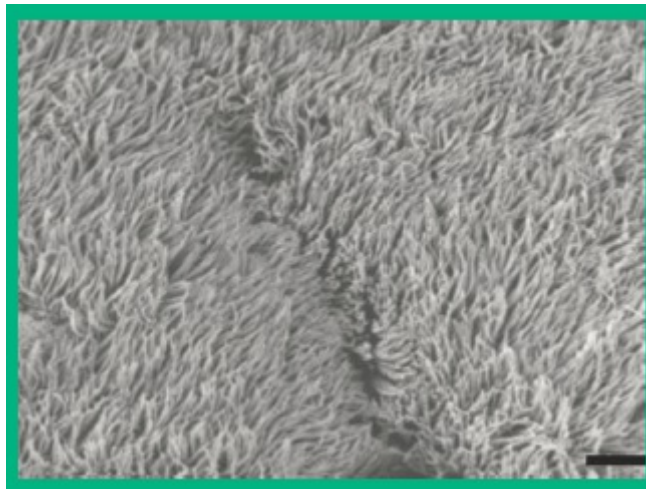
Por outro lado, das cepas vacinais enterotrópicas utilizadas no Brasil, a amostra Ulster é a única em que o ICPI é nulo (ICPI 0,0) e, por conseguinte, menos patogênica do que as estirpes vacinais B1 (ICPI 0,2) e LaSota (ICPI 0,4).

Em experimentos realizados na Universidade Estadual Paulista - UNESP - Campus de Jaboticabal (UNESP - FCAV), avaliou-se o efeito da administração das vacinas B1 e Ulster a pintos de corte (sétimo dia de vida), por três diferentes vias (ocular, oral e spray), onde os efeitos da replicação da cepa vacinal sobre o epitélio traqueal foram avaliados através da microscopia eletrônica de varredura.

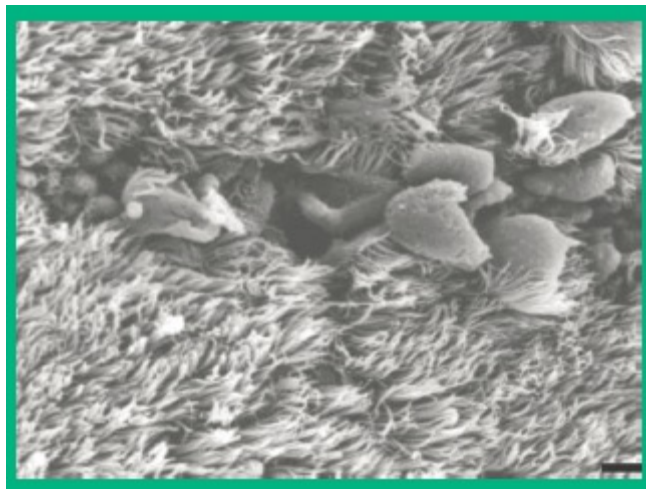
Os resultados obtidos com a utilização da cepa Ulster (**Figura 8**) mostraram-se semelhantes às obtidas com o grupo controle (**Figura 9**), onde somente uma descamação fisiológica aceitável, sem perda da função do tecido foi observada, enquanto que as aves que foram vacinadas com a cepa B1 (**Figura 10**) mostraram uma descamação epitelial marcante, onde regiões extensas do epitélio ciliado foram removidas.



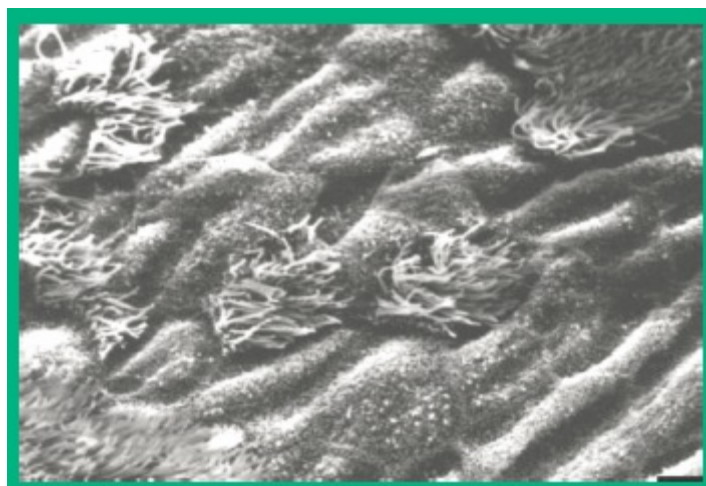
**Esquema 1** - Isolamento e identificação de material suspeito de doença de Newcastle.



**Figura 8** - Eletromicrografia de traquéia de pintos de corte, aos 12 dias de idade, decorridos cinco dias após a vacinação com a estirpe Ulster. A figura mostra epitélio ciliado íntegro. (Barra de escala =  $5\mu\text{m}$ ).



**Figura 9** - Eletromicrografia de traquéia de pintos de corte (Grupo controle - não vacinado), aos 12 dias de idade. A figura mostra epitélio ciliado com descamação fisiológica. (Barra de escala =  $5\mu\text{m}$ ).



**Figura 10** - Eletromicrografia de traquéia de pintos de corte, aos 12 dias de idade, decorridos cinco dias após a vacinação com a estirpe B1. A figura mostra área de descamação epitélial. (Barra de escala =  $5\mu\text{m}$ ).

Observações visando à produção de muco também foram analisadas, onde uma secreção normal



foi observada nos grupos controle e vacinada com a cepa Ulster. Nas aves vacinadas com a cepa B1, houve um maior estímulo à produção de muco, apresentando-se este mais denso, sendo observado inclusive agrupamentos de células caliciformes na região onde houve destruição do epitélio. Observou-se também que intensas áreas de células estavam cobertas por muco.

As lesões observadas na microscopia eletrônica de varredura justificam os sintomas clínicos apresentados pelas aves que receberam a cepa vacinal B1, como espirros e estertores, não sendo os mesmos observados nas aves controle e nas aves que receberam a cepa vacinal Ulster.

## Bibliografia

Abdul-Aziz TA, Arp LH. Pathology of the trachea in turkeys exposed by aerosol to lentogenic strains of Newcastle disease virus. *Avian Disease* 1983; 27:1002-11.

Abdul-Aziz TA, Arp LH. Progression of tracheal lesions in turkeys exposed by aerosol to LaSota strain of Newcastle disease virus. *Avian Disease* 1983; 27:1131-41.

Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. [Publicación Científica, 503]. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 1986.

Alexander DJ, Allan WH. Newcastle disease virus pathotypes. *Avian Pathology* 1974; 3:269-78.

Alexander DJ, Banks J, Manvell RJ, Frost KM, Speidel EC, Aldous EW. Antigenic and genetic characterisation of Newcastle disease viruses isolated from outbreaks in domestic fowl and turkeys in Great Britain during 1997. *Veterinary Record* 1999; 145(15):417-421.

Alexander DJ, Manvell RJ, Lowings JP, Frost KM, Collins MS, Russell PH, Smith JE. Antigenic diversity and similarities detected in avian parainfluenzavirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates using monoclonal antibodies. *Avian Pathology* 1997; 26:399-418.

Alexander DJ. A laboratory manual for the isolation and identification of *Avian Pathology*. 3rd ed. Dubuque, Iowa: Kendall/Hunt; 1989. p.225

Alexander DJ. Avian Parainfluenzaviruses. *The Veterinary Bulletin* 1980; 50(9):737-52.

Alexander DJ. Newcastle disease and other Avian Paramyxoviridae Infections. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. editors. *Diseases of poultry*. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.541- 569.

Alexander DJ. Newcastle disease and other parainfluenzavirus infections. In: Calnek BW. *et al.* *Diseases of poultry*. Ames: Iowa State University; 1991. p.496-519.

Alexander DJ. Newcastle disease, other paramyxoviruses and pneumovirus infections. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald DJ, Swayne DE. editors. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames: Iowa State Press; 2003. p. 63-100.

Alexander DJ. Newcastle disease: methods of spread. In: Alexander DJ. editor. *Newcastle*

disease. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1988. p.256-72.

Alexander DJ. Newcastle disease: OIE manual of standards for diagnostic tests and vaccines. Paris: OIE; 1992. Allan WH, Lancaster JE, Tóth B. Vacunas contra la enfermedad de Newcastle: su producción y empleo. Roma: FAO; 1980. 178p.

Allan WH. The problem of Newcastle disease. *Nature* 1971; 234:124-31.

Allwright D. Viruses encountered in intensively reared ostriches in southern Africa. Proceedings of improving our understanding of ratites in a farming environment Manchester; 1996; Oxford. P.27-33.

Bankowski RA. Respiratory disease complex of chicken in the United States. *British Veterinary Journal* 1961; 117:306-15. Beard CW, Easterday BC. The influence of the route of administration of Newcastle disease virus on host response. III.

Immunofluorescent and histopathological studies. *Journal of Infectious Disease* 1967; 117:66-70.

Beard CW. *et al.* Comparative efficacy of the B1 and VG-GA vaccine strains against velogenic viscerotropic Newcastle disease virus in chickens. **Avian Diseases** 1993; 37:222-25.

Beard CW, Hanson RP. Newcastle disease. In: Hofstad MS, Barnes HJ, Calnek BW, Reid WM, Yoder HW. Disease of poultry. 8th ed. Ames: Iowa State University; 1984. p.452-70.

Borland LJ, Allan WH. Laboratory tests for comparing live lentogenic Newcastle disease vaccines. **Avian Pathology** 1980; 9(1):45-59.

Brasil. Nota Técnica PNSA: Diagnóstico positivo para o vírus da Influenza aviária e doença de Newcastle em aves migratórias no município de Galinhos/RN. [cited: 2007 jul. 16]. Available from:

[www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/Page/Mapa/Menu\\_Lateral/Agroicultura\\_Pecuaria/Estudos](http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/Page/Mapa/Menu_Lateral/Agroicultura_Pecuaria/Estudos)

Brasil. Portaria Ministerial n. 182, 8 nov. 1994. Aprova as normas de credenciamento e monitoramento de laboratórios de diagnóstico da doença de Newcastle. Diário Oficial, Brasília, 1994.

Brasil. Portaria Ministerial n. 183, 8 nov. 1994. Aprova as normas técnicas para o controle e erradicação da doença de Newcastle. Diário Oficial, Brasília, 1994.

Brasil. Portaria Ministerial n. 193, 19 set. 1994. Institui o Programa Nacional de Sanidade Avícola e cria o Comitê Consultivo do programa. Diário Oficial, Brasília, 1994.

Butterfield WK, Dardiri AH, Yedloutischnig RJ. Protection of chickens afforded by commercial lentogenic vaccines against challenge exposure to velogenic Newcastle disease virus. *Avian Disease* 1973; 17(2):279-83.

Code of Federal Regulations. Animal and animal products. Washington: National Archives and Records Administration; 1993. 818p.

Cunha RG, Silva RA. Isolamento e identificação do vírus da doença de Newcastle no Brasil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária* 1955; 23:17-33.

Cunningham CH. *Virologia practica*. 6th ed. Zaragoza: Acribia; 1971. 260p.

Doretto Jr L, Orsi MA, Galletti MCM, Alves SM, Paulillo AC, Alexander DJ, Manvell RJ. Newcastle disease virus isolated from a imported ostrich (*Struthio camelus*) chicks flock in Brazil. *Avian Pathology*. In press 1999.

Doretto Jr L, Orsi MA, Galletti MCM, Alves SM, Paulillo AC, Alexander DJ, Manvell RJ. Isolation of Newcastle disease virus from two different imported ostrich (*Struthio camelus*) chicks flocks in Brazil. *Avian Pathology*. In press 1999.

Doretto Jr L, Paulillo AC, Santos JM, Silva GS, Berchieri Jr A. Utilização da Microscopia Eletrônica de Varredura na Avaliação da Reação Respiratória Pós-Vacinal em Epitélio Traqueal de pintos. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 1999; 1(2):149-52.

Doretto Jr L. Aspectos clínicos, zootécnicos e imunológicos da vacinação experimental em frangos de corte com as estirpes lentogênicas Ulster 2C e B1, do vírus da doença de newcastle [dissertação]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias; 1999.

Doretto Jr L. Caracterização antigênica e epizootiológica de estirpes do vírus da doença de Newcastle isoladas no Brasil [tese]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias; 2003.

Duee JP, Dieers R. Accident devaccination après utilization de la souche Hitchner B1 par nebulization.

Duncker HR. Structure of the avian respiratory tract. *Respiratory Physiology* 1974; 22:1-19.

Falcon M. Exotic newcastle disease. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 2004; 13(2):79-85.

Fassi-Fehri M. *et al.* Influence de l'age du mode d'administration et de la nature de la souche vaccinale sur l'immunisation de masse du poulet de chair contre la maladie de Newcastle. *Revue de Médecine Vétérinaire* 1985; 136(3):213-22.

Fauziah O, Purton MD, Solomon SE. Scanning electron microscopy of the respiratory epithelium of chicks fumigated with formaldehyde vapour. *British Poultry Science* 1996; 37:563-70.

Ficken MD. Respiratory system. In: Riddell C. editor. *Avian histopathology*. Kennett Square: American Association of Avian Pathologists 1996; p.89-110.

Franzo VS, Gama NMSQ, Artoni SMB, Silva PL, Amoroso L, Paulillo AC. Importância dos patos (*Anas platyrinchus*) na epidemiologia experimental da doença de Newcastle. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2004; (Suppl 6):190.

Gough RE, Allan WH, Nedelciu D. immune response to monovalent and bivalent Newcastle disease and infectious bronchitis inactivated vaccines. **Avian Pathology** 1977; 6:131-42.

Haemagglutination-Inhibition Test (HI). In: Moreno-Lopez J, editor. Diagnostic virology. Swedish University of Agricultural Sciences - FAO/IAEA/SIDA; 1989. 125 p.

Heuschele WP, Easterday BC. Local immunity and persistence of virus in the tracheas of chickens following infections with Newcastle disease virus. II. Immunofluorescent and histopathologic studies. *Journal of Infectious Diseases* 1970; 5:497-504.

Hitchner SB, Domermuth CH, Purchase HG, Williams JE. Isolation and identification of avian pathogens. 2nd ed. Ithaca: Arnold Printing Corporation; 1989.

Hodges RD. The respiratory system. In: \_\_\_\_\_. The histology of the fowl. London: Academic Press; 1974. p.113-49.

Hofstad MS. A quantitative study of Newcastle disease virus in tissues of infected chickens. *American Journal of Veterinary Research* 1951; 12:334-39.

Huchzermeyer FW, Gerdes GH. Newcastle disease virus isolated from ostriches in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association* 1993; 64:140.

Huchzermeyer FW. Velogenic Newcastle disease in ostriches in South Africa. Proceedings of improving our understanding of ratites in a farming environment Manchester; 1996; Oxford. p.44.

Jfrgensen PH, Lomniczi B, Manvell RJ, Holm E, Alexander DJ. Isolation of avian parainfluenzavirus type 1 (Newcastle disease) viruses from a flock of ostriches (*Struthio camelus*) and emus (*Dromaius novaehollandiae*) in Europe with inconsistent serology. *Avian Pathology*. In press 1998.

Jornal Oficial Das Comunidades Europeias - Nº L 137/248/6/93 - Decisão da Comissão de 12 de maio de 1993 (93/342/ CEE).

Jornal Oficial Das Comunidades Europeias - Nº L 260/125/9/92.

Kaleta EF, Baudauf C. Newcastle disease in free-living and pet birds. In: Alexander DJ, editor. Newcastle disease Boston: Kluwer Academic Publishers; 1988. p.197-246.

Kauker E, Siegert O. Newcastle disease in ostriches, vultures and toucans in a zoological garden. *Munchener Tierheilkunde* 1957; 9:64-8.

King AS, Molony V. The anatomy of respiration. In: Bell DJ, Freeman BM. Physiology and biochemistry of the domestic fowl. London: Academic Press; 1971. p. 93-169.

Kloppel G. Newcastle-infectionen bei strausen. *Kleintier-Praxis* 1963; 8:10-1.

Lancaster HJE. Newcastle disease control by vaccination. *Veterinary Bulletin* 1964; 34(2):57-76.

Lancaster JE. Newcastle disease: a review 1926-1964 [monograph No 3]. Ottawa: Canada Department of Agriculture; 1966.

Landgraf H, Vielitz E. Experiments on the immunization of chicks against Newcastle disease. *Deutsche Tierarztl.* 1972; 79(20):493-500.

Lima FS, Santin E, Paulillo AC, Doretto Júnior L. Evaluation of different programs of Newcastle disease vaccination in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *International Journal of Poultry Science* 2004a; 3(5):354-356.

Lima FS, Santin E, Paulillo AC, Doretto Júnior L. Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) as Newcastle disease carrier.

*International Journal of Poultry Science* 2004b; 3(7):483-484.

Lima FS. Estudo de parâmetros clínicos, epidemiológicos, imunitários e patológicos da vacinação contra a moléstia de Newcastle em galinhas d'angola industriais para corte (*Numida meleagris galeata*) [tese]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2005.

Manual of Recommended Diagnostic Techniques and Requirements for Biologicals Products for List A & B Diseases. Paris: Office International des Epizooties; 1989.

McFerran JB. *et al.* An outbreak of subclinical Newcastle disease in New Ireland. *Veterinary Record* 1968; 82:589-92.

McFerran JB, Nelson R. Some properties of an avirulent Newcastle disease virus. *Archives of Virology* 1971; 34:64-74.

Meulemans G. *et al.* Vaccination contre la maladie de Newcastle. Application de la technique d'aérosol à la vaccination de poussins d'un jour, porteurs d'anticorps homologues d'origine maternelle. *Annales de Médecine Vétérinaire* 1975; 119(3):159-66.

Montenegro SA. *et al.* Vacinas lentogênicas (B1 e La Sota) contra a doença de Newcastle, comercializadas no Brasil. 1. Avaliação de qualidade. *Arquivos da Escola de Veterinária UFMG* 1978; 30(2):143-54.

Moore NF. *et al.* The effect of infection with different strains of Newcastle disease virus on cellular RNA and protein synthesis. *Journal of General Virology* 1972; 14:99-101.

Nagai Y. *et al.* The spread of a pathogenic and an apathogenic strain of Newcastle disease virus in the chick embryo as depending on the protease sensitivity of the virus glycoproteins. *Journal of General Virology* 1979; 45:263-72.

Newcastle Disease And Other Parainfluenzavirus infection. In: Calnek W, editor. *Disease of poultry*. 9th ed. Ames: Iowa State University Press; 1991. 929 p.

Newcastle Disease. In: *Manual of standards for diagnostic tests and vaccine*. 2nd ed. Paris: Office

International des Epizooties; 1992. 783 p.

Nishizawa M, Paulillo AC, Alessi AC, Nunes AD, Campioni JM, Okada LSN, Doretto Jr L, Lima FS. Study of experimental vaccination in white pekin duck (*Anas platyrhynchos*) against Newcastle disease: investigation of the state of virus carrier. *International Journal of Poultry Science* 2006; 5(5):786-788.

Nishizawa M. Estudo dos estados imune e de portador em marrecos de Pequim(*Anas platyrhynchos*) frente ao vírus da doença de Newcastle [tese]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2007.

Nunes VA, Nunes IJ, Leite RC, Ribeira LA, Negrelli Filho H, Frossard PRP. Surto da doença de Newcastle em emas (*Rhea americana*) no zoológico de Brasília. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 1975; 10:35-9.

Oliveira Jr JG, Portz C, Loureiro BO, Schiavo PA, Fedullo LPL, Mazur C, Andrade CM. Vírus da doença de Newcastle em aves não vacinadas no Estado do Rio de Janeiro. *Ciência Rural* 2003; 33(2):381-383.

Paulillo AC, Berchieri Jr A, Ariki J, Machado RZ, Kronka SN, Montassier HJ, Pinto AA. Avaliação da resposta imunológica em aves vacinadas experimentalmente contra a doença de newcastle. *Ars Veterinária* 1985; 1(1):35-45.

Paulillo AC, Doretto Jr L. Doença de newcastle. In: Berchieri Jr A, Macari M. editors. *Doenças das aves*. Campinas: FACTA; 2000. p.267-281.

Paulillo AC. *et al.* Doença de Newcastle. I. Estudo experimental da resposta imune às estirpes vacinais B1 e LaSota. *Revista Faculdade Medicina Veterinária e Zootecnia da USP* 1982; 19(1):39-43.

Paulillo AC. *et al.* Doença de Newcastle. I. Estudo experimental da resposta imune às estirpes vacinais B1 e LaSota. *Revista Faculdade Medicina Veterinária e Zootecnia da USP* 1982; 19(1):39-43.

Paulillo AC, Lima FS, Doretto Júnior L, Moraes VMB, Gama NMSQ, Nishizawa M, Polveiro WJ, Schocken-Iturrino RP. Importância de las codornices japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) en la epidemiología experimental de la enfermedad de Newcastle. 17th Congreso Centroamericano Del Caribe De Avicultura; 2002; La Habana.

Paulillo AC, Lima FS, Doretto Júnior L, Moraes VMB, Sousa RLM, Montassier HJ, Gama NMSQ, Amoroso L. Estudio de la vacunación experimental en codornices (*Coturnix coturnix japonica*) contra la enfermedad de Newcastle y investigación del estado de portador del virus. *Memorias do 17th Congreso Latinoamericano De Avicultura*; 2001; Ciudad de Guatemala. p.497-503.

Paulillo AC, Montassier HJ, Berchieri Jr A, Ariki J, Richtzenhain LJ, Nakaghi LSO, Barbosa JC, Quintana, JL. Doença de Newcastle: ensaio experimental de diferentes vias de vacinação com a estirpe lentogênica lasota em frangos de corte. *Ars Veterinária* 1987; 3(1):73-9.

Paulillo AC, Pinto AA, Ariki J, Berchieri Jr A, Penariol W. Doença de newcastle.2. estudo comparativo entre diferentes métodos de administração de vacina preparada com a estirpe vacinal B1. Revista Faculdade Medicina Veterinária e Zootecnia da USP 1982; 19(1):45-51.

Paulillo AC, Pinto AA, Ariki J, Berchieri Jr A, Toyoshima T. Avaliação comparativa entre diferentes métodos de administração de vacina preparada com a estirpe vacinal lasota do vírus da doença de newcastle. Pesquisa Veterinária Brasileira 1982; 2(3):113-19.

Paulillo AC, Silva GS, Moro MEG, Doretto Jr L, Meireles MV, Schocken-Iturrino RP, Sousa RLM. Importancia de la vacunación experimental en perdices (*Rhynchotus rufescens*) contra la enfermedad de newcastle y investigacion del estudio de portador del virus. Conferencias do 16th Congresso Latinoamericano de Avicultura; 1999; Lima-Peru. p.291-93.

Paulillo AC. Avaliação da resposta imune e da performance zootécnica de poedeiras vacinadas experimentalmente contra a doença de Newcastle [tese]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 1989.

Paulillo AC. Doença de Newcastle: estudo experimental da resposta imune às estirpes vacinais B1 e LaSota [dissertação]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 1980.

Paulillo AC. Estudo experimental da resposta imunitária às vacinas inativada (oleosa) e viva (amostra LaSota) contra a doença de Newcastle [tese]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 1984.

Phillips JM. Vaccination against Newcastle disease: an assessment of haemagglutination inhibition titres obtained from field samples. Veterinary Record 1973; 93(22):577-83.

Placidi L, Santucci J. Observation epidemiologique sur la maladie de Newcastle. Evolution de l'infection dans un parc zoologique. Bulletin de l'Academie Veterinaire 1954; 27:255-58.

Postek MT. *et al.* Scanning electron microscopy: a student's handbooks. Laad Research Industries; 1980. Rajeswar JJ, Masillamony PR. Spray vaccine against Newcastle disease. Indian Veterinary Journal 1993; 70:402-4. Recueil de Medicine Veterinaire 1967; 143:337-42.

Reeve P, Waterson AP. The growth cycle of avirulent strains of Newcastle disease virus. Microbios 1970; 5:5-9.

Richtzenhain LJ, Paulillo AC, Pinto AA, Kronka SN. Relation between the hemagglutination inhibition test and the indirect elisa in the serologic monitoring of laying hens submitted to different systems of vaccination against newcastle disease. Revista de Microbiologia 1993; 24(3):187-91.

Rima B, Alexander DJ, Billeter MA, Collins PL, Kingsbury DW, Lipkind MA, Nagai Y, Orvell C, Pringle CR, Ter Meulen V. Paramyxoviridae: virus taxonomy. In: Murphy FA, Fauquet CM, Bishop DHL, Ghabrial SA, Jarvis AW, Martelli GP, Mayo MA, Summers MD, editors. 6th Report of the International Committee on Taxonomy of Virus; 1995; Wien: Springer-Verlag. p.268-74.

Ryan TB. The use of microtiter haemagglutination-inhibition in *Mycoplasma gallisepticum* testing program. Proceedings 77th Annual Meeting US Animal Health Association; 1973; St Louis. p.593-95.

Samberg V, Hadash DV, Perelman B, Meroz M. Newcastle disease in ostriches (*Struthio camelus*): field case and experimental infection. *Avian Pathology* 1989; 18:221-26.

Silva GS. Aspectos imunológicos clínicos e zootécnicos da vacinação contra a doença de Newcastle em perdizes (*Rhynchotus rufescens*). Pesquisa do estado de portador do vírus e sua importância epidemiológica [tese]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Universidade Estadual Paulista; 2000.

Silva GS. Doença de newcastle: ensaio experimental de diferentes programas de vacinação com as estirpes lentogênicas Ulster 2C B1 e LaSota em frangos de corte [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Universidade Estadual Paulista; 1995.

Silva JSA, Mota RA, Vilelas MO, Doretto Júnior L, Pinheiro Júnior JW, Silva LBG. Newcastle disease virus infection in sparrows (*Passer domesticus* Linnaeus 1758) captured in poultry farms of the agreste region of the State of Pernambuco. *Revista Brasileira Ciências Avícolas* 2006; 8(2):125-29.

Sousa RLM, Cardoso TC, Paulillo AC, Montassier HJ, Pinto AA. Antibody response to Newcastle disease vaccination in a flock of young partridges (*Rhynchotus rufescens*). *Journal of Zoo and Wildlife* 1999; 30(3):119-21.

Stell RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistics. 2nd ed. New York: McGraw-Hill Book; 1980.

Tavassoli A. Immune response of chickens to four lentogenic strains of Newcastle disease virus propagated in lamb kidney cell cultures. *Archive Institute Razi Teheran* 1971; 23:129-35.

Van Eck JHH. *et al.* An Ulster 2C strain-derived Newcastle disease vaccine: Efficacy and excretion in maternally immune chickens. ***Avian Pathology*** 1991; 20(3):481-95.

Van Eck JHH, Goren E. An Ulster 2C strain-derived Newcastle disease vaccine: 2. Vaccinal reaction in comparison with other lentogenic Newcastle disease vaccines. ***Avian Pathology*** 1991; 20(3):497-507.

Verwoerd DJ, Gerdes GH, Olivier A, Williams R. Experimental infection of vaccinated slaughter ostriches with virulent Newcastle disease virus. *Onderstepoort Journal Veterinary Research* 1997; 64:213-16.

Verwoerd DJ, Olivier A, Gummow B, Gerdes GH, Williams R. Experimental infection of vaccinated slaughter ostriches in a natural open-air feedlot facility with virulent Newcastle disease virus. ***Avian Diseases*** 1999; 43:442-52.

Villegas P. *et al.* Effect of route of Newcastle disease vaccination on the incidence of airsacculitis in chickens infected with *Mycoplasma synoviae*. ***Avian Diseases*** 1976; 20(2):395-400.



Waterson AP. *et al.* Virulence in Newcastle disease virus a preliminary study. *British Medical Bulletin* 1967; 23:138-43.

Winterfield RW. *et al.* Newcastle disease immunization studies. 4. Vaccination of chickens with B1 F and LaSota strains of Newcastle disease virus administered through the drinking water. **Poultry Science** 1957; 36:1076-88.

Wright HS. Virucidal activity of commercial disinfectants against velogenic viscerotropic Newcastle disease virus. **Avian Diseases** 1974; 18:526-30.

<b>Introdução</b>	<b>611</b>
<b>Histórico</b>	<b>612</b>
<b>Distribuição e ocorrência</b>	<b>614</b>
<b>Importância econômica</b>	<b>614</b>
<b>Reflexos na saúde pública</b>	<b>615</b>
<b>Etiologia</b>	<b>615</b>
<b>Classificação baseada nas hemaglutininas (HA) e neuraminidases (NA)</b>	<b>616</b>
<b>Classificação baseada na patogênia</b>	<b>616</b>
<b>Morfologia</b>	<b>616</b>
<b>Composição química</b>	<b>617</b>
<b>Replicação viral</b>	<b>617</b>
<b>Propriedades biológicas</b>	<b>618</b>
<b>Resistência do vírus</b>	<b>619</b>
<b>Manutenção do vírus no laboratório</b>	<b>620</b>
<i>Ovos embrionados de galinha</i>	620
<i>Cultura de tecidos</i>	620
<i>Animais de laboratório</i>	620
<b>Epizootiologia</b>	<b>620</b>
<i>Hospedeiros naturais e experimentais</i>	620
<i>Transmissão e portadores</i>	621
<i>Período de incubação</i>	622

<b>Sintomas</b>	<b>622</b>
<b>Morbidade e mortalidade</b>	<b>622</b>
<b>Lesões macroscópicas</b>	<b>622</b>
<b>Lesões microscópicas</b>	<b>623</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>623</b>
<b>Isolamento viral</b>	<b>623</b>
<b>Identificação viral</b>	<b>623</b>
<b>Sorologia</b>	<b>624</b>
<b>Detecção direta do vírus</b>	<b>624</b>
<b>Diagnóstico diferencial</b>	<b>624</b>
<b>Tratamento</b>	<b>624</b>
<b>Prevenção</b>	<b>624</b>
<b>Controle</b>	<b>625</b>
<b>Vacinação</b>	<b>625</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>626</b>

Hamilton Luis de S. Moraes, Carlos Tadeu Pippi Salle, Luiz Felipe Caron

## Introdução

A influenza é uma doença infecção-contagiosa das aves causada pelo vírus da influenza tipo A, membro da família *Orthomyxoviridae*. Estes vírus são responsáveis pela maioria dos problemas causados pela doença nas aves, assim como em humanos e pequenos mamíferos. Mais de uma centena de subtipos antigênicos, baseado nos antígenos de superfície hemaglutininas (HA) e neuraminidase (NA), têm sido isolados de aves domésticas e silvestres através do mundo. Infecções entre aves domésticas ou confinadas têm sido associadas com uma variedade de sintomas, que vão desde uma doença subclínica, problemas respiratórios leves, diminuição da produção de ovos até uma doença aguda, de caráter grave que pode levar a altas mortalidades.

Na avicultura industrial, o vírus da influenza tem causado consideráveis perdas econômicas. Nos Estados Unidos, em um surto ocorrido nos anos de 1983/1984, o governo gastou mais de 60 milhões de dólares para erradicar um vírus de alta patogenicidade (H5N2) em regiões da Pennsylvania, Virgínia e New Jersey, e abater mais de 17 milhões de aves. Na Austrália em 1985, o governo utilizou mais de 2 milhões de dólares em um surto da doença em um único produtor. Em 1994 iniciou um surto de influenza no México, com vírus de alta patogenicidade (H5N2), que se estendeu até 1996, fazendo com que aquele país mobilizasse os órgãos oficiais de defesa sanitária e as associações de produtores avícolas, para a erradicação do problema, o que custou milhões de dólares.

É muito difícil fazer previsões sobre as consequências de um surto de influenza, devido ao grande número de fatores que vão influenciar a variação das características biológicas do vírus, além dos subtipos antigênicos. Infecções concorrentes, principalmente aquelas que causam imunodepressão nas aves, tais como, doença de Gumboro, doença de Marek, anemia infecciosa das galinhas, micotoxicoses entre outras, estresse ambiental, condições de biossegurança, idade e sexo das aves, fazem com que a morbidade e a mortalidade variem de índices de menos de 1% até 100%.

Nas aves silvestres, de vida livre, principalmente as aves migratórias, não há experiência significativa sobre os problemas causados pelo vírus da influenza. Os vírus da influenza são isolados de aves aquáticas migratórias, particularmente dos patos e gansos silvestres através do mundo, sugerindo que estas aves possam ser um grande reservatório natural do vírus na contaminação de outras espécies de aves, do homem e de pequenos mamíferos, podendo estes reservatórios servir para a manutenção de amostras de alta patogenicidade, através de processos de mutação ou recombinação genética. A diversidade genética dos vírus da influenza aviária nos reservatórios de animais silvestres é um importante meio de sobrevivência dos vírus na natureza através dos processos de mutação, recombinação ou rearranjo (reassortment), esta última uma condição própria de vírus com genoma segmentado como é o caso do vírus da influenza. A

diversidade genética do vírus da influenza é consequência de suas características genéticas e infere uma grande capacidade de adaptação deste vírus. Neste sentido, a manutenção e sobrevivência do mesmo na natureza, podem ser facilitadas e dão à doença o caráter de re-emergente, quando focos começam a se tornar mais freqüentes em intervalos muitas vezes sustentados por estudos epidemiológicos, ou até mesmo alheios a qualquer previsão.

## Histórico

A influenza aviária, chamada de peste aviária, foi descrita no ano de 1878 por Perroncito, pesquisador italiano, que a diferenciou das doenças causadas por bactérias e foi identificada como um agente filtrável (vírus) por Centanni & Savunozzi em 1901. Em 1918 houve o maior surto documentado de influenza que, denotou a característica zoonótica da enfermidade, quando 25% da população do planeta adoeceu por uma condição à época desconhecida, reconhecida posteriormente como causada pelo vírus da influenza e recentemente associada a uma adaptação de um vírus aviário no ser humano com alto índice de patogenicidade. Foi a chamada “gripe espanhola” que causou a maior pandemia conhecida além da panzootia, e teve seu nome associado a percepção da doença em Madri já numa fase tardia da ocorrência, mas que por questões políticas associadas a I Guerra Mundial emprestou a condição espanhola a este surto de Influenza. Nesta época, como atualmente, os surgimentos dos grandes e graves surtos de influenza tiveram sua origem na Ásia, o que se explica pelas condições de ambiente, geografia e manejo de convivência entre mamíferos “inferiores”, aves e o homem.

Nos Estados Unidos a doença foi diagnosticada em frangos de corte, em 1924, em New York, disseminando-se por vários estados americanos. Outro surto aconteceu em New Jersey, no ano de 1929. Mas, foi apenas em 1955 que a chamada peste aviária foi identificada como sendo causada

por um vírus da influenza, que hoje sabemos, é do tipo A. Nos anos seguintes vários surtos da doença, com amostras de alta patogenicidade do vírus foram descritos em muitos lugares do mundo, incluindo a América do Sul e do Norte, Norte da África, Oriente Médio e na Europa, incluindo a Inglaterra e o leste Europeu. Na [Tabela 1](#) pode-se observar os relatos de surtos de Influenza aviária altamente patogênica desde 1959, quando o primeiro foco registrado pelo subtipo H5 ocorreu. A partir de 1959, nos primeiros 34 anos (1959 a 1992) 11 epizootias ocorreram (freqüência de 3,09 ao ano). Nos próximos 13 anos foram outras 13 epizootias (freqüência de um ao ano) enquanto que nos últimos cinco anos (2002 a 2006) foram seis epizootias (0,83 ao ano). No entanto, mais alarmante do que a freqüência dos focos é o número de aves afetadas. As razões para estas mudanças são complexas, mas estão associadas a alguns fatores como: melhoria nos sistemas de diagnóstico e notificação, aumento na densidade de aves em áreas produtoras, sistemas de produção integrados, possíveis alterações no movimento de rotas migratórias de aves selvagens e movimentação humana ao redor do mundo são fatores que podem ter contribuído.

Tabela 1 - Isolamentos do vírus da influenza de alta patogenicidade notificados desde 1959 em aves.

Espécie aviária	País	Subtipo	Ano
-----------------	------	---------	-----

Número aprox. aves envolvidas			
frango Uma pequena fazenda	Escócia	H5N1	1959
peru 1963	Inglaterra 29.000	H7N3	
peru 1966	Canadá 8.000	H5N9	
frango 1976	Austrália 58.000	H7N7	
frango 1979	Alemanha Duas fazendas	H7N7	
peru 1979	Inglaterra 9.000	H7N7	
frango 1983	EUA 17.000.000	H5N2	
peru	Irlanda 307.000	H5N8	1983
frango 1985	Austrália 240.000	H7N7	
peru 1991	Inglaterra 8.000	H5N1	
frango	Austrália 18.000	H7N3	1992
frango 1994	Austrália 22.000	H7N3	

frango 1994	México Desc.( milhões)	H5N2	
frango 1994	Paquistão >6.000.000	H7N3	
frango 1997	Austrália 160.000	H7N4	
frango 1997	Hong Kong 3.000.000	H5N1	
frango e peru 8.000	Itália	H5N2	1997
frango e peru 1999	Itália 14.000.000	H7N1	
frango e peru 2002	Chile ~ 700.000	H7N3	
frango e peru > 25.000.000	Holanda	H7N7	2003
# espécies 2004	# países da Ásia >100.000.000	H5N1	2003/
frango 2004	Canadá 16.000.000	H7N3	
frango 2004	EUA 6.600	H5N2	
frango 2004	África 30.000	H5N2	

# espécies aumentando ainda	# países	Europa, África, Ásia e Oriente Médio	H5N1	2005 -2007
Adaptado de Alexander (2006) & Garcia-Garcia (2006).				

Os primeiros isolamentos do vírus da influenza em perus aconteceram na América do Norte no ano de 1963, causando sérios problemas na produção destes animais. Os vírus encontrados nos perus podem ter sido introduzidos por aves aquáticas migratórias. Alguns isolamentos do vírus, após surtos da doença em perus, foram identificados como sendo H1N1, amostras tipicamente associadas com suínos e que causavam problemas respiratórios e queda na produção de ovos em perus. Esta conexão, suíno-peru, foi a primeira indicação que os vírus de mamíferos podem ser responsáveis por infecção e doença em aves. Estudos da amostra H1N1, isoladas de suínos e aves através do mundo, sugerem que os vírus de suínos estão sendo transmitidos para os perus e que H1N1 de patos estão sendo transmitidos para suínos em algumas regiões do mundo.

Em 1983 e 1984, a principal epidemia de vírus da influenza aviária aconteceu nos Estados Unidos (Pennsylvania), causando um impacto negativo na indústria avícola da região (reprodutoras, frangos de corte, perus, ovos) na ordem de 225 milhões de dólares. A amostra isolada foi a H5N2 e considerada de alta patogenicidade.

A primeira observação de sinais clínicos da doença no México ocorreu em 1993. O vírus foi identificado como sendo da influenza aviária em 1994 e caracterizado como H5N2 de baixa patogenicidade. Após alguns meses este vírus sofreu modificações em sua estrutura e os isolamentos passaram a ser de alta patogenicidade contaminando poedeiras comerciais no estado de Puebla e frangos de corte em Queretaro, com uma grande mortalidade e diminuição da produção de ovos.

No Paquistão, em 1994, houve um surto descrito como severo em reprodutoras pesadas, causado pelo tipo H7 do vírus da influenza aviária, que afetou também aves de diferentes idades, entre sete e 66 semanas, em outras atividades da avicultura paquistanesa, causando mortalidade acima de 85 %.

Na Austrália, em 1997, foi diagnosticado um surto de vírus da influenza aviária de alta patogenicidade na localidade de Tamworth. Durante o período da doença 310.000 reprodutoras de corte e sua progênie foram destruídas, além de 1.200.000 ovos férteis de galinha, 261 avestruzes e 147 ovos. O vírus da influenza aviária H7N4 foi isolado e identificado como o responsável pelo problema.

No ano de 1998, em Hong Kong, a doença foi diagnosticada, primeiro em galinhas, e depois 16 casos de influenza aviária foram diagnosticados em pessoas, sendo que quatro delas morreram e outras três estavam em condições críticas. As aves foram sacrificadas em massa, mais de 1,5 milhão, na tentativa de controlar o problema. Os isolamentos virais foram caracterizados como sendo do tipo H5N1, amostra tipicamente aviária. A análise genética das amostras isoladas, de sete pessoas doentes, indicaram que os vírus haviam sido introduzidos na população humana por fontes avícolas e, através da análise do RNA das amostras, os pesquisadores concluíram que não



teria havido recombinação entre os vírus aviários e humanos. As amostras isoladas de humanos foram 100% letais ao serem inoculadas em aves.

A partir de 1998 até 2007 muitos países têm notificado surtos de influenza aviária de alta patogenicidade pelo subtipo H5N1 em galinhas, patos e perus além das aves selvagens. A China, Coreia do Sul, Indonésia, Tailândia e Vietnã são os principais exemplos de perda e mortalidade por este vírus neste século, sendo que a partir de 2005 os surtos tem avançado pelo ocidente e países como a Turquia, Grécia, Romênia, além de França e Alemanha detectaram atividade viral em seu território. Em 2006, a presença da influenza aviária já era uma realidade na Europa e na África. Até meados de 2007 já ocorreram a notificação de 4465 focos epizooticos, em aves industriais em 36 países, o que explica e justifica a grande capacidade de disseminação do vírus da influenza aviária. Não se pode relegar a preocupação de que a partir desta intensidade de ocorrências uma nova pandemia pelo vírus possa surgir, uma vez que mais de 200 casos de infecção humana com origem aviária já foram confirmados.

Nos últimos 10 anos vírus, tipicamente encontrados em aves, têm sido isolados de surtos da doença em mamíferos, tais como, baleias e o homem, assim como em aves litorâneas como gaivotas e andorinhas marítimas, e até em pinguins. Estes achados sugerem que a associação entre aves e mamíferos em seu ambiente natural pode levar a transmissão da doença para as aves, resultando em problemas significativos para a avicultura mundial.

## **Distribuição e ocorrência**

O vírus da influenza aviária está distribuído através do mundo em aves domésticas como: galinhas, perus, patos, codornas, faisões, gansos, e em aves silvestres incluindo patos, gansos, maçaricos, cisnes, gaivotas, garças, pardelas, entre outras. Aves aquáticas migratórias, em particular os patos, são mais propensos a estes vírus que qualquer outro grupo. Enquanto que nas aves domésticas os perus e as galinhas são as espécies mais suscetíveis. O vírus da influenza tem sido isolado também de aves de gaiola tais como: periquitos, papagaios, falcões, tecelões, tendilhões, cacatuas, entre outros.

A distribuição da doença está claramente influenciada pela distribuição das aves domésticas e das aves silvestres, principalmente as aves aquáticas, e está relacionada com a localização da produção avícola, rotas migratórias e estação do ano. Em algumas regiões dos Estados Unidos os surtos de influenza aviária em perus coincidem com a migração de patos silvestres.

O monitoramento das aves migratórias aquáticas na América do Norte indica que 60% das aves jovens estão infectadas com o vírus da influenza aviária. Estas aves ao migrarem podem excretar grandes quantidades de vírus através das fezes, resultando em pesadas contaminações em lagos e bebedouros naturais infectando outras espécies de aves, mantendo assim o ciclo do vírus.

Apesar da literatura citar apenas quatro grandes surtos de influenza aviária nos Estados Unidos, 1929, 1975 (Alabama), 1979 (Minnesota), e Pennsylvania em 1983 a 1984, todos causados pelo tipo H5N2, classificado como de alta patogenicidade, os relatos da doença são comuns, principalmente no estado da Pennsylvania que, em 1997 a 1998, eliminou mais de um milhão de poedeiras comerciais e a região foi colocada em quarentena numa área de mais ou menos 100km quadrados

e os criadores aconselhados a não recolocarem seus plantéis, apesar do vírus isolado ser do tipo H7N2, não classificado como de alta patogenicidade.

Em galinhas existem surtos relatados nos Estados Unidos, México, Paquistão, Bélgica, Escócia, antiga União Soviética, Austrália, Hong Kong, França e Israel. A doença em perus foi descrita na Hungria, França, Holanda, Itália, Irlanda, Inglaterra, Canadá, Israel e nos Estados Unidos. Nos patos já foram relatados surtos em quase todos os países da Europa, nos Estados Unidos, Ásia e África.

No Brasil até o momento não existe diagnóstico clínico da influenza, nem tampouco diagnóstico laboratorial, apesar de o Ministério da Agricultura manter um laboratório de referência em Campinas - São Paulo e examinar todas as amostras suspeitas da doença. As razões que levam o Brasil a não ter notificação desta enfermidade, podem estar ligadas aos fatores que inter-relacionam a doença com as aves silvestres aquáticas e as criações industriais, principalmente de perus e patos. Como o Brasil não é um grande produtor de perus e patos, o contato das aves silvestres aquáticas com estas espécies fica restrito e esporádico, além do que o vírus resiste pouco as temperaturas mais elevadas, dificultando assim a sua difusão na avicultura industrial brasileira.

## Importância econômica

A repercussão econômica da influenza aviária vai depender da cepa do vírus, da espécie de ave afetada, do número de granjas com o problema, dos métodos de controle usados e da velocidade de aplicação das medidas de erradicação ou controle empregadas.

A influenza aviária é uma enfermidade com reflexos no comércio nacional e no internacional e, no caso de transformar-se em pandemia, as perdas seriam incalculáveis.

## Reflexos na saúde pública

Nos dias de hoje é lembrada a pandemia ocorrida em 1918, na qual um vírus oriundo de aves foi capaz de disseminar-se internacionalmente e matar mais de 50 milhões de pessoas, inclusive no Brasil. Este quadro foi denominado de Gripe Espanhola e, recentemente, o vírus foi reconstruído a partir de cadáveres congelados. Hoje, a influenza aviária é a maior preocupação das autoridades sanitárias internacionais pelo risco de transformar-se em uma pandemia de difícil controle.

Estudos realizados em feiras animais no estado de Minnesota, Estados Unidos, que utilizaram um fino pó espargido sobre poucas aves exibidas na feira, invisível ao olho nu, mas visível sob luz ultravioleta, foi capaz de ser detectado em 8,5% dos participantes. O experimento revelou o risco que representam as feiras animais para difundir infecções das aves ao homem.

Em razão dos acontecimentos ocorridos em 11 de setembro de 2001 nos Estados Unidos da América, a influenza aviária também está sendo estudada sob a perspectiva de uma ação bioterrorista. Em 14 de janeiro de 2005, dez chefes de estado europeus e norte-americanos, juntamente com o Diretor Geral da Organização Mundial de Saúde, simularam um ataque terrorista usando o vírus da varíola e expandiram as conclusões obtidas para casos de Ebola,

antrax e influenza aviária. Como já se esperava, as conclusões foram de que o mundo está despreparado para enfrentar um desafio da magnitude simulada e é necessária uma mudança profunda de mentalidade para o planejamento de medidas de prevenção e controle, pois os terríveis reflexos na saúde pública serão acompanhados pelo caos econômico global em poucas semanas.

As companhias de seguro norte-americanas estão calculando o risco de uma pandemia de influenza aviária cujos parâmetros são: 30% de infectados ou 90 milhões de pessoas; 2,5% de taxa de letalidade, ou 2 milhões de mortes; três semanas de trabalho perdidas para todos os sobreviventes, infectados ou não; quatro dias de hospitalização para 10% dos infectados. Também foi levado em conta, o suporte econômico governamental, quarentenas, taxas hospitalares e custos com medicamentos.

Pesquisadores norte-americanos fizeram uma simulação de utilizando um modelo estocástico no qual o número básico reprodutivo ( $R_0$ ) variou de 1,6 a 2,7, ou seja, cada infectado contaminará de 1,6 a 2,7 outros indivíduos, e chegaram a conclusões alarmantes. Segundo eles, adoecerão de 92 a 151 milhões de indivíduos naquele país e quando a doença estiver no pique de 2,3 a 7,9 milhões de novos casos serão observados diariamente.

No ano de 2006, os Estados Unidos da América apresentaram um plano estratégico para enfrentar uma possível pandemia de influenza aviária, denominado National Strategy for Pandemic Influenza, no qual são coordenadas as ações dos diferentes segmentos do país envolvidos no problema e orçado em US\$ 7 bilhões. O Brasil, no mesmo ano, divulgou o Plano de Contingência para Influenza Aviária e Doença de Newcastle, a ser desenvolvido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, mas o documento não informa quais os recursos previstos para a sua execução.

## Etiologia

O vírus do gênero influenza é o representante da família Orthomyxoviridae, composta por vírus envelopados com material genético baseado em RNA de fita simples com polaridade negativa e segmentado, classificado em três tipos ou espécies virais, denominadas de A, B e C, sendo que o RNA segmentado está presente apenas no tipo A. Os vírus de um mesmo tipo dividem entre si determinados antígenos hemaglutinantes (hemaglutinina - HA) ou neuraminidase (NA). Nos tipos A e B, a hemaglutinina e a neuraminidase sofrem variações genéticas, que são a base do surgimento de novas cepas do vírus, e o tipo C é antigenicamente estável. Os vírus do tipo A são os mais frequentes entre os mamíferos e os responsáveis pela influenza aviária, havendo, portanto, a possibilidade de circulação deste tipo em diferentes espécies, o que para um vírus com intensidade de mutação alta ( $10^{-3}$  a  $10^{-4}$ ) é um facilitador para o surgimento de novo subtipos quando a barreira inter-espécies é quebrada. Os vírus do tipo B ocorrem mais intensamente no homem, presentes nas epidemias anuais de influenza e já detectado também em várias espécies animais, com exemplo dos lobos marinhos em Punta del'Este no Uruguai. Há ainda uma nova proposta de classificação que inclui um quarto tipo viral também chamado Thogotovirus ou tipo D, aparentemente característico de insetos que ocasionalmente pode infectar mamíferos e até um quinto chamado Isavirus, responsável pela anemia infecciosa dos salmões.

Entre os vírus da influenza do grupo A que infectam o homem, mamíferos e aves, são conhecidas 16 diferentes proteínas HA e 9 proteínas NA, que identificam determinado subtipo de vírus. Os vírus da influenza são, portanto, identificados pelo tipo (A, B ou C, principalmente) e subtipo determinado por suas proteínas HA, numeradas de 1 a 16 e NA, identificadas de 1 a 9. Todas as principais combinações entre as hemaglutininas e neuraminidases têm sido isoladas de espécies aviárias, principalmente entre as espécies aquáticas selvagens.

## Classificação baseada nas hemaglutininas (HA) e neuraminidases (NA)

Os vírus tipo A são divididos em subtipos de acordo com a natureza dos antígenos HA (16) e NA (9). Um sistema padrão de nomenclatura foi proposto por um comitê de especialistas da Organização Mundial da Saúde, em 1980, para os vírus da influenza. O nome do vírus da influenza inclui o tipo A, B ou C, o hospedeiro de origem (exceto o homem), o local de isolamento, o número da amostra (quando houver), o ano em que o vírus foi isolado e a classificação dos antígenos HA e NA, entre parênteses. Como exemplo temos: A/peru/ Inglaterra/199/1979 (H7N7).

## Classificação baseada na patogenicidade

O termo “peste aviária” era a denominação utilizada para os casos de vírus da influenza aviária que causavam doença com alta mortalidade, baseada principalmente na presença dos antígenos H7, o que posteriormente se tornou inadequado, porque algumas amostras antigenicamente semelhantes aos H7, não demonstravam uma patogenicidade alta. Entretanto, isto foi importante para o desenvolvimento de recomendações para a classificação da doença causada pelos vírus da influenza aviária como sendo - Influenza Aviária de Alta Patogenicidade - (HPAI, sigla em inglês). Especialistas que participaram do 1o. Simpósio Internacional de Influenza Aviária, recomendaram que o termo, “peste aviária”, fosse utilizado apenas como referência histórica e não mais para denominar a influenza aviária de alta patogenicidade, e propuseram

que, apenas aqueles vírus que matassem 75% de aves suscetíveis inoculadas, receberiam a denominação de alta patogenicidade. Ainda assim, alguns vírus, mesmo muito patogênicos, não causaram 75% de mortalidade quando inoculados em aves sensíveis, o que fez com que as amostras isoladas do surto da Pennsylvania em 1987 (H5N2) não fosse considerado como de alta patogenicidade. Em vista destes acontecimentos, a Organização Internacional de Epizootias (OIE) recomenda para classificar as amostras como de alta patogenicidade e iniciar procedimentos de erradicação o que segue:

- a) qualquer vírus de influenza que seja letal para seis, sete ou oito galinhas de oito semanas de idade, inoculadas intravenosamente com 0,2ml de uma diluição de 1:10 de líquido cório- alantóide, livre de bactérias, e observadas durante 10 dias;
- b) qualquer amostra de vírus H5 ou H7, que não se incluam nos critérios do item “a” mas, que a sequência de aminoácidos do sítio de clivagem da hemaglutinina seja compatível com vírus da influenza aviária de alta patogenicidade;
- c) qualquer vírus de influenza que não seja H5 ou H7 e que mate de uma a cinco galinhas quando inoculados e que cresça em cultivo celular na ausência de tripsina.

## Morfologia

Os vírions são esféricos com um diâmetro de 80- 120nm, entretanto, eles podem ter formas filamentosas de mesmo diâmetros, mas de diferentes comprimentos. A superfície do vírus é coberta por espículas bem próximas uma das outras, medindo 10 a 12nm de comprimento. Um nucleocapsídeo helicoidal é recoberto pelo envelope viral. Na superfície das espículas existem duas formações glicoprotêicas que são as hemaglutininas (HA), um trímero, e as neuraminidasas (NA), um tetrâmero. As HA são responsáveis pela ligação do vírion na célula receptora, através dos sialoglicosacarídeos e também é responsável pela atividade hamaglutinante do vírus. Anticorpos contra HA são muito importantes na neutralização do vírus e na proteção contra a infecção. A atividade enzimática da NA é responsável pela liberação de novos vírus da célula do hospedeiro, pela ação do ácido neuramínico no receptor. Anticorpos contra NA também são importantes na proteção, provavelmente restringindo a difusão do vírus das células infectadas.

O genoma viral é composto de oito segmentos de RNA de uma única hélice de sentido negativo. Estes 8 segmentos codificam 10 proteínas virais, oito das quais constituem o virion (HA, NA, NP, M1, M2, PB1, PB2, E PA). O segmento do RNA com peso molecular menor, codifica duas proteínas não estruturais, NS1 e NS2, que podem ser detectadas nas células infectadas e a NS1 tem sido associada a presença de inclusões no citoplasma. Os oito segmentos de RNA, todos com diferentes pesos moleculares podem ser isolados das partículas virais, a função codificadora de cada segmento é conhecida. Os segmentos de RNA podem ser separados por eletroforese com gel de poliacrilamida (PAGE). A comparação dos padrões de migração de diferentes vírus, particularmente os recombinantes, tem servido para se saber da origem dos genes virais. Os RNAs de virus da influenza podem ser comparados pelo mapeamento de seus oligonucleotídeos para se comparar o grau de diferença entre as amostras virais, sendo um sensível método para detectar as mutações.

## Composição química

A composição aproximada do vírus da influenza aviária é 0,8 a 1,1% de RNA, 70 a 75 % de proteínas, 20 a 24 % de lipídios e 5 a 8% de carboidratos. Os lipídios estão localizados na membrana viral, muitos são fosfolipídios com pequenas quantidades de colesterol e glicolipídios. Vários carboidratos incluindo ribose (no RNA), galactose, manose, fucose e glucosaminas estão presentes no virion, principalmente, como glicoproteínas e glicolipídios. As proteínas do virion são potencialmente sítios de glicosilação, e todos são especificados pelo genoma viral, mas a composição das cadeias de lipídios e carboidratos que se ligam as glicoproteínas ou glicolipídios da membrana viral são determinadas pelas células do hospedeiro.

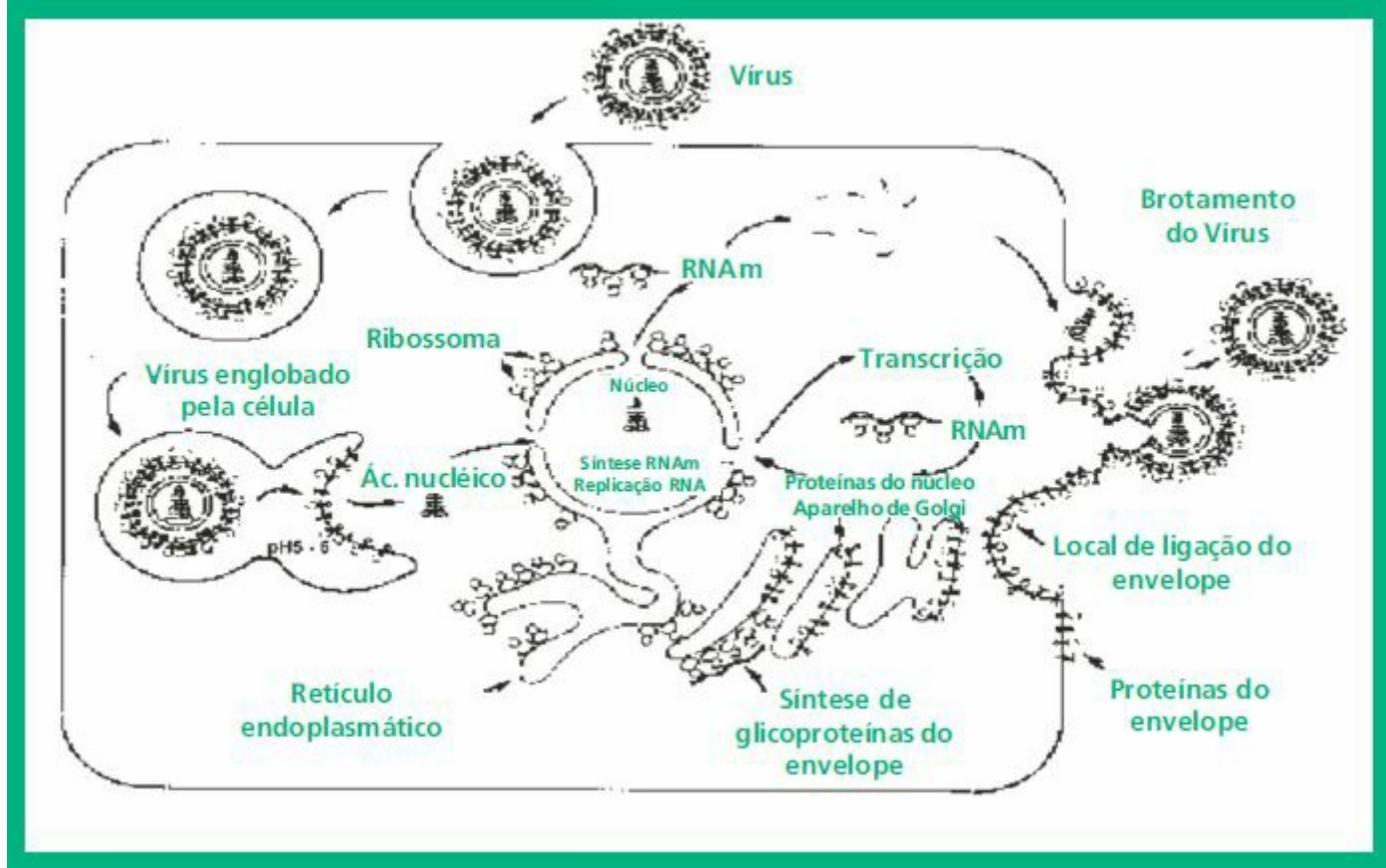
## Replicação viral

A replicação do vírus da influenza aviária, como modelo de replicação da família Orthomyxoviridae é dependente do primeiro estágio deste processo chamado de adsorção. É neste momento que se determina a afinidade dos vírus por um sistema orgânico ou por uma espécie animal. A adsorção do vírus consiste na ligação do mesmo à célula hospedeira, com uma grande afinidade ou eficiência, o que poderia se chamar de uma ligação firme. Isto é dependente da

## afinidade dos receptores

do envelope viral com os anti-receptores da célula hospedeira. É baseada nesta compatibilidade que se determina para os vírus da influenza a barreira inter-espécies, que limita a infecção dos vírus aviários às aves, dos humanos aos humanos e assim sucessivamente. No vírus da influenza o receptor responsável por esta afinidade é a hemaglutinina do envelope viral, que determina a ligação da partícula viral ao receptor de ácido siálico presente na membrana celular e, após a endocitose determina a fusão do envelope viral na membrana da célula. Esta hemaglutinina é um trímero que deve ser clivado por proteases orgânicas para permitir a infecção do vírus à célula, ao mesmo tempo que o pH baixo em torno de cinco ou seis, auxilia na adsorção do vírus e representa um meio ácido no endossomo gerado após a endocitose do vírus pela célula. Esta clivagem representa a quebra de um sítio específico na hemaglutinina que permite sua alteração conformacional e assim a ligação e fusão na membrana da célula. Esta capacidade de clivagem é um dos principais fatores que podem determinar a patogenia do subtipo viral. As proteases que clivam viroses não patogênicas são encontradas em um número limitado de células ou tecidos, quando então estas viroses causam infecções localizadas, no trato respiratório de mamíferos ou do trato digestivo das aves, por exemplo. Vírus não patogênicos são clivados por proteases chamadas like-tripsina, como associação à própria tripsina que é necessária *in vitro* para ativar a infectividade viral. De outra forma as proteases que clivam amostras patogênicas do vírus são expressas em vários sistemas celulares e permitem assim a disseminação do vírus no organismo e uma infecção sistêmica. Estas são chamadas proteases like subtilisina, e encontram-se intracelulares, associadas a quebra de várias substâncias orgânicas como hormônios e outras proteínas onde se reconhecem sítios dibásicos ou polibásicos, característica presente no sítio de clivagem da hemaglutinina de amostras altamente patogênicas. Finalizada a fase de penetração o vírus sofre decapsidação no citoplasma da célula, um momento que caracteriza o tipo viral e também determina uma barreira de transmissão inter- espécies. O RNA viral migra para o núcleo da célula onde servirá de molde para replicação do mesmo e para síntese dos RNAm que saindo do núcleo da célula vão, no retículo endoplasmático e complexo de Golgi, codificar os componentes virais. Os novos RNA formados migram junto com as proteínas virais para o espaço próximo a membrana plasmática onde se organizam e saem da célula por um processo chamado de brotamento, que é a última fase da replicação viral. Neste momento torna-se importante a ação da outra glicoproteína que caracteriza o vírus, a neuraminidase a qual permite a eluição viral ou que seria o rompimento das ligações da hemaglutinina de vírus recém formados dos receptores da membrana da célula infectada, liberando assim os novos vírus para infecção de novas células. Neste momento, surgiu a utilização de antivirais específicos, inibindo a ação da neuraminidase e impedindo a liberação dos novos vírus, como é o caso do Tamiflu®, alvo de muitas pesquisas para utilização nas epidemias de influenza e ainda como uma possibilidade de controle numa possível pandemia.

Na [Figura 1](#) é mostrado um esquema da replicação viral, para melhor entendimento.



**Figura 1** - Esquema da replicação viral do vírus da influenza. Adaptado de Lamb & Krug (1996).

## Propriedades biológicas

As propriedades biológicas da patogenia dos vírus da influenza aviária são extremamente variáveis e não podem ser previstas, mesmo que se saiba o hospedeiro e o subtipo (HA) do vírus. Vírus aviários dos subtipos H5 e H7 tem sido associados com doença severa em galinhas, perus, patos, entretanto, existem também muitos exemplos de H5 e H7 que causam doença leve nestas mesmas espécies,

mostrando, com isto, que apenas a configuração antigênica sozinha não determina a patogenia. Com qualquer vírus a patogenia é uma interação do vírus com o hospedeiro. Um vírus da influenza que é patogênico para uma espécie, necessariamente não será patogênico para outras espécies de aves. Por exemplo, a amostra peru/Ontario/7732/66, é altamente patogênica para perus e galinhas, causando 100% de mortalidade, entretanto, ela não é patogênica para os patos. O tropismo do vírus por determinados tecidos está diretamente relacionado com a patogenia. Um vírus restrito ao trato respiratório ou intestinal produzirá uma doença completamente diferente de um que fizer viremia e se instalar nos órgãos vitais do animal. A base deste tropismo ainda não está bem definida, mas os receptores dos vírus que infectam o homem, os equinos e as aves são diferentes. Trabalhos têm mostrado que mutações nos receptores dos sítios de ligação da proteína viral HA podem alterar a habilidade do vírus infectar diferentes hospedeiros.

Vírus de influenza de alta patogenia possuem HA que são facilmente clivadas em uma variedade de células in vivo e in vitro. A habilidade das proteases das células do hospedeiro em realizar a clivagem é considerada importante na determinação da extensão da replicação viral. Quanto maior o número de células do hospedeiro que realizar a clivagem, maior será a chance de infecção no hospedeiro, o que acontece com os vírus de alta patogenia. Nas amostras de baixa patogenia não

há clivagem, não havendo infecção. Os vírus de alta patogenicidade têm vários resíduos de aminoácidos arginina e lisina no carboxi terminal do HA1, enquanto que as amostras não virulentas têm somente a arginina neste sítio, sugerindo que estes aminoácidos estão envolvidos no reconhecimento das proteases e clivagem do HA nas amostras de alta patogenicidade.

Estudos realizados com as amostras de alta e baixa patogenicidade isoladas na Pennsylvania em 1983 (H5N2), mostraram que todos os vírus tinham sequências no sítio de clivagem associadas com alta patogenicidade, entretanto, o vírus de baixa patogenicidade, que foi o primeiro a ser isolado neste surto, tinha um sítio de glicosilação na região de clivagem e a presença deste pode ter bloqueado a eficiência da clivagem. Apenas uma mutação removendo este sítio de glicosilação resultou em uma amostra de alta patogenicidade. Neste caso, a determinação da sequência em torno do sítio de clivagem HA teria indicado a natureza perigosa deste vírus. Outro trabalho com amostra altamente patogênica (peru/Ontario/7732/66), revelou que mudanças no epítipo neutralizante do HA alteraram a virulência do vírus, podendo ser esta uma outra maneira de modificar a patogenicidade das amostras virais.

Uma das propriedades biológicas de maior relevância nos Orthomyxovirus é a sua capacidade de mutação e assim como os vírus compostos por RNA, o vírus da influenza sofre um processo pontual de mutação em não mais do que 2 a 3% do genoma devido a troca de alguns nucleotídeos, um processo que não apresenta possibilidade de correção pelas polimerases celulares como ocorre na replicação do DNA. Estas alterações pequenas estão presentes em todos os subtipos do vírus da influenza e são mais caracterizadas nas infecções pelos vírus humanos onde a ocorrência sazonal da enfermidade é facilitada pela geração de novas amostras mutantes. As infecções por influenza nas aves permitem da mesma forma o surgimento de amostras mutantes resultantes deste processo pontual de mutação o qual se denomina drift antigênico, oriundo de trocas de poucos nucleotídeos em um mesmo subtipo viral. As amostras do vírus aviário H5N1 que desde 1997 vem causando epizootias, principalmente, na Ásia são atualmente, dez anos depois, genotipicamente diferentes daquelas caracterizadas inicialmente, denotando a presença de mutações pontuais. Este tipo de mutação é influenciado pela variabilidade de anticorpos encontrada em diferentes indivíduos que se infectam, o que determina uma pressão de seleção sobre o vírus e pode facilitar a geração de uma amostra variante. Um dos fatores primordiais nesta situação é a densidade populacional uma vez que um grande número de indivíduos suscetíveis significa, em médio prazo, uma variedade de anticorpos que pode favorecer o drift antigênico. Baseado nesta condição justifica-se uma das hipóteses mais prováveis para o surgimento da influenza aviária de alta patogenicidade de forma disseminada, onde especula-se que o subtipo H5N1 presente em aves aquáticas selvagens e de baixa patogenicidade foi transmitido a aves domésticas, encontrando em muitas situações alta densidade populacional como nas explorações comerciais de frangos de corte, nestas espécies sofreu mutações em determinados genes que conferiram ao vírus alta patogenicidade. Após estas mutações o vírus passou a ser transmitido de volta as aves selvagens, mas agora com alta letalidade para as aves selvagens, domésticas e eventualmente o homem além de outros mamíferos.

A habilidade do vírus da influenza de produzir placas em cultura de tecidos, tais como, fibroblastos de embrião de pinto (FEP) e MDCK (rim de cão Mandin-Darby) na ausência de tripsina, está correlacionado com alta patogenicidade porque indica que a amostra do vírus é facilmente clivada pelas proteases do hospedeiro. Em contrapartida, as amostras que não formam placas na ausência de tripsina estão relacionadas com vírus de baixa ou moderada patogenicidade, porque não



conseguem clivar a proteína HA sem a tripsina. Quando há uma mistura de vírus em uma população, esta técnica fica prejudicada para se prever a patogenia da amostra.

## Resistência do vírus

Os vírus da influenza aviária são envelopados e por este motivo, sensíveis aos solventes orgânicos e detergentes (aniônicos, catiônicos ou neutros), que destroem a integridade da membrana, com uma redução na sua infectividade. A infectividade também é rapidamente destruída pela formalina,  $\beta$ -propiolactona, agentes oxidantes, ácidos diluídos, etér, dodecil sulfato de sódio, hidroxilamina, desoxicolato de sódio e íons amônia. Os vírus de influenza não são estáveis, portanto, sua inativação não é muito difícil. Eles são inativados pelo calor, luz ultravioleta (UV), irradiações gama, situações de pH extremos, condições não isotônicas e em ambientes extremamente secos.

Os vírus da influenza replicam bem em ovos embrionados de galinha e são muito estáveis no líquido alantóide, em função das proteínas que protegem os vírus. A infectividade, bem como a atividade das proteínas HA e NA, podem ser mantidas por várias semanas a 4°C. Para manter a infectividade por um longo período, o vírus deve ser estocado a -70°C ou deve ser liofilizado. A inativação destes vírus no laboratório pode ser feita com desinfetantes e detergentes comuns (desinfetantes fenólicos, hipoclorito de sódio).

Em surtos de influenza aviária, o vírus está protegido na matéria orgânica das próprias aves, secreções nasal e ocular e nas fezes, o que dificulta muito a inativação do vírus a campo, enquanto as aves e seus dejetos continuarem nos aviários. Uma das maneiras de se inativar o vírus dentro dos galpões é, depois de retirar as aves, aquecê-lo (lança-chamas) a altas temperaturas por vários dias,

inclusive o esterco proveniente das aves contaminadas, remover esta cama e depois lavar e desinfetar o ambiente. Esterco com contaminação pesada representa um grande problema no controle da doença, porque o vírus pode ficar ativo por mais de 100 dias em galpões contaminados, principalmente no inverno. A cama, com esterco contaminado, deve sofrer um processo de compostagem ou fermentação antes de ser enterrada, o que deve acontecer com a proteção de lonas plásticas, para se evitar contaminações posteriores devido aos lençóis freáticos ou chuvas abundantes que podem levar adiante as camas que ainda estiverem contaminadas.

O vírus da influenza tem sido recuperado de lagos e locais que servem de bebedouros quando há grande concentração de aves aquáticas. Mas, quando as aves migram para outros locais, fica mais difícil a recuperação do vírus, mostrando que eles resistem ao meio ambiente, mas não por longos períodos. Durante um surto da doença em aves domésticas, o vírus pode ser isolado da água que foi contaminada pelas secreções ou pelas fezes.

## Manutenção do vírus no laboratório

### Ovos embrionados de galinha

Todas as amostras do vírus da influenza crescem em embriões de galinha de 9 a 11 dias de idade,

fazendo com que este método seja utilizado em todos os laboratórios do mundo. Os vírus crescem com altos títulos, embora algumas amostras que matem os embriões muito rapidamente possam ter títulos baixos. Os embriões são incubados entre 35 e 37°C, até que quatro a cinco dias depois comecem a morrer. O líquido alantóide é coletado e conservado em baixas temperaturas. Desta maneira podemos utilizar este método para a fabricação de vacinas ou para estudos deste vírus.

## Cultura de tecidos

Os fibroblastos de embrião de pintos são as células mais comumente utilizadas para o crescimento do vírus da influenza em cultivos primários. As células de linha mais frequentemente utilizadas são as MDCK. Para amostras de baixa patogenicidade poucos vírus são produzidos a menos que se adicione tripsina ao meio.

## Animais de laboratório

As espécies mais utilizadas para estudos em laboratórios são, as galinhas, os perus e os patos, porque estas são as espécies que mais comumente são infectadas sob condições naturais. Devido as diferenças existentes entre as espécies, nos trabalhos de laboratório é aconselhável o uso de hospedeiros naturais, preferencialmente da mesma idade e espécie. Estes vírus também replicam bem em mamíferos tais como: camundongos, cobaias, macacos, gatos e porcos entre outros.

## Epizootiologia

### Hospedeiros naturais e experimentais

Uma grande variedade de espécies de aves, em torno de 100, e mais de oito ordens, tanto de aves domésticas, perus e galinhas, quanto de aves silvestres, são susceptíveis ao vírus da influenza, causando doença ou apenas servindo de reservatório ao vírus. A maioria dos isolamentos do vírus da influenza tem sido feita em patos, muito mais do que em qualquer outra espécie. Entre as outras espécies que já ocorreram isolamentos estão: galinhas da angola, gansos, codornas, faisões, falcões, perdizes, papagaios, periquitos, gaivotas. Entre as aves domésticas os perus tem sido mais frequentemente envolvidos em surtos da doença do que as galinhas e há evidência que o vírus persiste em perus por vários meses depois da infecção.

As aves aquáticas (silvestres e domésticas) são os principais reservatórios naturais do vírus da influenza. Estas aves são geralmente assintomáticas e podem excretar o vírus nas fezes por longos períodos, podendo também ser infectadas por mais de um tipo de vírus e, as vezes, não produzir resposta detectável por anticorpos. O vírus tem sido isolado da água de lagos e de bebedouros naturais utilizados por patos e outras aves aquáticas silvestres infectadas. O contato mais estreito entre estas aves e lotes comerciais aparece como um dos fatores mais importantes em alguns surtos da doença.

Um vírus de influenza, genética e antigenicamente relacionado com o vírus da influenza aviária, foi isolado de surtos da doença em focas nos Estados Unidos. Outros isolamentos semelhantes aconteceram em baleias, entretanto não se sabe qual o tipo de enfermidade que causa nestes animais. A amostra H1N1 do vírus encontrada em suínos também foi detectada em perus nos

Estados Unidos e a relação genética e antigênica dos isolados demonstrou que a origem do vírus era dos suínos e que a passagem para os perus se deu através do contato entre as duas espécies, ou por pessoas infectadas por estes vírus.

Alguns pesquisadores sugerem que os suínos seriam um “cadinho de misturas” entre o vírus da influenza aviária e o de mamíferos. O contato entre estas espécies quando criadas juntas ou muito próximas, como criações combinadas de peixes, suínos e patos podem potencialmente levar ao aparecimento de novas amostras do vírus.

O vírus da influenza aviária foi responsável por um surto da doença em visons.

Experimentalmente suíno, vison, furão, gato, macaco e humanos podem ser infectados com vírus da influenza originário de aves.

Em 1998, em Hong Kong, um surto do vírus da influenza aviária fez com que as autoridades sanitárias sacrificassem mais de 1,5 milhão de aves. Ao mesmo tempo houve um surto da doença que acometeu várias pessoas, sendo que algumas delas vieram a morrer, principalmente crianças e idosos. A amostra do vírus isolada foi caracterizada como sendo H5N1 e por caracterização genética e antigênica foi demonstrado ser a mesma isolada das aves.

## Transmissão e portadores

A influenza aviária pode ser facilmente difundida. O vírus da influenza aviária é capaz de sobreviver no meio ambiente, na água, matéria orgânica, dependendo das condições de temperatura e umidade, por um longo período de tempo e quase que indefinidamente em materiais congelados.

Aves infectadas excretam o vírus através das secreções do trato respiratório e das fezes, cama contaminada de aviários, equipamentos, produtos avícolas, carros e caminhões que fazem o transporte das granjas para mercados ou centrais de vendas, pessoas, através da roupa, sapatos, mãos e cabelos, insetos, roedores e outros animais podem difundir o vírus.

As fontes de transmissão do vírus para a criação de aves domésticas. Isto é, a avicultura industrial, podem ser classificadas de quatro maneiras:

### 1) Outras espécies de aves domésticas.

Outras criações no mesmo ambiente ou em granjas próximas, fazendo com que haja um contato entre patos e galinhas, perus e galinhas ou ainda codornas e faisões;

### 2) Aves exóticas cativas.

Apesar de não se ter comprovação da passagem do vírus destas aves para a criação industrial, potencialmente existe o perigo de contaminação, o que já foi comprovado com o vírus da doença de Newcastle;

### 3) Aves silvestres.

As aves silvestres, principalmente as aquáticas, são consideradas como as principais fontes de contaminação e difusão para a avicultura industrial, principalmente durante a sua migração. Perus e aves aquáticas migratórias convivem em algumas regiões muito estreitamente, facilitando a

transmissão do vírus. Em estudos realizados em Minnesota, Estados Unidos da América, há indicação que a doença surge concomitante a chegada das aves migratórias na região. O mesmo fenômeno ocorre em Norfolk, Inglaterra, onde o problema acontece ao longo das rotas de aves migratórias. Existe uma maior incidência do vírus da influenza em patos domésticos do que em perus, e mais em perus do que em galinhas. Em muitos países criações de patos, principalmente para engorda, são feitas em campo aberto ou pequenas lagoas, que são acessíveis ao contato com as aves silvestres. Os perus também são criados, em alguns lugares (Minnesota), no mínimo parcialmente ao ar livre, o que permite o contato com as aves migratórias. O Canadá teve problemas de influenza aviária nas suas criações de perus, que também eram criados como os de Minnesota. A partir dos anos 70 as criações passaram a ser totalmente confinadas, o que diminuiu muito os problemas com influenza;

#### 4) Outros animais.

Há evidência que os perus podem se infectar com vírus de suínos, mas a frequência com que isto possa ocorrer é difícil de estimar. Esta transmissão pode ocorrer em contato entre as duas espécies ou através de pessoas contaminadas com o vírus. Trabalhos recentes realizados na Itália mostraram que as amostras H1N1 e H3N2 isoladas de suínos entre 1992 e 1995 eram de origem aviária. A relação da sequência de nucleotídeos que codificam a porção HA1 da hemaglutinina de recentes isolados de vírus aviários e de suínos se mostraram estreitamente relacionados, representando uma boa evidência da transmissão do vírus entre estas duas espécies.

Há uma ampla evidência da transmissão horizontal da doença mas, ainda nenhuma confirmação da transmissão vertical, apesar de alguns pesquisadores já terem isolado vírus de ovos e de sêmen de perus.

A infecção experimental do vírus da influenza aviária foi feita com sucesso através das seguintes rotas: intranasal, intrasinal, intratraqueal, oral, conjuntival, intramuscular, intraperitoneal, intra sacos aéreos, intravenosa, cloacal e intracranial.

#### Período de incubação

O período de incubação pode variar muito, dependendo da dose do vírus, da rota de contaminação, da espécie infectada e da habilidade dos produtores ou dos profissionais ligados à área, de detectar os sinais clínicos da doença. Esta variação pode ser de poucas horas a três dias em aves individuais, ou aproximadamente 14 dias em lotes contaminados.

#### Sintomas

Os sinais clínicos da influenza aviária variam muito e dependem de múltiplos fatores, incluindo a idade e espécie afetada, a virulência da amostra viral, doenças concorrentes, principalmente as imunodepressoras, como doença de Gumboro e aflatoxicose, e fatores ambientais. Vírus de alta patogenicidade podem causar infecção, levando as aves à morte, com poucos sintomas. Na maioria dos surtos de influenza aviária os sintomas que predominam são os respiratórios, tais como: tosse, espirros, corrimento nasal e ocular, sinusite, além de decréscimo na produção de ovos. Pode haver também diarreia, edema de cabeça e face, ou distúrbios nervosos. Junto com estes sintomas há um decréscimo do consumo de alimento, e uma pronunciada depressão. Quaisquer destes

sintomas podem ocorrer sozinhos ou em várias combinações

Em perus jovens em crescimento a doença pode ser subclínica ou severa, principalmente quando houver infecções secundárias tais como, cólera aviária, colibacilose, ou sinusite infecciosa dos perus. Surtos em fêmeas de peru em produção podem levar a redução na postura, frequentemente associado com despigmentação e má formação da casca.

A variação dos sintomas depende muito da espécie afetada. Em um surto com a amostra H5N8 em perus e patos na Irlanda, mostrou uma sintomatologia clássica em perus e nenhum sinal da doença nos patos.

## Morbidade e mortalidade

A morbidade e a mortalidade são altamente variáveis, dependendo dos mesmos fatores que determinaram os sinais clínicos. Amostras do vírus de alta patogenicidade apresentam mortalidade de até 100% das aves, os sintomas clássicos da doença ou morte súbita. Com vírus de patogenicidade moderada, teremos uma mortalidade entre 50 e 70% e uma alta morbidade. Enquanto que, nas amostras de baixa patogenicidade teremos sintomas leves ou nenhum sinal aparente da doença, alguma depressão e problemas com a produção de ovos. A maior frequência no aparecimento da doença é com alta morbidade e baixa mortalidade.

## Lesões macroscópicas

As lesões observadas em aves mortas depois de um surto do vírus da influenza aviária de alta patogenicidade não são patognomônicas e podem estar ausentes quando há morte súbita. As lesões variam com a patogenicidade do vírus e a espécie afetada. Vários graus de congestão, hemorragias, transudatos e lesões necróticas têm sido descritas. Nas infecções virais de alta patogenicidade as lesões são mais extensas e severas. Exsudato fibrinoso pode ser encontrado nos sacos aéreos, oviduto e saco pericárdio, ou no peritônio. Sinusite, particularmente em patos, com exsudato. Pequenos focos necróticos podem aparecer na pele, crista e barbelas, ou no fígado, rim, ou pulmões. Congestão, hemorragias e edemas indicam danos nos vasos sanguíneos.

Lesões clássicas de vírus de alta patogenicidade incluem edema e cianose de cabeça, vesículas e ulcerações na crista, edema nas patas, manchas avermelhadas nas pernas, petéquias na gordura abdominal e nas superfícies das mucosas e serosas, necrose e hemorragias na mucosa da moela e do pró-ventrículo. Algumas amostras do vírus (peru/ Ontario/7732/66 (H5N9), podem causar destruição do tecido linfóide, enquanto outras, também de alta patogenicidade, não causam danos a este tecido. A base para estas diferenças entre os vírus ainda é desconhecida.

## Lesões microscópicas

As lesões histopatológicas não têm um papel importante no diagnóstico da doença porque, nenhuma das lesões encontradas são patognomônicas. Os achados histológicos mais significativos são: necrose linfóide multifocal, necrose pancreática, miocardite, infiltração linfóide no baço, miocárdio, cérebro, olhos, músculos oculares, crista e músculos esqueléticos. As lesões

esplênicas são caracterizadas por proliferação de células reticulares na polpa branca, acompanhada pelo acúmulo de heterófilos. Após cinco a seis dias da infecção, há o desenvolvimento de uma encefalite no cérebro e no cerebelo, caracterizada por infiltração difusa perivascular de células mononucleares, necrose de células neuronais, edema e algumas hemorragias. A extensão e a gravidade das lesões dependem da amostra viral que está causando o problema, assim como, da espécie das aves envolvidas no problema.

## Diagnóstico

A história clínica de problemas respiratórios, tais como, espirros, descarga nasal e ocular, lesões na crista e barbeta, de diarreias e sinais nervosos, com alta mortalidade das aves afetadas e o aparecimento de lesões características da doença, podem levar a um diagnóstico apenas presuntivo da doença, porque estes sintomas e lesões podem ser de outras doenças. A confirmação da doença deve ser feita pelo isolamento e identificação do agente. Reações sorológicas positivas servem para ajudar no diagnóstico e detectar casos subclínicos da doença.

## Isolamento viral

O vírus da influenza tem sido isolado de amostras individuais ou um conjunto de amostras de tecidos de aves mortas, como: pulmão, traquéia, sacos aéreos, intestinos, baço, cérebro, fígado, coração e sangue.

Nas aves vivas os suabes de cloaca e traquéia são utilizados frequentemente para o isolamento do vírus, devido a replicação deste vírus no trato respiratório e digestivo das aves. Principalmente na investigação da doença em patos, os locais que servem de bebedouros para estas aves também devem ser examinados, porque o vírus pode ser isolado da água contaminada pelas secreções e fezes. No surto da doença na Austrália, em 1997, a fonte de água das galinhas, que era de um rio perto da propriedade, não foi suficientemente tratada ou filtrada, permitindo a sobrevivência do vírus na água de bebida da propriedade, resultando em doença nas aves.

A inoculação em ovos embrionados de 9 a 11 dias é a maneira mais difundida de isolamento do vírus. Estes ovos são inoculados na cavidade cório- alantóide com aproximadamente 0,2ml de uma suspensão da amostra, tratada com antibióticos. Para aumentar a probabilidade de crescimento do vírus, ambas as rotas, cavidade amniótica e alantóide, podem ser utilizadas no mesmo ovo.

A morte embrionária nas primeiras 24 horas, normalmente resulta de contaminação bacteriana do material preparado, sendo estes ovos descartados. Amostras muito virulentas podem matar o embrião em torno de 48 horas, entretanto, em muitos casos os embriões não morrem. Depois de 72 horas da inoculação, ou da morte do embrião, estes devem ser removidos da incubadora e colocados sob refrigeração para posterior coleta do líquido cório-alantóide ou amniótico. A demonstração da replicação viral é verificada pela atividade hemaglutinante do antígeno contido no líquido. Quando não há hemaglutinação, outras passagens em ovos embrionados devem ser feitas.

## Identificação viral

O líquido alantóide de qualquer embrião inoculado, que tenha morrido, e de todos os ovos embrionados no final do período de incubação (sete dias), são testados para a presença da atividade hemaglutinante. A presença do vírus da influenza tipo A pode ser confirmada pelo teste de imunodifusão, entre o vírus concentrado e um soro preparado a partir de antígeno do nucleocapsídeo ou da matriz do vírus, ambos comuns a todos os vírus de influenza do tipo A.

Para subtipificar os vírus o laboratório deve ter soros monoespecíficos preparados contra cada um dos 16 antígenos HA e 9 antígenos NA, que podem ser utilizados no teste de imunodifusão. Alternativamente, os novos isolamentos podem ser examinados por testes de inibição da hemaglutinação (HI) e da neuraminidase (NI), contra uma bateria de soros policlonais que cubra todos os subtipos.

## Sorologia

Várias técnicas são utilizadas para a monitorização sorológica e diagnóstico. Os testes mais utilizados são o da inibição da hemaglutinação (HI), e o da imunodifusão para detectar anticorpos contra a proteína do núcleo (NP). Outros testes sorológicos podem ser utilizados, como por exemplo, vírus neutralização, fixação de complemento, inibição da neuraminidase e ensaio imunoenzimático (ELISA).

Os testes sorológicos utilizados devem ser feitos de 7 a 10 dias depois da infecção, para se caracterizar a infecção pelo vírus da influenza aviária. Além disso, deverá ser feita uma coleta de sangue de aves convalescentes, 14 a 28 dias depois de iniciar os problemas, para a certificação de que se trata da doença.

## Detecção direta do vírus

A demonstração direta do vírus da influenza, ou de proteínas virais em amostras de tecidos de animais doentes, pode ser utilizada, mas não é rotina. Técnicas de imunofluorescência, ELISA por captura de antígeno, imunohistoquímica e hibridização *in situ*, podem ser empregadas na detecção do vírus, de proteínas virais e células envolvidas na replicação viral nos tecidos infectados.

## Diagnóstico diferencial

A infecção pelo vírus da influenza aviária causa nas aves, sintomas e lesões que variam de problemas respiratórios leves, queda na produção e qualidade dos ovos, até alta mortalidade, dificuldades respiratórias graves, diarreia, problemas nervosos (torcicolo), dificultando o diagnóstico clínico, que só poderá ser definitivo por exames virológicos e sorológicos. Baseados nisso, recomenda-se fazer o diagnóstico diferencial das várias enfermidades respiratórias que acometem as aves, tais como:

doença de Newcastle e outros paramyxovirus, clamidiose, micoplasmoses, coriza infecciosa, cólera aviária, pneumovirose, laringotraqueíte, enterite viral dos patos, entre outras.

Normalmente, as infecções concorrentes, principalmente as imunodepressoras, dificultam e até podem mascarar o diagnóstico da influenza.

## Tratamento

Na prática não há tratamento viável para a infecção do vírus da influenza aviária. No tratamento da influenza humana já existem drogas, o hipoclorito de amantadine e o hipoclorito de rimantadine, que são efetivas na profilaxia da doença. Estas drogas tem sido utilizadas, experimentalmente, em infecções de codornas, perus e galinhas com resultados satisfatórios. Entretanto, ela se mantém, no mínimo, por 3 dias na albumina e gema do ovo, e por este motivo, estes medicamentos não foram liberados para o uso em aves de consumo humano. Os trabalhos realizados em perus, codornas e galinhas, mostraram uma acentuada queda na mortalidade (50%), nas aves tratadas, mas estas aves ainda permaneceram com a infecção e liberando o vírus.

Todos os outros tratamentos têm sido usados como suporte para os problemas respiratórios. Os antibióticos utilizados são para reduzir as contaminações por micoplasmas e infecções bacterianas secundárias.

## Prevenção

A principal fonte de difusão do vírus para as aves são as outras aves infectadas. Assim sendo, as medidas básicas para a prevenção do problema passam, necessariamente, pela separação das aves saudáveis, das secreções e excreções das aves contaminadas com o vírus da influenza aviária. Para que isto seja possível devem ser adotadas medidas rígidas de biossegurança, tais como:

- Remover a sujeira, esterco e outras matérias orgânicas das superfícies, lavar e aplicar desinfetantes.
- Lavar e desinfetar, gaiolas, bebedouros, comedouros, veículos e outros equipamentos.
- Aves mortas devem ser descartadas em local adequado, fossa asséptica.
- Trabalhadores das granjas devem tomar banho e trocar de roupa ao entrar e ao sair do trabalho.
- Não viajar para locais em que exista surto da doença, se não for possível, tomar medidas de limpeza e higiene, pessoal e do veículo.
- Não visitar granjas com problemas. Se visitar outras granjas ou mercado de aves vivas, trocar roupas e sapatos antes de começar a trabalhar.
- Repovoar os galpões com aves de procedência idônea.
- Criar lotes de idade única. Tudo dentro, tudo fora.
- Proteger as aves do contato com aves silvestres, principalmente as aquáticas e migratórias.

As aves silvestres devem ser consideradas como reservatório do vírus da influenza aviária, e uma fonte em potencial de contaminação para as aves domésticas. Diminuir ou eliminar o contato entre estes dois grupos deve constituir num dos principais objetivos na prevenção da doença. Os suínos também podem servir como fonte do vírus, principalmente para perus, com transmissão mecânica ou por pessoas infectadas.



## Controle

O vírus da influenza aviária faz parte das doenças de notificação obrigatória da Organização Internacional de Epizootias (OIE), e está classificada na lista A das doenças notificáveis. Devido a isto, toda e qualquer suspeita da doença deve ser comunicada ao Ministério da Agricultura, para que este tome as medidas necessárias para o controle da doença. As medidas a serem tomadas são, basicamente, a de impedir a difusão do vírus além do local da infecção, para isto, são tomadas medidas de biossegurança, além de isolamento e quarentena.

## Vacinação

As aves são suscetíveis a infecção dos vírus da influenza aviária, para quaisquer dos 16 subtipos de HA, e não há maneira de se prever qual irá infectar um lote. Quando não se tem a doença, é impraticável utilizar esquemas de vacinação porque, não há reação cruzada entre os diversos subtipos. Qualquer controle por vacinação só poderá ser utilizado após o isolamento de amostra que estiver incidindo no surto da influenza podendo, nestes casos, ser uma ferramenta para o controle da doença. Recentemente vacinas foram utilizadas para controlar surtos da doença no México e no Paquistão.

No Brasil é proibido o uso da vacina porque não há nenhum diagnóstico clínico nem laboratorial, sendo a doença considerada como exótica. Até poucos anos atrás, os Estados Unidos controlavam a doença através do sacrifício das aves doentes e de campanhas educacionais. Entretanto, a partir de 1998, o USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos), licenciou uma vacina recombinante para uso em casos de emergência, e está sendo utilizada em perus como parte de uma estratégia de ações múltiplas. O produto é uma vacina de poxvírus das galinhas que contém um gene de hemaglutinina de uma amostra H5 do vírus da influenza aviária.

Segundo as recomendações da OIE, de forma geral, a utilização de vacinas para o controle da gripe aviária apresentaria vantagens e desvantagens. Os argumentos contra a utilização de vacinas podem ser os seguintes:

- O uso das vacinas provavelmente não auxiliaria na implementação de medidas de biossegurança, quando equivocadamente o produtor tem a sensação de que outras medidas são menos importantes, uma vez que se está vacinando.
- A vacinação pode evitar o surgimento dos sinais clínicos, individualmente, mas não proporcionaria a eliminação do vírus no ambiente necessariamente.
- A presença de animais vacinados quando na presença do vírus poderia facilitar o surgimento de novas variantes virais pela pressão de seleção, o que se explica pelo “drift” antigênico.
- A vacinação poderia favorecer o surgimento de portadores assintomáticos, aumentando a disseminação viral.

De outra forma os argumentos favoráveis a utilização de vacinas são:

- A vacinação prevenindo a doença pode preservar a indústria de um país especialmente na ocorrência de focos.
- A vacinação das aves poderia minimizar a possibilidade de transmissão para humanos e

emergência de uma cepa pandêmica.

- Poder-se-á verificar falhas vacinais com a adoção de animais sentinelas, não vacinados alertando para potenciais transmissões.
- A vacinação é uma etapa necessária para possível erradicação do vírus em determinada área quando todos os indivíduos deveriam tornar-se negativos.
- Este protocolo não interferiria no controle da doença em humanos, sendo até uma necessidade em alguns casos.

Na realidade mundial atualmente, pode-se concluir que as medidas de biossegurança devem ser o principal foco no controle da influenza e o impacto da vacinação tem características particulares em cada país. A decisão de se utilizar ou não a vacinação deve ser baseada em vários aspectos como já mencionado nas vantagens e desvantagens e o surgimento de novas tecnologias na produção de vacinas será determinante nestas decisões. A utilização de produtos enquadrados na chamada DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals – diferenciação de animais infectados dos vacinados) é uma realidade cada vez mais promissora no controle de várias enfermidades incluindo a influenza. Neste sentido estas tecnologias, assim como as chamadas “vacinas mucosas”, devem minimizar as desvantagens na utilização de vacinas e favorecer o controle da influenza aviária no futuro.

## Bibliografia

Alexander DJ. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine*. In press 2006.

Antonovics J, Hood ME, Baker CH. Molecular virology: was the 1918 flu avian in origin? *Nature* 2006; 440(7088):E9-E9.

Beard CW. Influenza. In: Purchase, editor. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 4th ed. Kennet Square: American Association of Avian Pathogens, University of Pennsylvania; 1997. p. 110-113.

Capua I, Marangon S. Control and prevention of avian influenza in an evolving scenario. *Vaccine* 2007; 25(30):5645-5652.

Easterday BC, Hinshaw VS, Halvorson DA. Influenza. In: Bruce W. Calnek BW, Saif H, Barnes J, Beard C, editors. Diseases of poultry. 10nd ed. Ames: Iowa Press University; 1997. p. 583-605.

Ferguson NM. *et al.* Ecological and immunological determinants of influenza evolution. *Nature* 2003; 422:428-433. Gambaryana A. *et al.* Evolution of the receptor binding phenotype of influenza A (H5) viruses. *Virology* 2006; 344:432-438.

Garcia-Garcia J, Ramos C. La influenza, un problema vigente de salud publica. *Salud Publica de Mexico* 2006;48(3): 244-267.

Germann TC, Kadau K, Longini IM, Macken CA. Mitigation strategies for pandemic influenza in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006; 103(15):5935-5940.

- Goulart AC. Revisiting the Spanish flu: the 1918 influenza pandemic in Rio de Janeiro. *História, Ciências, Saúde* 2005; 12(1):101-142.
- Hamilton DS, Smith BT. Atlantic Storm. *EMBO reports* 2006; 7(1): 4-9.
- Knapp D. Avian flu: bracing for a pandemic. *Risk Management Magazine* 2006; 53:44-49.
- Lamb RA, Krug RM. Orthomyxoviridae: the viruses and their replication. In: Bernard N, editor. *Fields virology*. 3rd ed. Philadelphia 1996; 1:1353-1395.
- McFerran JB, McNulty MS. *Virus infectious of birds*. London: Elsevier 1993; 4:283-316.
- Olson SR, Gray GC. The Trojan chicken study. *Emerging Infectious Diseases* 2006; 12(5):795-799. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza*; 1997 maio 29-31; Pennsylvania. 401 p. Salle CTP, Moraes HLS. Influenza aviária de alta patogenicia. *A Hora Veterinária* 2007; 26:60-65.
- Smith BT, Inglesby TV, Brimmer E, Borio L, Franco C, Gronvall GK. *et al*. Navigating the storm: Report and recommendations from the Atlantic Storm exercise. *Biosecurity and Bioterrorism-Biodefense Strategy Practice and Science* 2005; 3(3):256-267.
- Steinhauer DA. A role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza vírus. *Virology* 1999; 258:1-20.
- Suarez DL, Schultz-Cherry S. Immunology of avian influenza virus: a review. *Developmental and Comparative Immunology* 2000; 24:269-283.
- Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang RX, Jin GZ, Fanning TG. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature* 2005; 437(7060):889-893.
- Update: Isolation of Avian Influenza A (H5N1) Viruses from Humans-Hong Kong, 1997-1998. Available: <<http://www.cdc.gov/epo/mmwr/preview/mmwrhtml/00050775.htm>>. Vaccine. In press 2006.
- Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiology Review* 1992; 56(1):152-179.
- Webster RG, Hulse DJ. Microbial adaptation and change: avian influenza. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2004; 23(2):453-465.

## Bronquite infecciosa das galinhas

<b>Introdução</b>	<b>631</b>
<b>Etiologia</b>	<b>631</b>
<b>Características físico-químicas</b>	<b>632</b>
<b>Transmissão</b>	<b>632</b>
<b>Período de incubação</b>	<b>632</b>
<b>Classificação do vírus da bronquite infecciosa das galinhas</b>	<b>632</b>
<i>Variante</i>	633
<i>Sorotipo</i>	634
<i>Genotipo</i>	635
<i>Protectotipo</i>	635
<i>Tropismo</i>	635
<i>Patotipo</i>	636
<b>Patogênese da infecção nas aves</b>	<b>636</b>
<i>Aves jovens</i>	637
<b>Lesões microscópicas</b>	<b>639</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>640</b>
<i>Fatores que influenciam o sucesso da detecção de VBIG</i>	640
<i>Diagnostico Indireto</i>	641

<b>Marcadores para inferência de proteção e para tipificação do VBIg</b>	<b>643</b>
<b>Diagnóstico diferencial</b>	<b>643</b>
<b>Situação da bronquite infecciosa no Brasil</b>	<b>644</b>
<b>Prevenção e controle</b>	<b>645</b>
<b>Conclusão</b>	<b>646</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>646</b>

# Bronquite infecciosa das galinhas

José Di Fábio, Laura Yaneth Villarreal Buitrago

## Introdução

Reconhecida desde 1931 (Schalk e Hawn, 1931) como uma doença respiratória de aves jovens, a bronquite infecciosa das galinhas (BIG) pode ser definida como uma doença infecto-contagiosa com manifestações respiratórias, renais, reprodutivas e entéricas de frangos, poedeiras e reprodutoras, causada por uma grande diversidade de tipos de vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG), com ampla disseminação mundial.

A importância da BIG reside nas perdas econômicas pela diminuição da produção de ovos, ovos com alterações de conteúdo interno e de casca, geração de falsas poedeiras, infertilidade, retardo no crescimento, aumento na susceptibilidade a infecções secundárias (pelas lesões no trato respiratório) e, em alguns casos, mortalidade de moderada a severa.

## Etiologia

O VBIG é um coronavírus do grupo 3, classificado na ordem Nidovirales, família Coronaviridae, a qual compreende os gêneros Coronavirus e Torovirus (González *et al.*, 2003; Van Regenmortel *et al.*, 2000). O gênero Coronavirus é ainda subdividido em três grupos definidos por epítomos presentes nas glicoproteínas de envelope, seqüências de nucleotídeos e hospedeiros naturais ([Figura 1](#)) (Holmes; Lai, 1996).

Grupo 1	
TGEV	Transmissible gastroenteritis virus
FIPV	Feline infectious peritonitis virus
FCoV	Feline enteric coronavirus
CCoV	Canine coronavirus
HCoV-229E	Human coronavirus 229-E

PRCoV	Porcine respiratory coronavirus
HCoV-NL63	Human coronavirus NL53
Bat-CoV-61	Bat coronavirus 61
Bat-CoV-HKU2	Bat coronavirus HKU2
PEDV	Porcine epidemic diarrhea virus
<b>Grupo 2</b>	
BCoV	Bovine coronavirus
HCoV-OC43	Human coronavirus OC-43
HEV	Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus
MHV	Mouse hepatitis virus
RCoV	Rat coronavirus
ECoV	Equine coronavirus
CRCoV	Canine respiratory coronavirus
PCoV	Puffinosis virus
SDAV	Sial-odacryoadenitis virus
HCoV-HKU1	Human coronavirus hku1

Grupo 3	
IBV	Infectious bronchitis virus
PHCoV	Pheasant coronavirus
GCoV	Goose coronavirus
PCoV	Pigeon coronavirus
DCoV	Duck coronavirus
TCoV	Turkey coronavirus

**Figura 1** - Classificação do gênero Coronavirus, mostrando, em destaque, o VBI (Infectious bronchitis virus).

Os coronavírus são vírus envelopados, pleomórficos, aproximadamente arredondados, com cerca de 100 a 150nm de diâmetro e com cinco ou seis proteínas estruturais (N, M, sM, HE, S e I), dependendo da espécie viral. O genoma é constituído por um RNA de fita simples não-segmentado de sentido positivo com até 32kb, originando um nucleocapsídeo de simetria helicoidal em associação com a nucleoproteína N, uma fosfoproteína de 50 a 60kDa rica em aminoácidos básicos (Holmes; Lai, 1996; Lai; Cavanagh, 1997).

A proteína de matriz ou membrana (M), antigamente nomeada de E1, varia entre 225 a 230 aminoácidos. A proteína M desempenha função na montagem da partícula viral, formando a estrutura do envelope e o core, sendo uma proteína de baixa variabilidade entre os coronavírus, na qual a ocorrência de mutações não leva a alterações na patogenicidade e no tropismo por tecidos, ao contrário do que ocorre com a proteína S (Clark, 1993; Lai; Cavanagh, 1997; Vabret *et al.*, 2001; Yamada *et al.*, 2000).

A principal proteína estrutural de envelope do VBI é a proteína S (spike), antigamente nomeada de E2, formando projeções de cerca de 20nm de comprimento responsáveis pela aparência espiculada do vírion e pela atividade hema- glutinante, sendo o principal alvo para anticorpos neutralizantes (Collins *et al.*, 1982). É também a proteína mais polimórfica entre os coronavírus, organizada como dímeros ou trímeros. A proteína completa tem 180kDa, mas em algumas espécies virais, é clivável nas subunidades S1 e S2, com cerca de 90kDa cada (Cavanagh, 1995).

## Características físico-químicas

A maioria das cepas do VBI são inativadas após 15 minutos a 56°C e após 90 minutos a 45°C. Líquido alantóide infeccioso conservado a -30°C mantêm a viabilidade por muitos anos. Tecidos infectados, se conservados em refrigeração por 80 dias, conservam a viabilidade viral. Exsudato traqueal seco, se conservado a 4°C, permanece infectante por até 180 dias. O VBI é considerado como sensível à maioria dos desinfetantes comuns. (Cavanagh e Naqi, 2003).

## Transmissão

O VBI se dissemina pela via horizontal rapidamente por contato direto ou indireto. Tem sido sugerida a transmissão vertical do vírus, mas ainda não existem fatos comprovados sobre isto. O



local primário de replicação é o trato respiratório superior, independente da cepa ou característica patogênica do vírus.

## Período de incubação

O período de incubação da BIG é de 18 a 36 horas, dependendo da dose e via de inoculação.

## Classificação do vírus da bronquite infecciosa das galinhas

A classificação fenotípica ou genotípica do VBIG é baseada em características da proteína S do genoma viral. Dezenas de sorotipos têm sido relatados e indubitavelmente existem muitos mais.

Tradicionalmente, os sorotipos de BIG são determinados através de testes de soroneutralização. Muitos laboratórios estão atualmente utilizando reações de RT-PCR para analisar a subunidade S1 da proteína S. A abordagem de ácido nucléico, define os isolados como genótipos. É muito comum, pela natureza do vírus, que o VBIG passe por eventos de recombinação ou mutações (deleções, inserções ou substituições) durante uma infecção mista (com outros VBIG) (Cavanagh e Naqi, 2003).

Este grande número de mudanças genéticas determina uma enorme variabilidade antigênica do vírus. Este fato complica o diagnóstico, uma que vez que precisa ser determinado além da presença do vírus, o sorotipo/genótipo envolvido em determinado surto da doença. Embora classicamente os diferentes tipos emergentes se limitem a uma região geográfica, o caso contrário pode acontecer, levando a que aconteçam mudanças na prevalência dos principais tipos circulantes de cada região (Nix *et al.*, 2000).

Os sorotipos mais conhecidos são: Beaudette, Massachusetts, Connecticut, Arkansas, 793B, JMK e D274, entre outros.

Para entender de uma forma mais clara a classificação da BIG, é estritamente necessário conhecer o significado de alguns termos utilizados rotineiramente quando desta doença se está falando.

### Variante

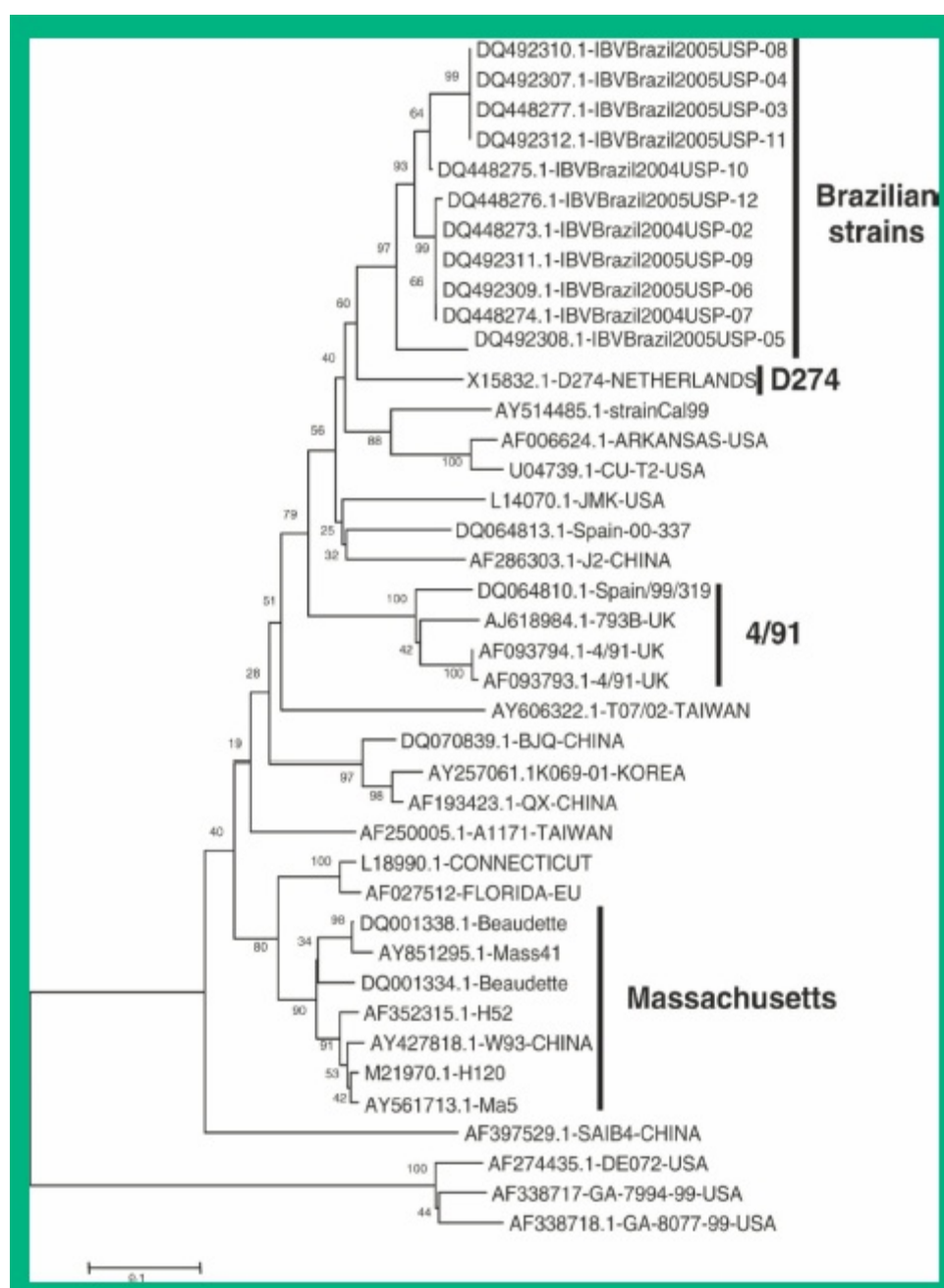
O termo variante é largamente utilizado no campo em casos de bronquite infecciosa e tornou-se um termo consagrado no meio avícola, sendo empregado desde o campo até laboratórios de pesquisa, diagnóstico e esferas governamentais.

No Brasil, o termo variante geralmente refere-se àquelas amostras de VBIG que não podem ser classificadas, quer seja por reações sorológicas, como soroneutralização, quer seja por técnicas de biologia molecular do gene, como a transcrição-reversa seguida de reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR).

Na reação de soroneutralização para tipificação de VBIG no Brasil, utilizam-se soros hiperimunes de galinhas produzidos contra tipos de VBIG de referência como, por exemplo, o sorotipo Massachusetts, soro este que é então testado em amostras virais isoladas de campo em ovos

embrionados de galinha, cultivos de anéis de traquéia ou em cultivo celular.

Assim, se uma determinada amostra que se queira tipificar por soroneutralização tiver seu efeito sobre os embriões de galinha, anéis de traquéia ou cultivos celulares inibido após reação com um determinado anti-soro, infere-se que havia identidade entre soro e vírus e, portanto, o vírus isolado pertence àquele tipo viral referente ao soro em questão.



Árvore filogenética de aminoácidos baseada na região S1 de vírus da Bronquite Infecciosa de diferentes partes do mundo e do Brasil.

Paralelamente, se o efeito não for inibido, ou seja, se o resultado for negativo, a amostra viral isolada de campo não pode ser relacionada a nenhum dos tipos virais de referência dos soros e é então classificada como variante.

Por sua vez, as reações de RT-PCR são realizadas utilizando-se *primers* que permitem a detecção dos tipos virais de referência.

Assim, na tipificação por RT-PCR, se houver a amplificação de um determinado segmento do

genoma de um dos tipos virais previstos na reação, pode-se concluir que a amostra de campo, isolada ou não, pertença àquele determinado tipo. Caso contrário, similar ao que ocorre na tipificação por soroneutralização, a amostra será classificada como variante.

Entretanto, no caso da soroneutralização, um resultado negativo é muito limitante para o controle e a prevenção da BIG, visto que a classificação de um VBIG de campo como variante, ou seja, por exemplo, não-Massachusetts, não significa que ela não possua homologia com outros tipos de VBIG que possam estar circulando nos plantéis avícolas, relacionados ou não àqueles utilizados em formulações vacinais, ou mesmo com tipos isolados em outros países, que poderiam ser por sua vez detectados caso se dispusesse de anti-soros para uma maior diversidade de tipos.

O mesmo problema emerge quando da obtenção de um resultado negativo em RT-PCR para tipificação de VBIG, visto que a amostra de campo em teste pode ter resultado negativo por conter tipos virais outros que não aqueles detectáveis pelos *primers* em uso; ou seja, um VBIG variante poderia ser classificado em um dos diversos tipos existentes caso um número mais amplo de *primers* tipo- específicos fosse utilizado.

Entretanto, uma limitação tanto para a tipificação por soroneutralização quanto por RT-PCR é a necessidade de que se disponha de um amplo conjunto de vírus de referência para a produção dos soros hiperimunes e para uso como controles positivos, sendo agravante que, no caso da soroneutralização, estes vírus têm que estar vivos.

Além disso, para a tipificação baseada em RT-PCR, há a dificuldade em se desenharem *primers* que permitam a detecção de um ou outro tipo de VBIG, a partir do gene que codifica para a glicoproteína de espícula, onde há maior diferenciação entre as diversas amostras de VBIG.

Apesar destas limitações, o uso de soroneutralização e RT-PCR como descrito acima para tipificação de amostras de campo de VBIG é útil para confirmar a presença de amostras relacionadas à Massachusetts em estudos preliminares e em laboratórios que não disponham de técnicas como seqüenciamento de DNA.

Como conclusão, propõe-se na situação atual do Brasil que o termo variante seja entendido como amostra diferente às amostras de referência de VBIG.

## Sorotipo

O termo sorotipo refere-se à classificação baseada em reações sorológicas de uma dada amostra de VBIG.

No caso de VBIG, existem atualmente mais de 20 sorotipos diferentes, definidos em função de epítomos presentes na porção globular externa da glicoproteína de espícula do envelope.

Assim, amostras de VBIG pertencentes a um determinado sorotipo são aquelas que compartilham epítomos comuns entre si na glicoproteína de espícula do envelope, o que pode ser revelado utilizando-se, por exemplo, a reação de soroneutralização.

A importância da determinação do sorotipo de uma dada amostra de campo de VBIG reside no fato de haver baixa ou nenhuma proteção cruzada entre os sorotipos (Cook *et al.*, 1999; Cavanagh,

2007), visto que os epítomos utilizados para a sorotipagem são os mesmos envolvidos na ligação dos anticorpos das aves ao VBIg e, portanto, no impedimento da infecção.

Ou seja, se uma ave foi vacinada ou naturalmente infectada com um determinado sorotipo, espera-se que a mesma, durante algum tempo, esteja protegida da infecção por VBIg deste mesmo sorotipo, mas susceptível à infecção por um sorotipo diferente. Entretanto, há um certo grau de proteção cruzada entre sorotipos (ver protectotipos).

Uma desvantagem de sorotipagem é a pouca padronização entre os diferentes sistemas e os usuários e também que as etapas de leitura são sujeitas a interpretação pessoal, como “típica” mudança da morfologia embrionária ou efeito citopático em cultura celular.

## Genotipo

O termo genotipo (ou genótipo) refere-se à classificação baseada em características genéticas de uma dada amostra de VBIg.

Para a determinação de genótipo, podem ser utilizadas RT-PCRs com *primers* específicos para os diversos genótipos/sorotipos em uma reação única em um único tubo (multiplex RT-PCR), resultando em produtos de PCR de tamanhos diferentes para cada genótipo (Capua *et al.*, 1999) ou utilizando o seqüenciamento de DNA, este último com a vantagem de permitir uma caracterização mais acurada de amostras de campo de VBIg por permitir a visualização de “assinaturas genéticas” únicas para determinados tipo virais.

A aplicação destas técnicas para o gene codificador da glicoproteína de espícula S de determinada amostra viral é o meio efetivo para a genotipagem de uma amostra de campo de VBIg, pois é neste gene que há maior variabilidade em função da grande pressão imunológica sobre a proteína S.

Além disso, utilizando-se o seqüenciamento de DNA para o gene S, é possível prever o grau de proteção conferido por uma dada vacina em relação às amostras circulantes de VBIg no plantel, pois os epítomos responsáveis pela neutralização viral estão localizados na proteína S (Ladman *et al.*, 2006), sendo uma alternativa mais facilmente alcançável em comparação a estudos de desafio *in vivo*. A informação genética é objetiva e fornece informação essencial para estudos epidemiológicos.

No entanto, resultados de genotipagem devem ser analisados com cautela, pois algumas poucas mudanças de nucleotídeos e aminoácidos no gene S não necessariamente implicam em novos sorotipos e, por outro lado, podem levar à perda de proteção cruzada entre tipos de VBIg.

## Protectotipo

Como exposto anteriormente, novos sorotipos surgem como resultado de apenas algumas alterações na seqüência de nucleotídeos da região hipervariável do gene da espícula. Apesar de essas alterações poderem dar origem a novos sorotipos de VBIg, uma parte considerável do gene S permanece inalterada e pode ser este o motivo pelo qual certo sorotipo pode prover proteção cruzada contra tipos de VBIg que não pertençam ao mesmo sorotipo. Por este motivo, desde o

ponto de vista prático, é importante pensar em termos de protectotipos e não de sorotipos (Cook *et al.*, 1999).

Assim sendo, protectotipo pode ser definido como o tipo de VBIG contido em uma vacina que leve à proteção *in vivo* contra o desafio por vírus de campo do seu mesmo sorotipo ou de sorotipos diferentes àquele contido na vacina.

Para a determinação formal de protectotipos é necessário realizar estudos de proteção experimental em aves e verificar o grau de proteção heteróloga entre amostras vacinais e de desafio, mas como discutido na seção referente a genótipos, é possível inferir proteção a partir de seqüências do gene S.

## Tropismo

Tropismo pode ser entendido como a capacidade do vírus em se ligar aos receptores celulares, adsorvendo-se à membrana celular e, eventualmente, adentrar o meio intracelular. No caso do VBIG o tropismo é determinado pela proteína S que é responsável pela ligação a receptores celulares.

Entretanto, o fato de uma amostra de VBIG ter tropismo por certo tipo de células ou tecido não implica necessariamente que o mesmo seja capaz de causar lesões nestes locais, pois pode haver adsorção viral e até mesmo infecção intracelular sem que o vírus seja capaz de manifestar sua patogenia na célula em questão.

Por exemplo, muitas amostras de VBIG têm tropismo pelo trato respiratório, ainda que não causem lesões no mesmo e sim em órgãos como os rins (Cavanagh e Naqi, 2003).

Para a determinação do tropismo, pode-se aplicar a técnica imunohistoquímica, evidenciando-se os tipos celulares dentro dos quais o vírus está presente, ressaltando que resultados positivos por esta prova não permitem inferir patogenia, mas apenas presença intracelular do vírus.

Determinar o tropismo de certa amostra de VBIG é de auxílio para o entendimento das portas de entrada, vias de excreção e vias de transmissão de BIG.

O tropismo no tecido é um aspecto do VBIG que tem sido pouco estudado até o momento desde o ponto de vista molecular, uma vez que ainda não se determinaram com segurança marcadores moleculares para tal finalidade.

## Patotipo

Define-se como patotipo a classe a que pertence uma amostra de VBIG em relação à sua capacidade em causar lesão em certo tipo de célula ou tecido.

Por exemplo, há amostras capazes de causar lesão em rins, sendo denominadas nefropatogênicas, enquanto outras causam lesões em trato reprodutivo e outras ainda, mais classicamente, causam lesões em trato respiratório.

Variações genéticas podem resultar em mudanças no tropismo e patogenicidade viral que por sua

vez podem levar à geração de novos patótipos de VBIIG.

Desde que a forma típica respiratória da BIG foi relatada nos anos 30 (Cavanagh e Naqi, 1997), cepas nefropatogênicas (Meir, 2004), enterotrópicas (Ambali e Jones, 1990), cepas que tem tropismo pelo trato reprodutivo (Cavanagh e Naqi, 2003; Boltz *et al.*, 2004; Villarreal *et al.*, 2007a) e associadas à lesão de musculatura peitoral (Yu *et al.*, 2001) têm sido encontradas. Foram relatadas também amostras de VBIIG que afetam o proventrículo na China (Yu, *et al.*, 2001).

Embora seja conhecido que o VBIIG pode replicar no trato gastrointestinal das galinhas, este vírus ainda não foi completamente relacionado a doença entérica. Por exemplo, de acordo com Ambali e Jones (1990), uma cepa específica do VBIIG (cepa G) é capaz de replicar em todos os segmentos do intestino.

No entanto, em um estudo realizado na Universidade de São Paulo, 11 amostras de VBIIG brasileiras isoladas de trato gastrointestinal de aves apresentando quadro entérico severo sem nenhum outro sintoma característico de infecção por VBIIG e sendo apenas o único patógeno isolado tanto viral, quanto bacteriano, é sugerido que este vírus pode estar diretamente implicado no quadro patológico apresentado pelas aves e, portanto, representa um emergente e importante padrão patogênico de BIG. Outros coronavírus aviários, como os coronavírus de faisão (PhCoV) e o coronavírus de perus (TCoV) também possuem patogenicidade e tropismo entérico (Cavanagh *et al.*, 2002).

Durante quase cinco anos de estudo deste agente na USP, o conteúdo intestinal de aves tem sido utilizado com sucesso como material de eleição, além dos tipicamente empregados, para o diagnóstico e isolamento do VBIIG.

Embora seja de conhecimento geral que o VBIIG tem tropismo pelo trato reprodutivo da fêmea, causando lesões que podem ser permanentes, no caso da infecção de aves jovens, ou que podem causar diminuição severa da produção dos ovos e alteração da qualidade interna e externa do ovo, também foi relatada, em diferentes países incluindo no Brasil, a alteração que pode causar este vírus no trato reprodutivo dos galos, levando à diminuição acentuada da fertilidade (Boltz *et al.*, 2004; Villarreal *et al.*, 2007a).

Em um estudo de comparação de patogenicidade de amostras de VBIIG australianas isoladas entre 1961 e 1994 (A), foi confirmada uma mudança no tipo patogênico das cepas de VBIIG prevalentes nos lotes comerciais na Austrália. Adicionalmente à mudança do tipo patogênico, houve também uma diminuição da patogenicidade das cepas prevalentes. Originalmente, as cepas nefropatogênicas eram altamente patogênicas, induzindo alta mortalidade entre 1961 e 1976. Na década seguinte (1981 e 1994 (B)), a alta mortalidade antes evidenciada diminuiu consideravelmente. Mudanças na antigenicidade também foram relatadas. Os isolados de IBV de (A) eram caracteristicamente nefropatogênicos, enquanto que os que foram isolados posteriormente (B) eram na maioria respiratórios (Ignjatovic *et al.*, 2002).

No Brasil, atualmente, a BIG apresenta-se em todas as formas patogênicas descritas, tendo tido um considerável aumento a sintomatologia renal, que por sua vez tem levado a aumentos de mortalidade não tão característicos nesta doença.

# Patogênese da infecção nas aves

É claro que os diferentes tipos de VBIG têm um amplo e variado tropismo, e que as manifestações clínicas da doença podem ser diversas. Embora o nome Bronquite infecciosa leve ao conceito errado de se tratar de uma doença de caráter respiratório, este nome tem sido mantido para evitar confusões.

## Aves jovens

### Infecção respiratória

Se a infecção por vírus de BI não sofre complicação, os sintomas tendem a desaparecer entre 10-15 dias. Alterações patológicas variáveis ocorrem como edema e exsudato catarral ou mucoso na traquéia e brônquios, congestão pulmonar, inflamação catarral ou fibrinosa nos sacos aéreos, pericardite e pleurite. Pintos muito novos apresentam inflamação catarral nas vias aéreas e dos seios, causando descarga nasal e lacrimejamento. Em alguns casos a coagulação do exsudato produz pus nos brônquios que levam à morte. O quadro de Síndrome de Cabeça Inchada, caracterizado por edema de barbela, sinusite, conjuntivite, pode estar associado ao vírus de BI. A mortalidade nestes casos depende da evolução dos sintomas, do número de partículas virais, cepa, e interação com agentes bacterianos como *E.coli*, *O. rhinotracheale*, *Bordetella*, *Pasteurella*. A aplicação inadequada de amostras vacinais pouco atenuadas pode levar ao mesmo quadro da doença (Cápua *et al.*, 1994 e Cavanagh e Naqi, 2003).

A progressão das lesões na traquéia foi dividida em três estágios: degenerativo, hiperplásico e de recuperação (Dhinakar e Jones, 1997).

### Efeitos no trato renal

A nefropatogenicidade tem sido associada apenas com algumas cepas. As cepas nefropatogênicas do VBIG causam inicialmente sintomas respiratórios, seguidos por sintomas derivados do dano renal como incremento no consumo de água e fezes aquosas. Pode acontecer mortalidade, a qual segue um padrão consistente. As primeiras mortes usualmente acontecem ao redor de 6 dias pos infecção, incrementando rapidamente e fazendo pico 10 dias pos infecção, com as últimas mortes ao redor de 16 dias pos infecção. No entanto, as taxas de mortalidade dependem de vários fatores intrínsecos e extrínsecos.

Os rins das aves infectadas com o VBIG nefropatogênico apresentam aumento de tamanho e palidez, com túbulos e ureteres distendidos com uratos.

### Aves de postura (postura comercial e reprodutoras)

**Sistema respiratório:** não ocorrem ou, se ocorrem, é de forma discreta. Em casos de complicação bacteriana, os sintomas são os mesmos descritos para aves jovens.



Infecção respiratória.

Sistema urinário: **as lesões vão de discretas (ligeiro aumento renal) a um quadro de urolitíase, que é uma condição de degeneração renal seguida de atrofia renal**, fibrose, cálculos renais formados nos dutos coletores e ureteres de aves afetadas. Frangas de reposição são potencialmente afetadas com mortalidade variando de 2 a 50% ou mais. Aves mortas geralmente apresentam um quadro de gota úrica visceral.



Infecção do trato renal.

Aves em produção em gaiola apresentam queda acentuada de produção, sendo que, muitas aves afetadas continuam a ser produtivas, se pelo menos metade da massa renal permanecer funcional. Aves recuperadas podem apresentar gota úrica articular.



Amostras nefrotrópicas como as amostras Gray and Holte e, mais recentemente a amostras Mw34, têm sido correlacionadas a estes quadros. Algumas cepas Mass podem causar esta condição de maneira moderada a severa. Especula-se que a urolitíase não seria uma interação de um vírus de BI, mas dietas altas em Ca e baixas de P. Restrição de água também não pode ser descartada.

## Efeitos no trato reprodutivo

**Aves de postura:** Em poedeiras, a BIG causa uma queda severa na produção e posteriormente, causa deterioração da casca e qualidade interna do ovo. Tais efeitos podem ser acompanhados ou não por sintomatologia respiratória. Algumas cepas causam apenas descoloração da casca do ovo (Cook e Huggins, 1986). A produção pode começar a aumentar após duas a três semanas, mas alcança apenas níveis sub-ótimos.

O vírus também pode causar hipoplasia glandular, o que leva a redução da síntese de proteínas do albúmen, especialmente a ovomucina, lisosima e outras proteínas (Dhinakar e Jones, 1997).

**Aves jovens:** A infecção de fêmeas de menos de duas semanas de idade pode causar lesões permanentes no desenvolvimento do trato reprodutivo, resultando em falsas poedeiras. O terço médio do oviduto é o mais severamente afetado com áreas de hipoplasia localizada (Dhinakar e Jones, 1997).

**Machos:** Recentemente, foi descrito um estudo no qual foi detectado o VBIG em testículos de reprodutores apresentando queda de fertilidade severa. A patogênese do VBIG no trato reprodutivo das fêmeas deriva-se da replicação viral no epitélio ciliado do trato reprodutivo, resultando em perda de cílios e necrose das células glandulares e epiteliais. O epitélio dos ductos eferentes dos testículos consiste também de células ciliadas e não ciliadas (Aire, 1980). Parece muito provável, portanto, que estas células sejam susceptíveis à replicação do VBIG. No entanto, estudos experimentais objetivando a reprodução da doença em machos, utilizando o VBIG isolado neste estudo são necessários para estabelecer uma associação definitiva entre este vírus e problemas de fertilidade em machos (Villarreal *et al.*, 2007a).



Infeção do trato reprodutivo em fêmeas.



Infecção do trato reprodutivo em machos (atrofia testicular causada por BIG variante).



Infecção do trato entérico (aves postura com diarreia causada por BIG).

### **Efeitos no trato intestinal**

Embora seja conhecido que o VBIG pode replicar no trato respiratório das aves, este vírus não tinha sido associado até o momento como causador de doença entérica, excetuando alguns isolados que tem sido associados com proventriculite (Cavanagh 2005 e Yu *et al.*, 2001). No entanto, Villarreal *et al.*, 2007b, após realizarem uma pesquisa multi-fatorial em aves apresentando apenas diarreia severa e, após de terem sido descartados outros patógenos entéricos ou outras causalidades e analisando a evolução dos coronavírus, propuseram que o VBIG tem um papel de destaque no desencadeamento de doença entérica em aves (Villarreal *et al.*, 2007b).

### **Miopatia peitoral**

Uma importante cepa do VBIG é a 793B, que tem sido associada a miopatia peitoral superficial e profunda. As lesões descritas são inchaço e palidez dos músculos peitorais e a presença de hemorragias faciais e edema gelatinoso na superfície muscular. Foi sugerido que o vírus não está relacionado diretamente com as lesões musculares, mas a formação e deposição de complexos imunes nas paredes dos capilares dos músculos podem ser a possível causa para o desenvolvimento desta lesão (Dhinakar e Jones, 1997).

## Lesões microscópicas

Não existem lesões patognomônicas do vírus de BI. Não se observam corpúsculos de inclusão. O exame histológico pode ser um recurso para se avaliar a virulência, a patogenicidade e avaliação de respostas imunes.

No trato respiratório, seja em situações de desafio de campo ou inoculação, o que se nota é a ocorrência de diminuição dos cílios, com descamação do epitélio, presença de células inflamatórias e presença de edema na porção da mucosa e submucosa.

Observa-se ainda congestão vascular. Na submucosa vê-se vacuolização e hemorragia. O lúmen traqueal pode conter exsudato sero-mucoso, que pode ou não conter células inflamatórias.

A ausência de cílio e a descamação ocorrem nos primeiros dois dias de infecção seja qual for a idade em que esteja ocorrendo a infecção. Em aves jovens o edema de submucosa é proeminente, com discreto infiltrado inflamatório. Em aves mais velhas, esse infiltrado já se apresenta mais intenso, talvez pela resposta imune da ave ser mais eficiente. Esse infiltrado celular, bem como a presença de edema, também tem relação com a amostra de vírus, pelo fato de ser mais ou menos virulenta. Infecções secundárias também podem ter interferência na presença de infiltrado.

No trato reprodutivo o que se pode observar é uma redução localizada ou generalizada de cílios, fibroplasia e edema, presença de focos de infiltrado celular mononuclear. No trato urinário observa-se como lesão básica nefrite intersticial. Esta alteração do trato reprodutivo, nas diferentes partes que o compõem, leva às alterações típicas da BIG como casca do ovo deformada e diminuição da consistência da clara, por alteração da produção das principais proteínas da albumina. O vírus da Broquite infecciosa das galinhas também é relacionado com problemas de retenção de ovos no útero e estenose do oviduto.



Miopatia peitoral causada por BIG.

## Diagnóstico

Embora o VBIIG seja um dos vírus que cause maiores perdas econômicas na indústria avícola, os sinais clínicos desta doença não são específicos. Por isso é necessário o emprego de ferramentas para identificar o VBIIG e relacioná-lo com o problema clínico evidenciado no campo. De modo geral, o VBIIG pode ser diagnosticado pela detecção do (ou partes do) vírus ou pela resposta específica de anticorpos. A escolha do melhor teste diagnóstico e a subsequente interpretação dos mesmos pode ser muito difícil e confusa.

### Fatores que influenciam o sucesso da detecção de VBIIG

**A) Tempo entre o começo da infecção e amostragem:** o trato respiratório superior é o sítio primário de replicação do VBIIG, seguido de uma viremia que faz que o vírus dissemine por outros tecidos. Todas as cepas do VBIIG podem ser isoladas do trato respiratório superior, com a maior concentração da traquéia durante os primeiros 3 a 5 dias pos-infecção (p.i). Após este período, o título do vírus cai rapidamente na segunda semana abaixo dos níveis de detecção.

Um fator complicante desde o ponto de vista diagnóstico é a questão de em que órgãos e em quantas aves, o estado de portador de vírus (vacinal ou de campo) é possível. Existem possíveis explicações para isolamentos à longo prazo ou re-excreção do vírus inoculado e contínua infecção cruzada entre lotes infectados ou vacinados. Os dois lugares principais para a persistência do vírus são as tonsilas cecais e os rins.

**B) Nível de imunidade da ave ao momento da infecção:** o nível da imunidade adquirida ao momento da infecção tem a maior influência no tempo e quantidade de VBIg que pode ser detectado. A presença de anticorpos maternos não reduz o nível de re-isolamento de vírus de desafio na traquéia e no rim após o desafio de pintinhos de dois dias de idade.

**C) Número de aves amostradas:** pegar menos amostras que as requeridas diminui as chances de detecção da infecção por VBIg. O ideal é colher de pelo menos 6 aves.

**D) Escolha dos órgãos (amostras):** quando sintomas respiratórios agudos são predominantes, o trato respiratório é amostrado preferivelmente. O rim, as tonsilas cecais e a cloaca são escolhidos preferivelmente quando se trata de infecções crônicas ou infecções em aves vacinadas como poedeiras e reprodutoras, onde pequenas quantidades de vírus são esperadas no trato respiratório.

**E) Qualidade das amostras:** as amostras devem ser refrigeradas rapidamente para preservar a viabilidade do vírus. Se o congelamento ou a refrigeração não são possíveis, as amostras devem ser colocadas em glicerina 50%. Assim o VBIg permanece viável por muitos dias, mesmo se a refrigeração não foi possível.

**F) Genética da ave:** vários estudos indicam que aspectos genéticos podem influenciar a susceptibilidade a IBV, demonstrando mortalidade variada entre diferentes linhagens de aves após a inoculação de IBV sozinho ou em co-infecção com *E. coli*.

**G) Isolamento do vírus (multiplicação e detecção de IBV infeccioso):** o isolamento viral pode ser laborioso, pode consumir tempo e pode ser caro. Adicionalmente, a via clássica de isolamento pode precisar várias passagens em ovos embrionados até que a mortalidade embrionária aconteça ou os outros sinais dos embriões.

## Diagnóstico Indireto

### Detecção de anticorpos

As infecções por VBIg podem ser detectadas pela detecção ou pelo aumento do título de anticorpos VBIg - específicos. Geralmente, para correlacionar o problema clínico com a infecção pelo VBIg, é necessária a amostragem pareada. A primeira amostra é coletada no início da doença e a segunda amostra quatro semanas depois.

Alguns fatores podem influenciar o sucesso da detecção de anticorpos de VBIg como, por exemplo, a idade ao momento da infecção/vacinação (o grau de resposta imune humoral após da infecção ou vacinação pode diminuir quando a infecção acontece em uma idade muito inicial, porque muitos dos pintos não são ainda imunocompetentes), a presença de anticorpos maternos no momento da infecção/vacinação (pode retardar ou diminuir a resposta sorológica à vacinação ou à infecção). Presença de imunidade ao momento da infecção/vacinação (a sensibilidade dos testes para detectar anticorpos pode ser muito menor em aves vacinadas quando comparadas com aves não vacinadas). O número de aves amostradas (o número de aves que tem de ser amostradas para detectar soroconversão depende da prevalência da doença e da sensibilidade do teste), reações cruzadas entre os sorotipos e ocorrência de novas e inesperadas cepas de VBIg (De Wit, 2000).

**ELISA:** método imunoenzimático que, pela automação, permite a detecção e titulação de Ac em uma grande amostragem de soros ao mesmo tempo. A maioria das provas de ELISA que existe no mercado é genérica para o VBIg, ou seja, não diferencia sorotipos. Isto se deve ao fato de a superfície da placa onde se dá a reação Ag-Ac, ser impregnada com suspensão viral na sua forma completa. A resposta então se dá a qualquer amostra de VBIg. Detecta IgG, tornando-se, portanto, um indicador de imunidade humoral, permitindo a análise de uma resposta pós-vacinação e de infecção (aves adultas).

**Soroneutralização:** detecta Ac produzidos pela fração protéica S1, portanto, é uma prova sorotipo- específica. Pode ser realizada em cultura de células ou em anel traqueal. A leitura tem como princípio o mesmo do isolamento do vírus em ovo embrionados, cultivo celular e anéis de traquéia, ou seja, a comprovação de alterações embrionárias, efeitos citopáticos e ciliostase. Requer um soro que não tenha reação cruzada com outro sorotipo. Os anticorpos neutralizantes são altamente específicos e responsáveis pelo efeito protetor do soro. Estão dirigidos contra determinantes antigênicos da superfície viral, que inter- vêm no processo de adsorção à célula. Um inconveniente deste teste é a falta de padronização entre os diferentes sistemas de soroneutralização e os usuários que leva à dificuldade para comparar os testes entre os diferentes laboratórios.

**Inunodifusão em gel de ágar:** a realização deste teste não requer muitos equipamentos nem instalações específicas. Com este teste, a inclusão de um soro de controle positivo é importante para diferenciar bandas de precipitação não específicas de bandas de precipitação específicas de VBIg. Embora este teste seja relativamente simples, existe uma falta de padronização dele para VBIg (De Wit, 2000).

**Teste de inibição da hemaglutinação:** o VBIg não é naturalmente hemaglutinante, necessitando de tratamento prévio com a enzima fosfolipase tipo C, para a exposição das hemaglutininas, o que torna esta prova trabalhosa e de difícil padronização. Anticorpos inibidores da hemaglutinação são induzidos primariamente pela proteína de espícula S1. Usualmente, o teste de HI detecta primeiro anticorpos entre uma a duas semanas após a infecção. O teste de HI é sorotipo específico quando é usado para detectar anticorpos após uma inoculação única.

A especificidade sorotipo específica do teste de HI é muito menor após a re-infecção com VBIg, especialmente quando o segundo ou subsequente sorotipo é heterólogo (De Wit, 2000).

## **Diagnóstico direto**

**Isolamento em ovos embrionados:** os efeitos característicos causados pelo VBIg em ovos embrionados de galinha são o método mais clássico para o diagnóstico deste vírus e vêm sendo utilizados com sucesso desde o início dos estudos em VBIg.

Tais efeitos incluem nanismo, enrolamento, hemorragia e morte dos embriões, variando as lesões em função das amostras de cepas em questão, aumentando a sua intensidade com o maior número de passagens em ovo.

Para tanto, são utilizados ovos embrionados de galinha com 9 a 10 dias de idade, inoculados pela cavidade alantóide com 0,1 a 0,2mL da amostra de campo (macerado de órgãos, conteúdo

entérico, suábies traqueais e cloacais, todos sob a forma de suspensões adicionadas de antibióticos e filtradas em membranas de 0,22mm de porosidade), incubando-se novamente os ovos por um período de até quatro dias, tempo após o qual o líquido alantóide é colhido para novas passagens e os embriões são analisados morfológicamente. O título máximo de IBV é alcançado um a dois dias pos-inoculação (sem contar amostras que não se adaptam a ovos embrionados)

Ovos embrionados de galinha são um modelo efetivo para o isolamento de amostras de campo de VBIIG por serem susceptíveis à maioria das amostras de campo, mas trazem a desvantagem de, na maior parte das vezes, serem necessárias pelo menos três passagens sucessivas para a manifestação das lesões características nos embriões, levando a um longo tempo para o diagnóstico. Adicionalmente, podem existir circunstâncias que podem fazer fracassar o isolamento em ovos, como por exemplo, quando o IBV é inativado por má conservação. Outra possível causa para falha do isolamento do vírus pode ser o caso de uma co- infecção com outro vírus que impeça ao IBV de se replicar nos OE.

Além disso, para uma maior especificidade, é necessário que se realize um teste confirmatório, como, por exemplo, soroneutralização ou a transcrição reversa seguida pela reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR).

**Cultivo em anéis de traquéia:** o cultivo de anéis de traquéia tem sido amplamente utilizado para o diagnóstico e avaliação da proteção cruzada para o VBIIG. Este método restringe ao mínimo as mudanças antigênicas decorrentes de adaptação do VBIIG ao cultivo laboratorial. Esta técnica utiliza anéis de traquéia de embriões SPF com 19 a 20 dias de incubação. Os anéis obtidos das traquéias dos embriões são colocados individualmente em tubos de ensaio contendo meio de cultivo celular e antibióticos e incubados a 37°C em sistema rotatório de cultivo durante 48 horas, sendo que apenas os anéis com mais de 50% de motilidade ciliar são utilizados (Epiphanyo *et al.*, 2002).

Após este período, remove-se o meio de cultivo e adicionam-se 0,1mL de suspensão da amostra a ser testada, seguindo-se uma hora de incubação para adsorção viral, adicionando-se, então, 1mL de meio de cultivo celular, retornando à incubação.

Nos tempos de 24, 48, 72 e 96 horas após a inoculação, os anéis de traquéia são então observados em microscópio óptico invertido, avaliando-se a mobilidade ciliar, que deve diminuir em função da replicação do VBIIG (Epiphanyo *et al.*, 2002).

Apesar de ser esta uma técnica presuntiva eficiente, apresenta a desvantagem de não ser sensível para amostras de campo de VBIIG que não possuem tropismo pelo trato respiratório, podendo, portanto, resultar em falso-negativos.

Deve-se saber que a ciliostase também pode ser induzida por muitos outros agentes, por isso IBV deve ser confirmado por outros métodos específicos.

**Métodos baseados em ácidos nucléicos:** a detecção de VBIIG baseada na evidência da presença do RNA viral específico pela técnica da reação de transcriptase reversa seguida pela reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) teve sua utilização aumentada nos últimos anos, em função de sua acurácia para diagnóstico e tipificação e da diminuição dos custos de implantação e



execução, o que permitiu que um grande número de laboratórios públicos e privados passasse a utilizá-la rotineiramente.

Brevemente, a técnica de RT-PCR primeiramente produz um DNA a partir do RNA do VBIg de modo específico dirigido por pequenas “sondas” de DNA, chamadas de *primers*. A seguir, este DNA assim produzido, chamado de DNA complementar, é amplificado bilhões de vezes pela reação em cadeia pela polimerase propriamente dita, sendo o tamanho do fragmento de DNA dupla fita produzido (medido em pares de bases) limitado pelos *primers* e, posteriormente, o fragmento de DNA específico assim produzido pode ser detectado em eletroforese.

Para o diagnóstico de triagem pelo método de RT-PCR, é necessária primeiramente a eleição de regiões genômicas que sejam altamente conservadas dentro de uma certa espécie de patógeno, para que os *primers* sejam capazes de dar início à amplificação de seqüências específicas presentes na maior diversidade possível de tipos do agente a ser detectado.

No caso do VBIg, uma região do genoma já consagrada para o diagnóstico de triagem é o gene que codifica a nucleoproteína N e também uma região que se localiza no final do genoma do VBIg, a qual não codifica qualquer proteína, mas que tem função na replicação do genoma viral e que é chamada de região não traduzida 3', conhecida pela sigla em inglês 3' UTR (3' untranslated region). Ou seja, RT-PCRs que tem estas regiões como alvo são capazes de virtualmente permitir o diagnóstico de qualquer sorotipo ou genotipo de VBIg.

Entretanto, estes alvos acima descritos não permitem a diferenciação entre diversas amostras/cepas de VBIg, sendo, para isso, necessária agora a eleição de uma região que permita detectar diferenças entre tais amostras.

Neste caso, o gene codificador da glicoproteína de espícula S apresenta-se como uma região que possui áreas específicas para cada sorotipo e genotipo, visto que a proteína S é a que mais sofre pressão de seleção por parte do sistema imune.

Assim, é possível utilizar *primers* em RT-PCR voltados ao gene S que especificamente detectam este ou aquele tipo de VBIg ou que permitem produzir DNA para que esta diferenciação seja então feita por seqüenciamento de DNA.

A pesar da RT-PCR se tratar de uma técnica altamente sensível e específica, não devem ser deixados de lado testes convencionais e consagrados de diagnóstico virológico. A associação dos resultados obtidos pelas diferentes técnicas permitirá um diagnóstico mais preciso e objetivo do problema em questão. Esta técnica não diferencia entre partículas virais infecciosas ou não infecciosas.

## **Marcadores para inferência de proteção e para tipificação do VBIg**

As diferenças entre as proteínas S na sua região mais externa, chamada de subunidade S1, têm indubitavelmente uma vantagem seletiva para o VBIg. Isto é, a imunidade induzida pela vacinação com um sorotipo protege pobremente contra uma infecção causada por um sorotipo heterólogo de VBIg, por ser a proteína S a que estimula a geração de anticorpos neutralizantes e, portanto, por ser ela a indutora da proteção contra determinado sorotipo.

Uma vez que a região da subunidade S1 almejada pelo seqüenciamento de DNA e suas seqüências putativas de aminoácidos são responsáveis pela ligação ao receptor, definição de sorotipo e vírus neutralização (Wang e Huang, 2000; Cavanagh e Davis, 1986; Ignjatovic e Galli, 1994), tal região pode ser usada para a predição da eficácia das vacinas, uma vez que o grau de proteção cruzada declina com a diminuição da identidade da seqüência S1 entre cepas de campo e cepas vacinais (Cavanagh e Naqi, 1997; Ladman *et al.*, 2006).

De acordo com Ladman *et al.* (2006), existe uma alta correlação entre identidade de aminoácidos da região hipervariável amino terminal do S1 e os valores de proteção relativos e, além disso, uma baixa proteção cruzada pode ser esperada entre cepas com identidades de aminoácidos <math>74\%</math> para esta região, que permite a evasão da proteção conferida por um sorotipo heterólogo (Gelb *et al.*, 2005).

## Diagnóstico diferencial

Uma vez que os sinais clínicos desta doença não são patognomônicos, existem diferentes doenças que podem apresentar o mesmo quadro clínico, entre elas, pneumovirose, coriza infecciosa, doença de Newcastle, Laringotraqueíte, EDS. A doença de Newcastle pode ser mais severa, sobretudo em caso de cepas neurotrópicas que podem levar ao aparecimento de sintomas nervosos; a laringotraqueíte infecciosa é de disseminação mais lenta dentro do lote de aves, mas os sintomas respiratórios podem ser mais severos do que os da BIG. A coriza infecciosa geralmente vem acompanhada de inflamação facial, que raramente acontece em casos de BIG não complicada e, no caso de EDS, a qualidade interna do ovo não é afetada.

Ainda é preciso considerar as interferências ambientais que podem ocasionar quadros respiratórios. Nos distúrbios reprodutivos, além de causas infecciosas, existem as causas nutricionais e as ambientais.

## Situação da bronquite infecciosa no Brasil

No Brasil, a presença de vírus da Bronquite Infecciosa das galinhas diferentes aos isolados em diferentes países da América, Europa, ou Ásia começou a ser relatada com bastante freqüência por volta dos anos 2000, o que não significa que esta variação não estava presente antes desta época.

Di Fabio *et al.*, 2000, estudaram 15 isolados oriundos de frangos de corte, poedeiras comerciais, reprodutoras e um lote de codornas, que apresentavam sintomas respiratórios, entéricos, renais ou reprodutivos no ano de 1995. Após testes de neutralização cruzada em anéis de traquéia, foi demonstrado que um dos isolados pertencia ao grupo Massachusetts e os 14 restantes representavam pelo menos quatro grupos antigênicos, todos os quais diferentes daqueles descritos anteriormente em outros países. Neste mesmo trabalho, foi demonstrado que a utilização de um programa de vacinação que incorpore duas vacinas heterólogas apresentou ótimos resultados de proteção.

Bilenga *et al.*, 2004 afirmam que aves vacinadas com a cepa H120 do sorotipo Massachusetts têm baixa proteção contra desafio heterólogo. Este é um dos motivos principais de porque o VBIG é

tão difícil de controlar sob condições de campo, onde os lotes são infectados com cepas de campo heterólogas (variantes) e é a razão de porque, apesar das diferentes estratégias de vacinação empregadas nas aves, ainda o VBIIG continua causando tantas perdas econômicas na produção avícola. Isto é um indicativo de que os sorotipos vacinais autorizados atualmente não conferem proteção cruzada contra os vírus circulantes no Brasil.

Em pesquisa realizada por Montassier *et al.*, 2006, foram analisadas 12 amostras isoladas entre 1988 e 2000 de granjas de frango de corte comercial e de granjas de poedeiras comerciais localizadas nas regiões sul e sudeste do Brasil. Estas amostras apresentaram diferentes perfis filogenéticos após a análise do gene S: cinco isolados apresentaram alta identidade com o sorotipo vacinal utilizado no Brasil, tendo sido isoladas de aves que apresentavam sintomas renais e respiratórios.

Neste mesmo estudo, um isolado de aves experimentando problemas respiratórios apresentou homologia com o sorotipo Connecticut, sendo que as aves das quais esta amostra foi obtida tinham recebido vacina H120. Dois isolados de aves com sintomas renais e respiratórios estavam relacionados com o sorotipo Arkansas e, finalmente, quatro isolados apresentaram uma baixa identidade com a maioria das cepas de referência e isolados de diferentes países, se mostrando como isolados nativos brasileiros.

Segundo Abreu *et al.*, 2006, após a análise de parte do gene S de 16 isolados de VBIIG de granjas em Minas Gerais, sete encontraram-se em um grupo diferente de todos os demais VBIIG descritos no mundo, incluindo amostras vacinais e além disso, demonstrando serem isolados regionais do Brasil, merecendo destaque o fato de que esta ampla diversidade de VBIIG no Brasil começou a acontecer antes do uso oficial da vacinação e tem persistido desde então.

Até pouco tempo atrás, acreditava-se que surtos atípicos da bronquite infecciosa das galinhas, acometendo os plantéis avícolas brasileiros, e caracterizados por sintomas renais e respiratórios severos e, em alguns casos, associados a alterações da musculatura superficial e profunda, eram causados pelo sorotipo 4/91 do VBIIG.

No entanto, Brentano *et al.*, 2006 após analisarem 3 amostras isoladas de aves apresentando apatia, problemas respiratórios e renais, aumento de mortalidade, queda na produção e lesões na musculatura do peito, demonstraram, após análise filogenética, que nenhuma das amostras se agrupava com a amostra 4/91. Ao invés disso, uma das amostras agrupou com o sorotipo Massachusetts e as outras duas estavam relacionadas com amostras nefropatogênicas, sendo que uma delas estava próxima ao sorotipo D274 do VBIIG.

Villarreal *et al.*, 2007a, detectaram um VBIIG em galos apresentando problemas de fertilidade e, após a análise molecular, foi evidente que o vírus não pertencia ao sorotipo Massachusetts, comumente usado para vacinação no Brasil, e que pelo contrário, este vírus ficou próximo aos sorotipos D274, Cal99 e Arkansas.

Do mesmo modo, após serem realizadas análises do gene S de diferentes amostras de VBIIG isolados de lotes de frangos e poedeiras comerciais apresentando problemas exclusivamente entéricos entre 2002 e 2006, sem outro sintoma clássico de BIG, foram agrupadas num único cluster e estando próximos ao sorotipo D274 e distantes ao sorotipo Massachusetts.

Estas mesmas amostras, quando comparadas com quatro amostras isoladas por Montassier et al, 2006, nos anos de 1988 e 2000 e oriundas de lotes apresentando sintomas respiratórios, ficaram bastante próximas com estas últimas, o que indica que as amostras circulando nos planteis brasileiros estejam eles apresentando sintomas, respiratórios, renais ou entéricos, possuem um padrão molecular bastante particular, tanto quando comparadas entre elas, quando comparadas com amostras de referência e isolados representativos de diferentes partes do mundo.

Assim sendo, de um modo geral, os isolados brasileiros, na sua maioria apresentam-se como pertencendo a um mesmo genotipo, podendo representar neste caso um novo sorotipo característico do Brasil, o qual, ao mesmo tempo, apresenta-se próximo aos sorotipos Arkansas e D274.

No caso dos isolados de VBIG estudados por Villarreal et al na Universidade de São Paulo, a identidade destes com o sorotipo vacinal utilizado no Brasil (Massachusetts) é de apenas 70%, o que permite inferir uma proteção baixa contra o desafio de campo.

Nestes estudos citados anteriormente, vários dos isolados do VBIG foram obtidos de aves oriundas de regiões onde a vacinação contra BIG não tinha sido implementada; nestes casos, a presença de vírus de BIG variantes aconteceu sem o envolvimento de vírus vacinais que pudessem ser indicados como fonte de recombinação.

## Prevenção e controle

Medidas de biossegurança e manejo adequadas devem ser inicialmente implementadas não só para o controle da BIG mas também para evitar a entrada de outros patógenos potenciais às granjas. No aspecto de manejo deve ser controlado o fluxo de pessoas para outros galpões, controle de acesso de veículos. No caso de granjas de múltipla idade, o controle da doença fica praticamente impossível.

Atualmente, o controle da BIG é obtido por vacinação das aves através do uso de vacinas vivas atenuadas e inativadas. As vacinas vivas atenuadas são obtidas após passagens seriadas do vírus de campo em ovos embrionados SPF ou em cultivos celulares. À medida que são realizadas mais passagens do vírus de campo, este fica mais adaptado ao ovo embrionado/cultivo celular, mas perde patogenicidade para a ave (Wakenell e Sharma, 1986). O vírus, por tanto, mantém a capacidade de replicação nos tecidos das aves em menor grau do que o vírus de campo. Esta replicação é necessária para induzir uma maior resposta imunitária das aves. Estas vacinas têm a função de prevenir e controlar infecções em frangos de corte e servir como primovacinação de poedeiras comerciais e reprodutoras.

As vacinas inativadas contém vírus mortos e, portanto, sem capacidade de replicação, de modo que a administração se realiza mediante a aplicação individual. Estas vacinas são aplicadas a aves previamente imunizadas com vacinas vivas antes da postura para induzir níveis de anticorpos elevados, uniformes e de longa duração que serão transmitidos à progênie (Cavanagh e Naqi, 2003).

De um ponto de vista prático, são logisticamente impossíveis a produção e o emprego de vacinas

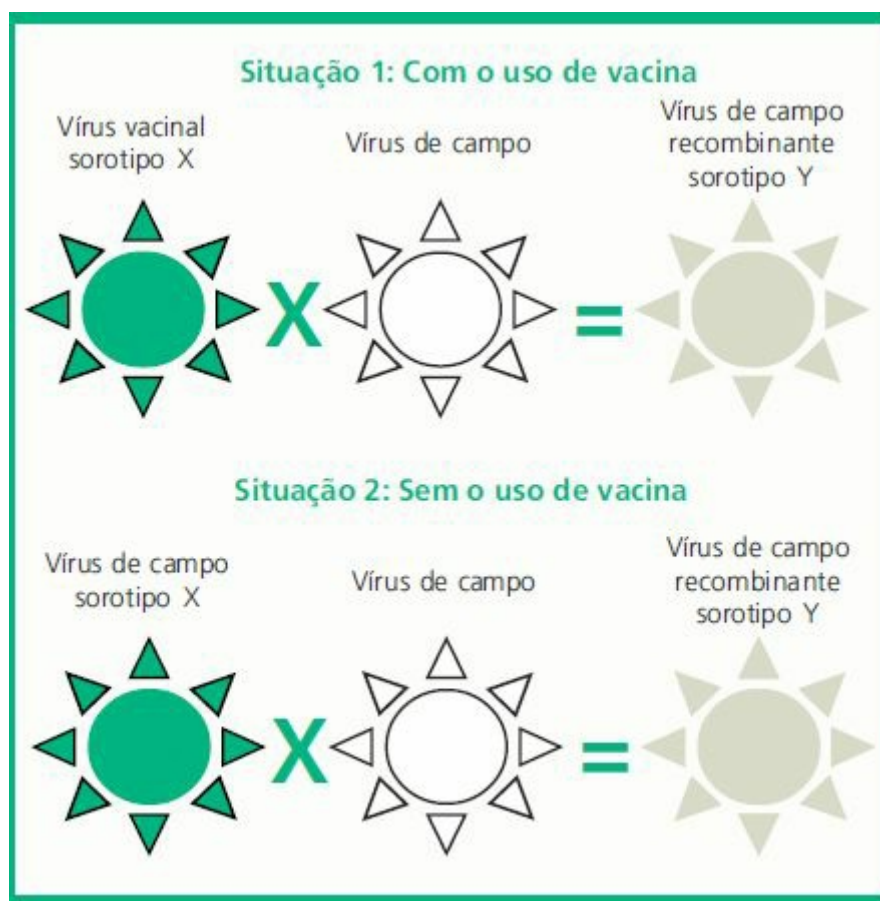
específicas para cada tipo de BIG que surja no campo. Deste modo, com a alta taxa de recombinação que os coronavírus apresentam, seria necessário o emprego de centenas de vacinas para o controle de cada sorotipo específico que surgisse.

Ao invés disso, uma vez que não há uma vacina específica contra os isolados brasileiros, a identificação da amostra vacinal mais próxima ao desafio de campo para a eleição do melhor esquema vacinal seria a estratégia ideal.

Uma vez selecionado o sorotipo mais próximo, pode-se aplicar um programa vacinal que utilize dois sorotipos diferentes de VBIG. Deste modo, é ampliado o espectro de proteção contra o desafio de BIG de muitos sorotipos diferentes, sem a necessidade de desenvolver uma nova vacina de BIG para combater cada novo sorotipo de BIG que emerge (Cook *et al.*, 1999).

Aventou-se que o uso de mais de um sorotipo vacinal em programas de vacinação contra a BIG poderia resultar na recombinação entre este sorotipo vacinal e as amostras de campo resultando em um vírus recombinante que causaria a impossibilidade de controlar a doença.

Entretanto, uma vez que um novo sorotipo de VBIG a ser incluído em programas vacinais seja filogeneticamente próximo aos vírus circulantes em campo, esta preocupação não deve mais existir, uma vez que o resultado da recombinação vírus vacinais x vírus de campo seria a mesma que o da recombinação vírus de campo x vírus de campo. Ou seja, mesmo que este segundo vírus vacinal não fosse utilizado, a possibilidade de emergência de recombinantes seria a mesma em função da já existência de sorotipos similares ao mesmo ([Figura 2](#)).



**Figura 2** - Um dos possíveis resultados do uso de vacina contra VBIG sobre a emergência de vírus recombinaentes: a probabilidade de emergência do sorotipo recombinaente Y é a mesma sem o uso da vacina e com o uso da vacina, desde que o mesmo sorotipo X esteja presente no campo e na vacina.

## Conclusão

O controle da doença em plantéis reside em se detectar a origem do problema, quais seus fatores primários e a existência de fatores complicantes. O ajuste de programas de vacinação através de monitoramento sorológico, a obediência a preceitos de biossegurança e os cuidados no manejo tem interferência direta sobre a síndrome da doença respiratória pelo VBIG e suas associações.

Alem disso, os tipos de VBIG existentes atualmente no Brasil já estavam circulando no plantel avícola nacional antes mesmo da introdução da vacinação com o sorotipo Massachusetts. Um grande número das amostras brasileiras de VBIG pode ser classificado em um único grupo consistente de amostras exclusivamente brasileiras, divergente de todas as demais amostras conhecidas mundialmente, fato relatado pelos diversos grupos de pesquisa envolvidos com BIG, sendo este grupo de amostras brasileiras mais próximo aos sorotipos Arkansas e D274.

Dentre estas amostras tipicamente brasileiras de VBIG, há a evidência de patótipos não usuais, como aqueles relacionados a enterite e outros à infertilidade em galos.

Somando-se à ocorrência dos sorotipos clássicos no Brasil, o conhecimento da existência de um grupo único tipicamente brasileiro de VBIG deve ser utilizado para pesquisas dirigidas à caracterização dos padrões patogênicos e de proteção para as mesmas, conferindo uma utilidade mais racional ao grande número de seqüências de DNA que vem sendo gerado em relação ao

## Bibliografia

- Abreu JT, Resende JS, Flatschart AVF, Mendes ACR, Martins NRS, Silva CBA, Ferreira MC, Machado ALC. Genotipificação de isolados do vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG) pelo seqüenciamento de parte de S2 e do segmento de S1. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2006; supl 8: 210.
- Aire TA. The ductuli efferentes of the epididymal region of birds. *Journal of Anatomy* 1980; 130:707-723.
- Ambali AG, Jones RC. Early pathogenesis in chicks of infection with an enterotropic strain of infectious bronchitis virus. *Avian Diseases* 1990; 34(4):809-817.
- Bilenga G, Cook JKA, Gelb J, Wit JJ. Development and use of the H strain of avian infectious bronchitis virus from The Netherlands as a vaccine: a review. *Avian Pathology* 2004; 33:550-557.
- Boltz AD, Nakai M, Bahr JM. Avian infectious bronchitis virus: A possible cause of reduced fertility in the rooster. *Avian Diseases* 2004; 48:909-915.
- Brentano L, Esteves PA, Trevisol IM, Hayashi MM, Luciano RL, Castro AGM, Klein TAP, Molinari M. Seqüenciamento do gene S1 de vírus de bronquite infecciosa (IBV) isolados de surtos da doença associada a lesões de miopatia peitoral. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2006; supl. 8: 241.
- Capua I, Gough RE, Mancini M, Casaccia C, Weiss C. A novel infectious bronchitis strain infecting broiler chickens in Italy. *Journal of Veterinary Medicine Series B* 1994; 41:83-89.
- Capua I, Minta Z, Karpinska E, Mawditt K, Britton P, Cavanagh D, Gough RE. Co-circulation of four types of infectious bronchitis virus (793/B, 624/1, B1648 e Massachusetts). *Avian Pathology* 1999; 28:587-592.
- Cavanagh D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Veterinary Research* 2007; 38:281-297. Cavanagh D. Coronaviruses in poultry and other birds (Review). *Avian Pathology* 2007; 34(6):439-448. Cavanagh D. Coronaviruses in poultry and other birds (Review). *Avian Pathology* 2005; 34(6):439-448.
- Cavanagh D. The coronavirus surface glycoprotein. In: Siddell SG. *The coronaviridae*. New York: Plenum; 1995. p. 73-113.
- Cavanagh D, Naqi SA. Infectious bronchitis. In: Saif YM, Barnes H J, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames: Iowa State Press, 2003; p. 101-119.
- Cavanagh D, Naqi SA. Infectious bronchitis. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Mc Dougald

LR, editors. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p. 511-526.

Cavanagh D, Davis J. Coronavirus IBV: removal of spike glycoprotein S1 by urea abolishes infectivity and hemagglutination but not attachment to cells. *Journal of General Virology* 1986; 67:1443-1453.

Cavanagh D, Mawditt K, Welchman DB, Britton P, Gough RE. Coronaviruses from pheasants (*Phasianus colchicus*) are genetically closely related to coronaviruses of domestic fowl (infectious bronchitis virus) and turkeys. *Avian Pathology* 2002; 31:81-93.

Clark MA. Bovine coronavirus. *British Veterinary Journal* 1993; 149(1):51-70.

Collins AR, Knobler RL, Powell H, Buchmeier MJ. Monoclonal antibodies to murine hepatitis virus-4 (strain JHM) define the viral glycoprotein responsible for cell attachment and cell-cell fusion. *Virology* 1982; 119(2):358-371.

Cook JKA, Orbell SJ, Woods AM, Huggins MB. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. *Avian Pathology* 1999; 28:477-485.

Cook JKA, Huggins MB. Newly isolated serotypes of infectious bronchitis virus: their role in disease. *Avian Pathology* 1986; 15:129-138.

De Wit JJ. Detection of infectious bronchitis virus. Technical review. *Avian Pathology* 2000; 29:71-93.

Dhinakar G, Jones RC. Growth of infectious bronchitis virus vaccines in oviducts derived from oestrogen-treated chicks and embryos. *Vaccine* 1997; 15(2):163-168.

Di Fabio J, Rossini LI, Orbell SJ, Paul G, Huggins MB, Malo A, Silva BGM, Cook JKA. Characterization of Infectious Bronchitis viruses isolated from outbreaks of disease in commercial flocks in Brazil. *Avian Pathology* 2000; 44:582-589.

Epiphany EOB, Martins NRS, Resende JS, Pinto RG, Jorge MA, Souza MB, Caccioppoli J, Cardozo RM. Resultados preliminares da utilização de cultivos de anéis de traquéia para o estudo de estirpes brasileiras do vírus da bronquite infecciosa das galinhas. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2002; 54(2):212-216.

Gelb Jr J, Weisman Y, Ladman BS, Meir R. S1 gene characteristics and efficacy of vaccination against infectious bronchitis virus field isolates from the United States and Israel (1996 to 2000). *Avian Pathology* 2005; 34(3):194-203.

González JM, Gomez-Puertas P, Cavanagh D, Gorbalenya AE, Enjuanes L. A comparative sequence analysis to revise the current taxonomy of the family Coronaviridae. *Archives of Virology* 2003; 148:2207-2235,

Holmes KV, Lai MM. Coronaviridae: the viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Virology*. 3rd. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers 1996; p.1075-1093.



Ignjatovic J, Ashton DF, Reece R, Scott P, Hooper P. Pathogenicity of Australian strains of avian infectious bronchitis virus. *Journal of Comparative Pathology* 2002; 126:115-123.

Ignjatovic J, Galli L. The S1 glycoprotein but not the N or M proteins of avian infectious bronchitis virus induces protection in vaccinated chickens. *Archives of Virology* 1994; 138:117-134.

Ladman BS, Loupos AB, Gelb Jr J. Infectious bronchitis virus S1 gene sequence comparison is a better predictor of challenge of immunity in chickens than serotyping by virus neutralization. *Avian Pathology* 2006; 35:127-133.

Lai M, Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research* 1997; 48(1):1-100.

McMartin DA. Infectious bronchitis virus. In: McFerran JB, McNulty MS, editors. *Virus infections of vertebrates: virus infections of birds*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1993. p.249-275.

Montassier MFS, Brentano L, Richtzenhain LJ, Montassier HJ. Genetic diversity on S1 glycoprotein of avian infectious bronchitis virus strains isolated in Brazil between 1988-2000. V. Internatiol Symposium on Avian Corona and Pneumoviruses; 2006; Rauschholzhausen, Germany.

Schalk AF, Hawn MC. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *Journal American Veterinary Medical Association* 1931; 78:413-416.

Vabret A, Mouthon F, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. Direct diagnosis of human respiratory coronaviruses 229E and OC43 by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods* 2001; 97:59-66,

Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR, Wickner RB. *Virus taxonomy: the classification and nomenclature of viruses. The Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Academic Press; 2000. p.1167.

Villarreal LYB, Brandão PE, Chacón JLV, Assayag MS, Maiorka PC, Raffi P, Saidenberg ABS, Jones RC, Ferreira AJP. Orchitis in roosters with reduced fertility associated with avian infectious bronchitis virus and avian metapneumovirus infections. *Avian Diseases*; In press 2007a.

Villarreal LYB, Brandão PE, Chacón JLV, Saidenberg ABS, Assayag MS, Jones RC, Ferreira AJP. Molecular characterization of infectious bronchitis virus strains isolated from the enteric content of brazilian laying hens and broilers. *Avian Diseases*; in press 2007b.

Wakenell PS, Sharma JM. Chicken embryonal vaccination with avian infectious bronchitis virus. *American Journal of Veterinary Research* 1986; 47:933-8.

Wang DH, Huang YC. Relationship between serotypes and genotypes based on the hypervariable region of the S1 gene of Infectious bronchitis virus. *Archives of Virology* 2000; 145:291-300.

Wakenell PS, Sharma JM. Chicken embryonal vaccination with avian infectious bronchitis virus.

American Journal of Veterinary Research 1986; 47:933-8.

Yamada YK, Yabe M, Ohtsuki T, Taguchi F. Unique N-linked glycosylation of murine coronavirus MHV-2 membrane protein at the conserved O-linked glycosylation site. *Virus Research* 2000; 66:149-154.

Yu L, Liang Y, Low S, Wang Z, Nam SJ, Liu W, Kwangac J. Characterization of three infectious bronchitis virus isolates from China associated with proventriculus in vaccinated chickens. **Avian Diseases** 2001; 45:416-424.

Doença infecciosa da bolsa de Fabrício

<b>Sinonímia</b>	<b>651</b>
<b>Histórico</b>	<b>651</b>
<i>Mutações do vírus de Gumboro (IBDV)</i>	651
<b>Etiologia</b>	<b>653</b>
<i>Replicação viral</i>	653
<b>Epidemiologia</b>	<b>654</b>
<i>Característica da doença</i>	654
<i>Características epidemiológicas do IBDV</i>	654
<i>Cadeia epidemiológica</i>	655
<b>Diagnóstico</b>	<b>661</b>
<i>Diagnóstico epidemiológico</i>	662
<i>Diagnóstico clínico</i>	662
<i>Diagnóstico anatomopatológico</i>	663
<i>Experiência brasileira no uso de vacinas tipo forte e provas de segurança</i>	664
<i>Diagnóstico laboratorial</i>	665
<i>Análise histopatológica</i>	665

<i>Sorologia</i>	666
<i>PCR</i>	667
<i>Isolamento viral</i>	668
<i>Ficha de monitoramento a campo</i>	668
<b>Profilaxia</b>	<b>668</b>
<i>Medidas de profilaxia aplicada às fontes de infecção</i>	668
<i>Medidas de profilaxia aplicadas ao mecanismo de transmissão</i>	668
<i>Medidas de profilaxia aplicadas aos suscetíveis</i>	669
<i>Medidas específicas de profilaxia (imunização)</i>	669
<b>Bibliografia</b>	<b>671</b>

## Capítulo 5.5

### Doença infecciosa da bolsa de Fabrício

Sinonímia .....	651
Histórico .....	651
Mutações do vírus de Gumboro (IBDV) .....	651
Etiologia .....	653
Replicação viral .....	653
Epidemiologia .....	654
Característica da doença .....	654
Características epidemiológicas do IBDV .....	654
Cadeia epidemiológica .....	655

Diagnóstico .....	661
Diagnóstico epidemiológico .....	662
Diagnóstico clínico.....	662
Diagnóstico anatomopatológico .....	663
Experiência brasileira no uso de vacinas tipo forte e provas de segurança.....	664
Diagnóstico laboratorial .....	665
Análise histopatológica .....	665
Sorologia .....	666
PCR .....	667
Isolamento viral .....	668
Ficha de monitoramento a campo .....	668
Profilaxia .....	668
Medidas de profilaxia aplicada às fontes de infecção .....	668
Medidas de profilaxia aplicadas ao mecanismo de transmissão .....	668
Medidas de profilaxia aplicadas aos suscetíveis .....	669
Medidas específicas de profilaxia (imunização) .....	669
Bibliografia .....	671

## Doença infecciosa da bolsa de Fabrício

Alberto Bernardino, Eduardo Leffer

### Sinonímia

Doença de Gumboro, Doença Infecciosa da Bolsa (DIB), *Infectious Bursal Disease* (IBD).

### Histórico

Foi inicialmente descrita em 1962, por Cosgrove, próximo a uma localidade chamada Gumboro em Delaware-EUA e foi caracterizada por depressão, anorexia, diarreia mucóide, alta morbidade e mortalidade relativamente alta. Foi denominada de nefrose aviária e na época confundida com Bronquite Infecciosa devido à presença do vírus de Bronquite nos casos de campo, mas estudos posteriores revelaram que aves imunes à Bronquite continuavam se infectando e desenvolviam lesões específicas na bolsa de Fabrício sendo então substituída por Doença Infecciosa da Bolsa de Fabrício (DIB) e atualmente é conhecida como Doença de Gumboro. As lesões detectadas eram de natureza hemorrágica, nos músculos das pernas, coxas e pró-ventrículo e a bolsa de Fabrício era edematosa e aumentada de volume ou hemorrágica.

Nas décadas de 60 e 70 a doença foi diagnosticada em diferentes partes dos EUA, causando quadro patológico em aves de três semanas de idade ou mais, e infecção de aves jovens acompanhadas de severa imunossupressão.

Na década de 80 foram isoladas variantes do vírus na Península de Delmarva, EUA e surgiu a hipótese de que as vacinas comerciais, preparadas a partir de cepa clássica não estariam protegendo convenientemente contra essas variantes. Foi verificado também que essas variantes apresentaram apenas 30% de relação antigênica com a cepa clássica e que aves vacinadas com vacina comercial não estavam protegidas contra cepa variante. Essa década marca também a história da imunização ativa contra a DIB pelo emprego de vacinas inativadas com adjuvante oleoso para estimular níveis elevados e uniformes de anticorpos em plantéis de matrizes. Passou-se a dispensar a vacinação de pintos de um dia face aos elevados níveis de anticorpos maternos.

### Mutações do vírus de Gumboro (IBDV)

Os vírus de campo pressionados com o grau de imunização começaram a sofrer mutações e a apresentar variação antigênica, mesmo pertencendo ao sorotipo 1. Em 1985, foram desenvolvidas e empregadas vacinas vivas e inativadas contra as diferentes variantes antigênicas. O processo de desenvolvimento foi contínuo e novas variantes foram surgindo a cada ano, indicando a necessidade de uma constante vigilância das cepas de campo para a adequação das vacinas.

Na Europa, foi descrito pioneiramente em 1987 (Inglaterra) o isolamento de uma cepa altamente

virulenta e como não foi conseguido detectar variação antigênica, estes vírus foram chamados de variantes patogênicos. A mortalidade era da ordem de 70% em plantéis de postura de 3 a 16 semanas de idade. Em linhagem de matrizes de três a sete semanas de idade, a mortalidade era de aproximadamente de 30%.

Em 1988, a cepa disseminou-se rapidamente na Holanda, Bélgica, Alemanha Ocidental e Norte da França e logo em seguida na África do Sul e Israel. A mortalidade por esta cepa era muito elevada (80 a 100%). Essa venceu facilmente a barreira da imunidade passiva de altos títulos de anticorpos. Esse novo fato passou a dificultar sobremaneira os esquemas de vacinação para o efetivo controle da doença.

Em 1989, foi relatada uma epidemia no sudeste asiático causada por uma cepa caracterizada como muito virulenta e pertencente ao sorotipo 1. A mortalidade atingiu níveis da ordem de 90% em pintinhos Leghorn SPF, infectados às quatro semanas de vida.

Novamente, os vírus de campo suplantaram o nível de imunidade conferido pelas vacinas intermediárias concomitantemente com outros fatores concorrentes de imunossupressão. Surgiram as cepas “vvIBDV”, que passaram a exigir o desenvolvimento de vacinas do tipo intermediária plus e fortes. Aparentemente, os problemas foram contornados.

No Brasil, a DIB tem sido endêmica. Foram relatados casos mais severos em fins de 1995, na região de Jacutinga-MG, porém, a partir de Julho de 1997 o problema se intensificou, envolvendo outras regiões. Parecem ser semelhantes aos casos descritos em outros países como forma causada pela cepa identificada como “muito virulenta”.

Postula-se que uma das causas que propiciou a rápida disseminação da doença de Gumboro no Brasil na sua forma clínica foi o baixo nível de imunidade ativa das aves apresentadas naquele período devido aos programas vacinais adotados até então.

Antes do aparecimento das mortalidades, os desafios quando aconteciam eram predominantemente subclínicos e com isso, muitas vezes se tinha a enfermidade nesta forma subclínica, mas a mesma não era diagnosticada pois só apareciam os problemas causados pelas infecções secundárias e/ ou reações vacinais de Bronquite que levavam ao diagnóstico errôneo.

Os programas vacinais em frangos de corte eram em sua maioria de uma dose, com cepa intermediária, no incubatório (subcutânea) ou a campo entre 10 a 18 dias de idade. Algumas empresas não utilizavam vacinação de Gumboro a campo, empregavam aumento dos títulos de imunidade materna para proteger a prole contra os desafios nas primeiras semanas. Com baixo nível de imunidade ativa nas aves o vírus de campo encontrou pouca dificuldade para se replicar e causar extensos danos.

Com o aparecimento de mortalidade causada por Gumboro (vvIBDV), a doença deixou de ser “invisível” conseguindo as empresas mapear e quantificar os desafios e prejuízos causados por este agente, desta forma houve uma rápida adoção de programas mais intensivos de vacinação, utilizando-se de duas a três vacinações com cepas intermediárias. Essa medida, contudo não conseguiu produzir uma imunidade satisfatória, os altos títulos de imunidade materna prejudicavam a resposta ativa frente à vacinação com cepas intermediárias.

Posteriormente foram introduzidas as cepas plus, com capacidade de imunizar aves com títulos de anticorpos maternos mais altos que as cepas intermediárias. Houve uma redução da mortalidade, porém não o suficiente para trazer aos níveis normais em áreas endêmicas.

Foi com o emprego das vacinas “fortes” em 2001 que a doença começou a ser controlada mais eficazmente.

Juntamente com o programa vacinal intenso, medidas de biossegurança adotadas principalmente em regiões de alto desafio colaboraram para o controle da doença, neste contexto cuidados especiais na lavagem e desinfecção das granjas e veículos, maior tempo de vazio sanitário, restrição de visitas às granjas e a proibição do trânsito da cama usada de lotes contaminados foram medidas fundamentais para o controle da doença. Também uma melhor monitoria de campo no que diz respeito ao exame das bolsas, contribuiu para melhor visualização do controle da enfermidade. Outro ponto positivo foi a reeducação do pessoal técnico e granjeiros para que os mesmos evitassem tornar-se carreadores da doença de uma granja a outra.

O vírus foi caracterizado no APSSA, Ploufragan Laboratory, França, por prova de ELISA de captura de antígeno, diante de sete anticorpos monoclonais neutralizantes e o resultado revelou que as partículas antigênicas eram semelhantes às cepas “muito virulentas” do VDIB, isoladas na Europa desde 1981. Estudos conduzidos por prova de RT-PCR revelaram que a região variável do gene VP-2 apresentou 99% de identidade com nucleotídeo e 96,8% de identidade com aminoácido da cepa “muito virulenta” de origem européia.

As aves mais acometidas têm sido aquelas com idade entre 25 e 35 dias, com pico de mortalidade observado entre quatro a cinco dias após o início da mesma, decaindo a seguir independente de tratamento. A mortalidade média varia de 5 a 20% em frangos de corte e de 15 a 50% em poedeiras. Pintinhos afetados manifestam penas arrepiadas, prostração, diarreia e morte. De acordo com a mortalidade o resultado pode ser mais afetado embora muitas vezes os índices de desempenho não são prejudicados significativamente quando esta ocorre antes do terço final de criação. As características ao exame *post-mortem* são semelhantes às já descritas em outros países acometidos pela cepa “muito virulenta”, tais como bursa aumentada de volume, intenso edema gelatinoso, de aspecto “cozido” e presença de exsudato mucopurulento ou sanguinolento. Regularmente estão presentes hemorragias e petéquias no tecido muscular, desidratação de carcaça e hiperplasia dos rins. Ao exame histopatológico da bursa, observa-se redução da plica e dos folículos.

## Etiologia

O VDIB pertence à família Birnaviridae e seu genoma consiste de uma molécula RNA de fita dupla. Tem simetria icosaédrica e não possui envelope. Possui apenas um gênero, o Birnavírus. Existem dois sorotipos. O primeiro, sorotipo 1, identificado em 1962 por Cosgrove, nos EUA, que infecta principalmente galinhas e raramente perus, é o responsável pela DIB. Outro sorotipo – sorotipo 2 – descrito em 1980, por Mc Ferran *et al.*, foi primeiramente descrito em perus e em seguida, em galinhas. É menos virulento que o outro ou até avirulento, tanto para perus como para galinhas.



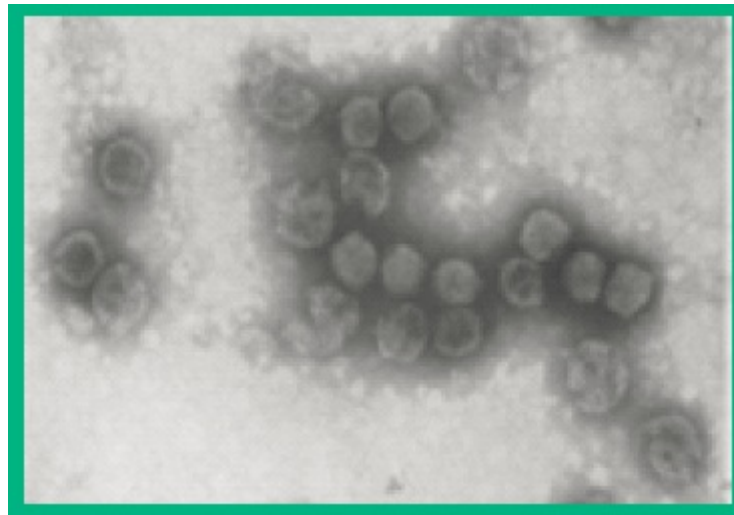
As amostras, dentro do sorotipo 1 podem ser descritas como variantes antigênicas (causando somente imunossupressão e doença subclínica) e amostras patogênicas (com a manifestação clássica da doença e com mortalidade elevada).

As amostras são distinguidas por provas laboratoriais diretas, que permitem a tipificação do vírus, e indiretas, que são úteis para comprovação da presença de anticorpos ou de antígenos específico. O termo sorogrupo está consagrado para descrever um grupo sorológico que é o conjunto de cepas que reagem de forma semelhante, in vitro, frente a um soro padrão (protótipo) que contém anticorpos que indicam semelhanças imunogênicas estabelecidas por equações matemáticas. Uma cepa de vírus que induz à imunidade contra outra cepa, em determinada espécie animal, pode ser descrita como pertencente ao mesmo grupo imunológico. Dentro do sorotipo 1, distintos subtipos diferem quanto a sua capacidade antigênica e imunogênica. O VDIB apresenta alta antigenicidade e alta imunogenicidade.

Pode-se recorrer ainda a provas moleculares para estudo de perfil antigênico de variantes do vírus. É possível classificar uma cepa em um determinado grupo molecular específico, que é um conjunto de vírus que possuem semelhanças em parte de seu genoma.

## Replicação viral

Vários sistemas podem ser utilizados como ovos embrionados, cultura celular (fibroblastos ou células de linhagem) e aves SPF sendo que nestas após a infecção deve ser coletadas as bolsas para exame virológico e soro que irá indicar a presença ou não de anticorpos circulantes.



**Figura 1** - IBDV - fotomicroscopia eletrônica.

## Epidemiologia

### Característica da doença

A doença de Gumboro acomete aves principal- mente entre 10 a 28 dias de idade, período este correlacionado com o desenvolvimento da bolsa. Este órgão cresce rapidamente durante as três semanas de vida, período este marcado pela intensa colonização dos tecidos linfóides periféricos (baço, medula óssea, tonsilas cecais e outros tecidos linfóides) pelos linfócitos B.

A bolsa começa a regredir de tamanho ao redor das 12 semanas e geralmente termina às 20 semanas. Aparentemente é necessário que existam grandes quantidades de células altamente suscetíveis para que se desenvolva a enfermidade.

Quanto mais tempo permanece intacta a bolsa, menor será a imunodepressão.

A imunodepressão pode alcançar seu grau máximo em aves infectadas no primeiro dia de idade (imunossupressão) e em menor grau, após quatro semanas.

Geralmente a infecção ocorre no decréscimo dos anticorpos maternos (após duas a três semanas de idade).

Aves afetadas apresentam lesões na bolsa, podendo haver evidências de infecções bacterianas ao redor da terceira a quarta semanas de idade ou podem mostrar alterações na capacidade de reagir perante estímulos antigênicos comprometendo a resposta imune contra infecções produzidas pelo vírus da enfermidade de Newcastle, Marek, Bronquite, Micoplasma e Avibacterium entre outros.

## Características epidemiológicas do IBDV

**1-** A infectividade é elevada, pois pequenas doses do vírus são suficientes para a instalação da infecção na ave.

**2-** A patogenicidade do sorotipo 1 é maior do que a do sorotipo 2 para galinhas, e em plantéis totalmente suscetíveis, a morbidade pode atingir valor igual a 100%. Em plantéis parcialmente imunizados a morbidade é baixa. Em plantéis bem vacinados com vacina capaz de proteger cepas de campo, a morbidade é quase nula.

A patogenicidade é maior quando a infecção ocorre entre duas a quatro semanas de vida da ave e é menor se ocorrer entre um dia e duas semanas, em decorrência da imunidade passiva.

**3-** A virulência varia com a cepa. A virulência da cepa padrão é baixa, podendo ser avaliada pela intensidade dos sinais clínicos, cura espontânea e baixa mortalidade. À medida em que aumenta a virulência da cepa aumenta também a mortalidade. A mortalidade pode variar de 20 a 30%, observada por volta do terceiro dia após infecção, atingindo valor máximo entre cinco a sete dias, quando passa a declinar. O processo de imunossupressão é maior quando a infecção ocorre entre um dia e duas semanas de vida em aves suscetíveis, devido aos agravos sobre o sistema imune, que tornam as aves mais propensas a infecção por diferentes agentes de doenças e menos capazes de responder às vacinações.

**4-** A imunogenicidade é elevada. Aves infectadas com uma cepa de vírus produzem anticorpos dirigidos para esta cepa homóloga. Os sorotipos possuem grupos antigênicos comuns detectados por provas de ELISA ou por imunofluorescência indireta e, portanto, por sorologia não é possível distinguir sorotipo. Existem antígenos específicos para cada sorotipo que estimulam a elaboração de anticorpos específicos. Admite-se que os anticorpos responsáveis pela proteção sejam elicitados pela VP2.

Estudos baseados em biologia molecular têm revelado que nas cepas variantes pode ocorrer um aumento da virulência sem alterar a estrutura antigênica do vírus. Cepas do VDIB, conhecidas

como “muito virulentas”, são capazes de infectar pintos com elevados títulos de anticorpos passivos, exigindo uma imunização mais rigorosa. Uma variação antigênica ocorre, porém os principais determinantes antigênicos que a classificam como sendo do sorotipo 1 estão preservados.

As proteínas estruturais do VDIB são identificadas como VP1, VP2, VP3, VP4 e VP5. As proteínas maiores são a VP2 e VP3, representando respectivamente 51% e 40% do peso total, e as menores são a VP1 e VP4, representando respectivamente 3 e 6%. Desconhece-se a função da recém-descoberta proteína VP5. As cepas ou tipos de cada sorotipo são resultantes de mutação genética, que ocorre nos aminoácidos localizados principalmente na proteína VP2, responsável pela resposta imune protetora contra DIB.

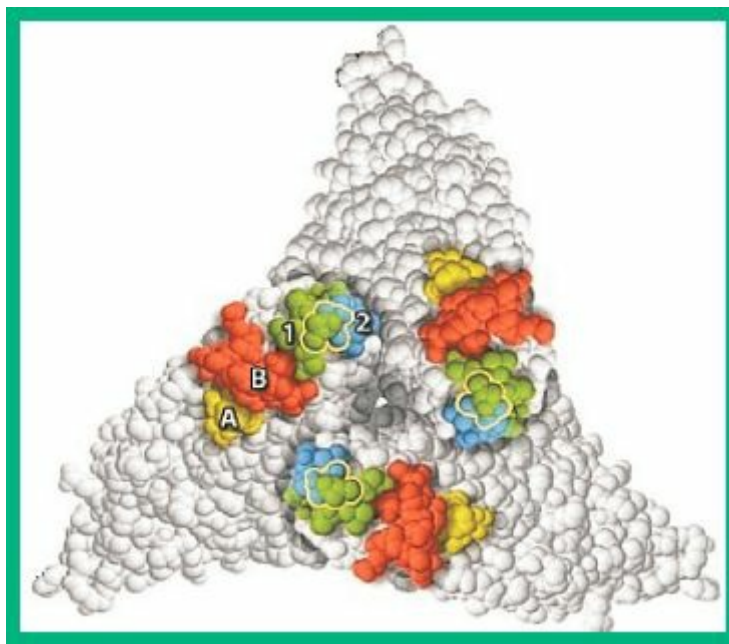
As variações moleculares detectadas por RT-PCR não significam, necessariamente, uma alteração na conformação do vírus que determine uma mudança na resposta antígeno-anticorpo, porém em alguns casos, estas alterações levam a falhas de proteção por não conformidade na relação antígeno/anticorpo tanto no que diz respeito à imunidade passiva como na ativa. As provas que são aceitas pela comunidade científica são conduzidas com modelos laboratoriais, podendo utilizar painéis de anticorpos monoclonais contra os diferentes determinantes antigênicos (epítopes) existentes na superfície do vírus, e reproduzem, *in vitro*, a reação que pode ocorrer no organismo da ave ou mais recentemente a biologia molecular com o sequenciamento do VP2 do IBDV.

Em 1999, foi descrito o ponto de mutação que afeta o aminoácido 222 da proteína VP2 e que pode ser empregado para diferenciar as variantes ou cepas do VDIB. A maioria das cepas clássicas possui prolina, que nas variantes é substituída por serina ou treonina ou glutamina na posição 222. Os recentes trabalhos indicam que as mutações no gene 222 do VP2 estão associadas às diferenças imunogênicas entre as cepas do VDIB. Em algumas cepas clássicas, o aminoácido glicina é substituído pela serina na posição 254. Na posição 253 das cepas clássicas, existe o aminoácido glutamina, que é substituído pela histidina. Essas evidências foram demonstradas por prova de RT/PCR.

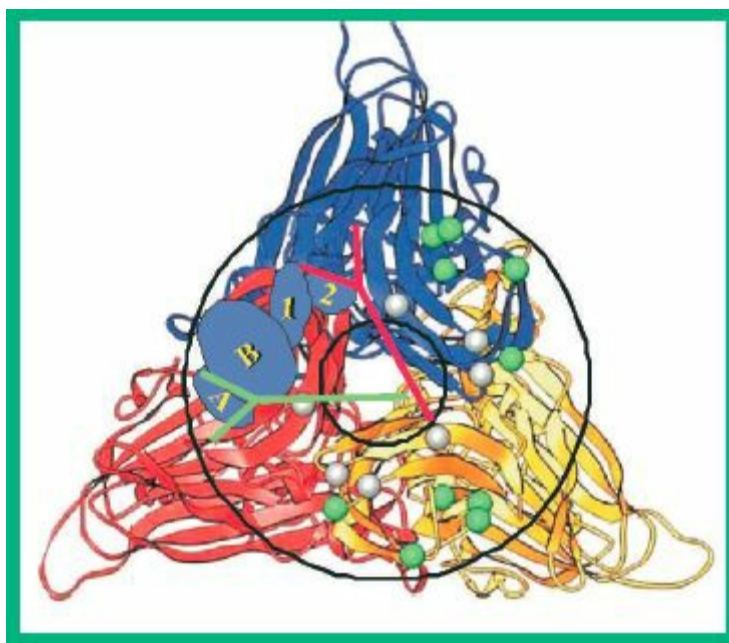
As cepas estudadas revelam diversidade genética tanto nas amostras isoladas nos EUA como também em granjas comerciais de outras partes do mundo. Não está completamente demonstrada a relação entre essa diversidade genética com a capacidade imunogênica das cepas do VDIB. Como os perfis estudados pelo RT/PCR e sequenciamento são gerados utilizando o gene VP2, que é a proteína de maior responsabilidade pela imunogenicidade do VDIB, possível que estejam sendo influenciados pelas variações genéticas das cepas virulentas de campo.

As regiões do VP2 que formam os determinantes antigênicos onde ocorre maior variabilidade estão nos chamados picos A e B e 1 e 2 dentro do “complexo trímero” na superfície do vírus onde se forma a região de ligação do IBDV à célula alvo. Estes epítopes vão caracterizar tanto o “fenótipo viral” determinado nos testes de anticorpos monoclonais como também as diferenças no genótipo. Esta região do complexo trímero, chamada de donnut hole (**Figuras 2 e 3**) exibindo as diferenças entre as cepas dos diversos IBDV e responsável pela ligação à célula alvo é que precisa ser neutralizada com anticorpos específicos pois dessa maneira não ocorrerá a ligação vírus/célula-alvo. Isto explica a diferença na eficácia das diferentes vacinas existentes pois muito dificilmente haveria um único VP2 capaz de estimular a formação de anticorpos protetores contra

os diferentes vírus de campo em todo o mundo.



**Figura 2** - Complexo trímico entre regiões do VP2 exibindo os picos A; B; 1 e 2.



**Figura 3** - Anticorpos específicos neutralizando o “site” de ligação à célula alvo.

## Cadeia epidemiológica

### Fontes de Infecção

Um organismo vertebrado que alberga o vírus em seu organismo e o elimina para o meio exterior. As modalidades de fontes de infecção são:

### Doentes

**Doentes típicos** – aquele que alberga o VDIB em seu organismo na presença de sinais clínicos característicos da DIB – pintos entre três e seis semanas de idade.

**Doentes atípicos** – aquele que alberga o VDIB em seu organismo na presença de sinais clínicos atípicos da DIB, em ocorrência da manifestação benigna da doença no hospedeiro – pintos com imunidade materna e galinhas que se infectaram com mais de seis semanas de idade.

## **Portadores**

**Portadores em incubação** – aquele que alberga o VDIB em seu organismo e que ainda não manifesta os sinais clínicos da DIB, mas irá manifestar depois de superado o período de incubação – pintos e adultos recém infectados (galinhas).

**Portador são** – aquele que alberga o VDIB em seu organismo na ausência permanente de sinais clínicos da DIB – pintos com imunidade materna e galinhas que se infectaram com mais de seis semanas de vida.

**Portador convalescente** – aquele que alberga o VDIB em seu organismo e que não mais manifesta os sinais clínicos da doença porque foi curado – não ocorre na Doença de Gumboro.

## **Reservatório**

São animais vertebrados, não pertencentes à espécie animal principal, na qual o vírus da DIB se instala. Nesse caso, estão as outras aves domésticas (patos e perus) e silvestres (avestruzes) e roedores que eventualmente poderão albergar o VDIB e transmitir às galinhas. A literatura também cita a importância do “cascudinho” dos galpões de frangos de corte – *Alphitobius diaperinus* – como importante reservatório no ciclo da DIB.

## **Vias de eliminação**

São os meios ou veículos de que se vale o vírus para ter acesso ao meio exterior. A única via de eliminação natural do vírus da DIB é representada pelas fezes. O vírus é excretado pelas fezes durante 10 a 14 dias.

## **Via de transmissão**

São os meios ou veículos de que se vale o vírus para ganhar um novo hospedeiro.

Embora não muito estudada, sabe-se que a transmissão ocorre pelo contato com aves infectadas e fômites contaminados. Não há evidências de transmissão pelo ovo e não há a detecção de galinhas portadoras do vírus. Os prováveis disseminadores do agente viral são carreadores mecânicos como: aves silvestres, ratos, insetos e o próprio homem. Contudo, alguns vermes e restos de lixo podem conter vírus com capacidade de infecção por até oito semanas.

## **Porta de Entrada**

É o caso do vírus no organismo do suscetível. A mais comum é a mucosa do aparelho digestivo. Contudo, nos casos de ambiente muito contami- nado, densamente povoado e seco, pode haver a formação de poeiras infecciosas e conseqüen- temente o vírus poderá penetrar por via conjuntival ou respiratória e então atingir o aparelho digestório.

## **Suscetíveis**

São os novos hospedeiros. Somente as galinhas, patos e perus são, até o presente momento, relatados como susceptíveis ao vírus da DIB, sendo que patos e perus não manifestam sintomatologia clínica.

## **Comunicantes**

Aves que estiveram em contato com as fontes de infecção, mas se desconhece se foram infectadas ou não. As aves mais perigosas para a criação são aquelas oriundas de criações das quais não se conhece os cuidados sanitários, pois podem desencadear um surto de doenças, inclusive a DIB.

## **Distribuição geográfica**

O sorotipo 1 apresenta distribuição geográfica cosmopolita e portanto, presente na maioria dos plantéis comerciais. A incidência é alta, significando que o número de casos novos é sempre muito alto, principalmente naquelas criações nas quais a exposição ao risco de infecção é alta. Nas criações ou áreas onde a vacinação é praticada corretamente (esquema e dose de vacina), os sinais clínicos são raros ou a

infecção pode ser modificada pela imunidade materna, ou causada por variantes que causam severa imunossupressão em ausência de manifestação de doença. A cepa isolada na Holanda, em 1989, foi responsável pelos surtos graves com alta mortalidade e tem sido descrita em diferentes países. O sorotipo 2 tem também ampla distribuição geográfica, porém ainda não foi descrito no Brasil. Ocorre em pintinhos, perus e patos e não tem sido demonstrada a sua patogenicidade ou capacidade de imunossupressão.

## **Patogênese do processo infeccioso**

A porta de entrada mais comum do VDIB é a mucosa oral e, excepcionalmente, a via respiratória ou ocular. Após quatro a cinco horas da entrada no organismo animal, o vírus pode ser detectado em macrófagos e células linfóides do ceco, duodeno e jejuno, bem como nas células de Kupfer do fígado. Ao alcançar a corrente sanguínea, o vírus infecta outros tecidos incluindo a Bursa. A viremia prossegue e o vírus infecta outros órgãos como o baço, a glândula de Harder e o timo. Os linfócitos B e seus precursores parecem ser as principais células-alvo, embora os vírus possam ser encontrados em macrófagos. Antígenos virais podem ser encontrados na Bursa até nove dias pós-infecção.

Células linfóides da Bursa de Fabrício são destruídas e necrosadas, mas não apresentam tropismo específico para a bursa, podendo infectar células de baço, timo, tonsilas cecais e glândula de Harder. Enquanto esses tecidos se recuperam, a bursa se atrofia. As conseqüências previsíveis dessa infecção são mais evidentes em picos porque a capacidade de produção de anticorpos é reduzida, principalmente de natureza IgG. A supressão na produção de Ac contra a doença de Newcastle é intensa em pintos infectados no primeiro dia de vida. A supressão é moderada se a infecção ocorrer no sétimo dia e de efeito desprezível se a infecção for entre 14 a 21 dias. Pintos imunossuprimidos pelo IBDV além da capacidade imune reduzida tornam-se mais suscetíveis a infecção pelo vírus da hepatite por corpúsculo de inclusão, coccidiose, doença de Marek, leucose

aviária, laringotraqueíte infecciosa, bronquite infecciosa, anemia aplástica hemorrágica, dermatite gangrenosa, salmoneloses e colibacilose. A quantidade de linfócito B é drasticamente diminuída, mas a população de linfócitos T geralmente não é acometida, embora se deva considerar casos de necrose tímica provocada por algumas cepas de vvIBDV.

Infecções pelo IBDV causam depressão da resposta imune humoral e uma transitória depressão da resposta imune celular. Há acentuada diminuição no número de linfócitos B na circulação sanguínea periférica sem alteração na quantidade de linfócitos T. Infecções em aves jovens resultam em uma intensa imunossupressão, que é constatada pela completa ausência de IgG e presença apenas de IgM monomérica. Esse fenômeno de imunossupressão é responsável pela suscetibilidade das aves acometidas a um grande número de bactérias, vírus e parasitas. Existem relatos de comprometimento da resposta imune quando da vacinação de aves imunossuprimidas pelo IBDV.

### **Persistência do vírus na natureza**

É a capacidade de, uma vez introduzido em determinada área geográfica, ali permanecer por longo período ou até indefinidamente. As possíveis formas de persistência são:

- Pela infecção de outras espécies de aves, como perus e patos.
- Pela mutação genética, com aparecimento de variantes ou cepas que permitam a re-infecção de aves. A mutação ocorre quando a imunidade da ave ou da população não é total.
- Pela constante existência de aves suscetíveis no plantel, decorrente da irregularidade do esquema de vacinação (não imunes ou parcialmente imunizadas) ou queda dos anticorpos maternos. É muito comum criadores suspenderem a vacinação, diminuir a dose vacinal ou aumentar o intervalo entre vacinações quando a doença deixa de ocorrer em seu plantel, esquecem-se que nos momentos de ausência de casos de doença é que se deve intensificar os cuidados, uma vez que erradicar a DIB é muito difícil, senão quase impossível.
- Pelo reaproveitamento constante da cama utilizada. A diminuição do período de vazio sanitário e a maior concentração de aves por metro quadrado também colaboram na persistência do vírus no campo.

### **Resistência e sensibilidade do IBDV às condições do meio ambiente, ao calor e aos desinfetantes usuais**

O VDIB sobrevive em instalações contaminadas por mais de 100 dias. Em alimentos contaminados e em fezes, o virion é capaz de permanecer viável por mais de 60 dias. O vírus é altamente resistente ao calor, pois é capaz de resistir a 60°C por 30 minutos, mas é destruído a 70°C por 30 minutos. O formol e pH altos são mais eficazes contra o vírus. É um vírus bastante estável e não é afetado por pH 2,0. A capacidade de infectar pintinhos diminui quando submetido à formalina 0,5% por seis horas. Compostos a base de amônia natural e glutaraldeído em uma solução a 0,1% mostraram possuir ação sobre o vírus em presença de matéria orgânica. Cloramina a 0,5% pode destruir o vírus em 10 minutos. Certamente, a alta resistência do vírus aos diferentes compostos acarreta a longa sobrevivência nas instalações mesmo quando se aplicam rigorosas medidas de limpeza e desinfecção. Os aldeídos são os que tem apresentado melhor ação contra o IBDV.

## **Hospedeiro**

As galinhas são os hospedeiros naturais do IBDV.

Atualmente perus, patos e pintinhos de avestruzes são encontrados naturalmente infectados.

## **Suscetibilidade**

Todas as raças são igualmente suscetíveis. Linhagens pesadas e leves parecem apresentar igual suscetibilidade, mas existem controvérsias a respeito.

Raramente pintos com menos de três semanas desenvolvem doença típica, mas apresentam quadro sub-clínico economicamente importante pela intensa imunossupressão que causa, porque geralmente, aves com menos de três semanas apresentam níveis de anticorpos maternos elevados capazes de impedir completamente a manifestação da doença. Eventualmente, dependendo da amostra de campo prevalente e desse nível de anticorpos passivos, a morbidade pode se manifestar (aves com penas arrepiadas, prostradas, mas sem mortalidade significativa).

## **Fatores predisponentes**

Embora o IBDV seja muito agressivo, um ambiente favorável ao vírus, o manejo inadequado e esquemas inapropriados de vacinação e agentes imunossupressores concomitantes, principalmente as micotoxinas, podem favorecer a ocorrência da doença em determinadas criações de aves.

## **Variação de ocorrência da doença em uma população de aves**

Inicialmente, num raciocínio individual tem-se a seguinte situação: seja um pintinho vacinado no tempo “ $t_0$ ” (tempo zero) e a taxa de anticorpos aumentando gradativamente.

Se esse pintinho for exposto à infecção no tempo  $T_1$ , anteriormente ao momento do nível de Ac atingir o limiar de proteção este não estará protegido e adoecerá. Os níveis de Ac (anticorpos) não foram suficientes para protegê-lo porque existe um nível de proteção acima do qual a ave estará protegida diante de um risco usual de infecção, e abaixo do qual não estará protegida, como é o caso em questão. Muitas vezes, esse limiar não é atingido pela ave, ou porque a dose da vacina não foi suficiente ou porque o esquema não estava correto. Se esse pintinho for exposto à infecção no tempo  $T_2$ , estará protegido e não adoecerá porque o nível do Ac está acima do limiar de proteção.

Obviamente, para a ocorrência de uma epidemia, há que se considerar, além de uma baixa proporção de aves imunes, o contato entre aves. O controle de uma doença é obtido pelo conhecimento dos mecanismos de propagação da doença em uma população e pela redução dos riscos de transmissão. Torna-se imprescindível a aplicação criteriosa de medidas de biossegurança juntamente com a vacinação para se maximizar a produção avícola.

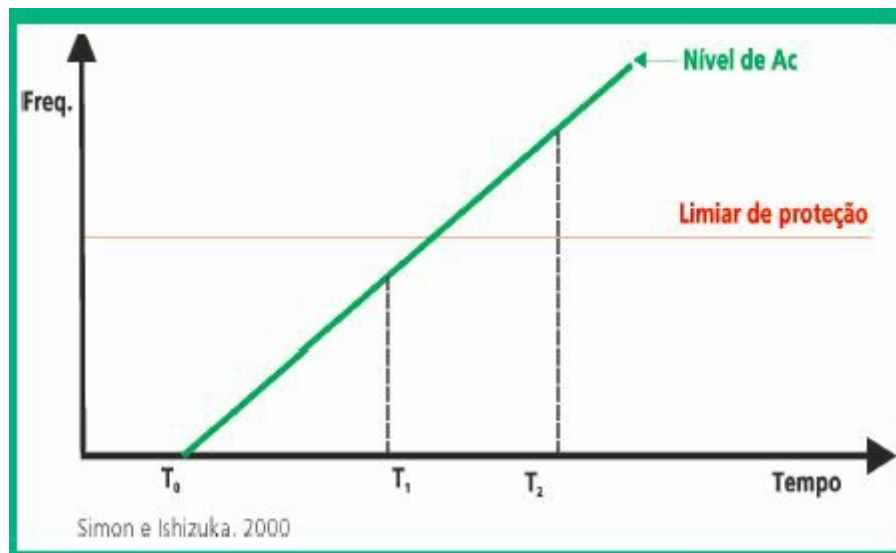
Os surtos iniciais são geralmente agudos e uma elevada proporção de aves é acometida, isto é, nem sempre a totalidade adoece. Com o IBDV apresenta alta imunogenicidade, Ac são produzidos nos organismos das aves sobreviventes, protegendo-as contra surtos futuros. Além disso, favorecem a proteção dos pintinhos, através da imunidade transferida passivamente pelo saco



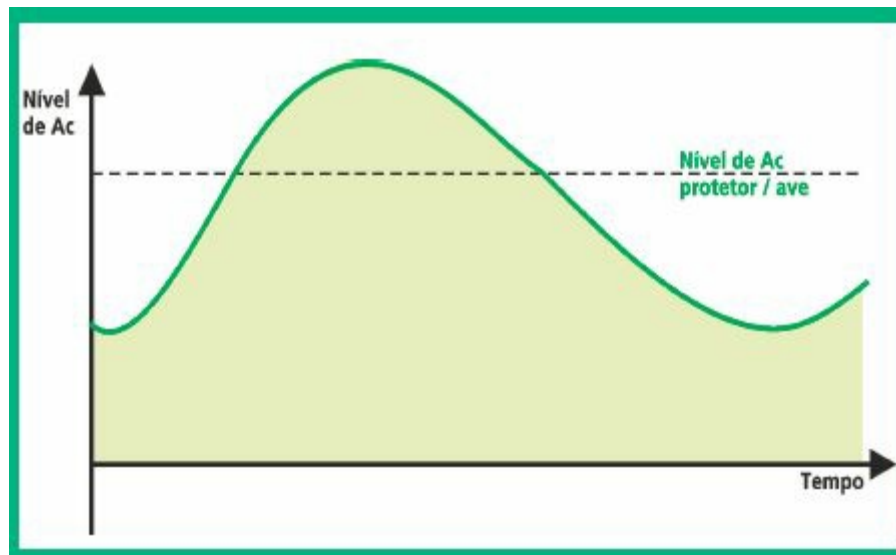
vitelínico, que não adquirem doença ou adquirem de forma menos severa. Enquanto durar a imunidade na população, os surtos pelo mesmo sorotipo serão menos graves.

À medida que essa imunidade diminui, a população volta a se tornar suscetível. Quanto maior o número de aves acometidas, maior será a imunidade da população (vide [Figura 5](#)).

Para uma população, vale o mesmo raciocínio: em uma população suscetível, isto é, sem imunidade de espécie alguma, a doença poderá se propagar com certa velocidade.



**Figura 4** - Ilustração sobre aparecimento da DIB comparativamente ao nível de proteção.

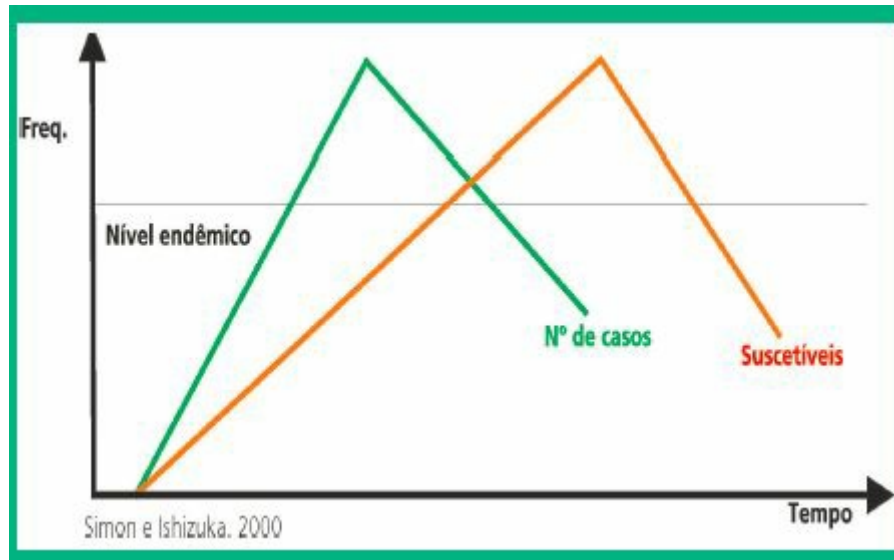


**Figura 5** - Curva de anticorpos em aves vacinadas ao longo do tempo.

Se a doença estiver ocorrendo dentro de limites esperados (epidemia) e de repente ocorrer uma epidemia, significa que a proporção de aves suscetíveis está aumentando e existem condições para a ocorrência de uma epidemia. Após a ocorrência de uma epidemia, a população de suscetíveis diminui, a epidemia cessa, retorna à situação de endemia e assim sucessivamente.

Em termos práticos tem-se observado que nas empresas onde se pratica a redução do esquema de vacinação no período de inverno (período de menor desafio), novos surtos no verão são comumente verificados.

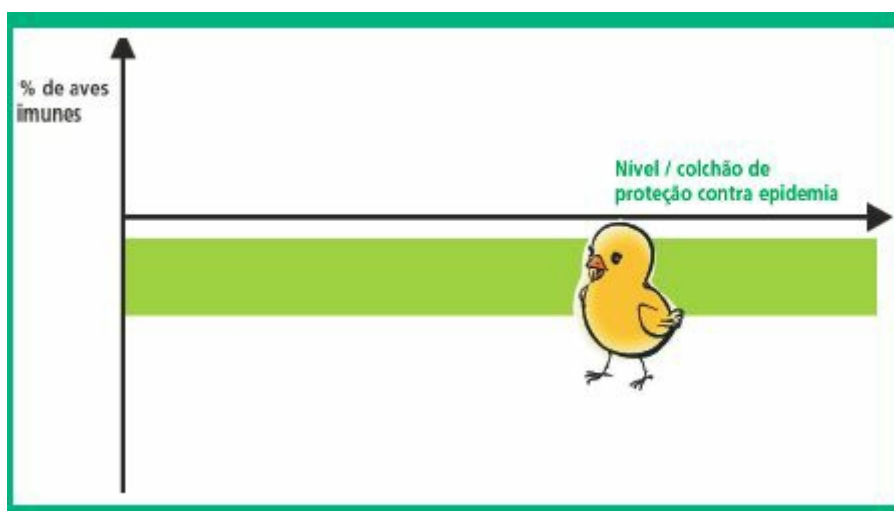
Na **Figura 6**, está ilustrada a dinâmica de uma epidemia em função do potencial de suscetíveis.



**Figura 6** - Dinâmica da epidemia em função da população de suscetíveis.

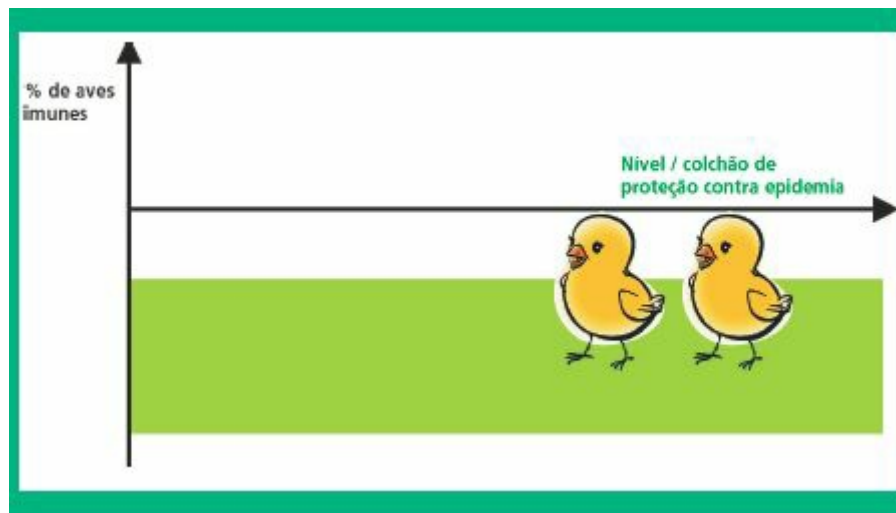
Raciocinando sobre a proteção, se uma pequena porcentagem de aves estiver protegida significa que a população possui uma pequena quantidade de Ac (baixo “colchão” de imunidade), insuficiente para proteger toda a população. Se a população de aves imunes aumentar para uma porcentagem intermediária, significa aumento da imunidade populacional (“colchão” de imunidade interme- diário). Se essa porcentagem for aumentada (alto “colchão” de imunidade), aves vacinadas são suficientes para proteger toda a população diante de uma infecção. Quando se pretende proteger uma população, é preciso tomar cuidado de se vacinar o maior número de aves possível, pois sempre existe certo contingente que responde de forma deficiente, outro que respon- de muito bem e a maioria que responde dentro dos níveis espera- dos. A proteção dos que não respondem bem é conseguida pela vacinação adequada de toda a população, que deve ser feita para se obter um bom “colchão” de imunidade. A imuni- dade populacional é o somatório da imunidade de cada ave.

Na **Figura 7**, o “colchão” de imunidade é muito deficiente e as aves do plantel poderão adoecer e/ ou o aparecimento de variantes antigênicas do vírus será favorecido.



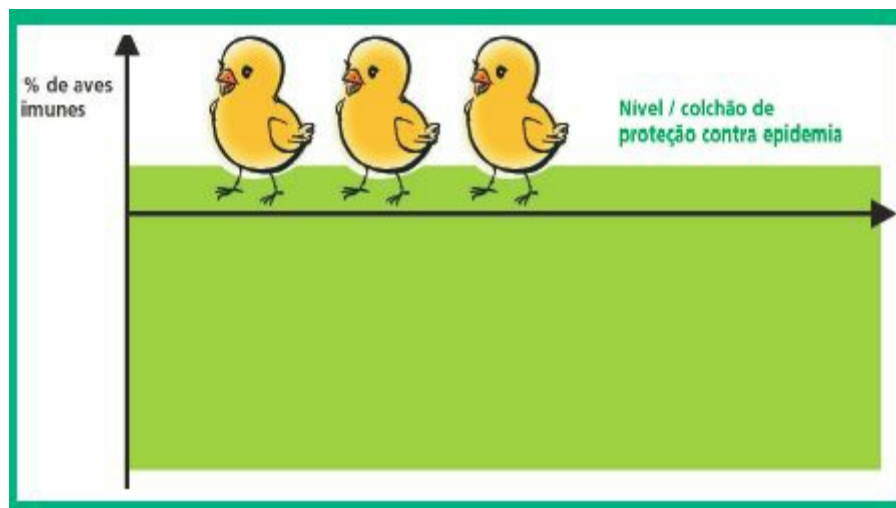
**Figura 7** - Baixo “colchão de imunidade”.

Na **Figura 8**, o “colchão” de imunidade é deficiente e os resultados poderão ser muito próximos ao que ocorre no caso anterior.



**Figura 8** - “Colchão de imunidade intermediária”.

Na **Figura 9**, o “colchão” de imunidade está correto e o plantel estará protegido. É preciso lembrar que não basta uma granja tomar os cuidados de vacinação adequada. Se outros não adotarem medidas iguais, variantes poderão surgir em outras criações e atingir aquelas que vacinam corretamente, pois cepas “muito virulentas” rompem a barreira imunitária dessas granjas que ser enquadradas na **Figura 9**. Veja que a responsabilidade de vacinação é coletiva e não individual.



**Figura 9** - Alto “colchão de imunidade”.

Todas as vezes que medidas de higiene ambiental não são adotadas ou são parcialmente adotadas, há um favorecimento à sobrevivência do vírus no ambiente, que aí permanece por longo tempo a espera de uma oportunidade para atacar as aves.

Vacinas devem ser aplicadas na dose correta e nos intervalos recomendados pelo fabricante que são rigorosamente calculados para proteger não apenas uma ave individualmente, mas a população.

Aquisição de aves de procedência desconhecida, aquisição de aves em estado sani- tário

desconhecido, superlotação de galpões por questões de economia, alojamento de aves de diferentes origens no mesmo galpão, uso e reaproveitamento de camas sem critério sanitário prejudicam o controle da doença.

## **Patogenicidade e imunossupressão**

Segundo Van den Berg (2003) a principal característica do vvIBDV é seu aumento de virulência. Um melhor entendimento do seu mecanismo de patogenicidade se faz necessário para seu controle. A patogênese pode ser definida como um método usado pelo vírus para causar injúria ao hospedeiro sendo a mortalidade ou imunossupressão a consequência.

O hospedeiro preferencial do vírus são aves jovens onde a doença clínica ocorre, em aves mais velhas a doença é predominantemente subclínico. Tem sido observada uma maior suscetibilidade das linhagens leves a altas mortalidades quando comparada às linhagens pesadas.

O órgão alvo do IBDV é a Bursa de Fabrícus em seu máximo desenvolvimento, a qual é um provedor específico de linfócitos-B nas espécies aviárias. A severidade da doença está diretamente relacionada com o número de células suscetíveis presentes na Bursa, desta forma a maior suscetibilidade está em aves entre três a seis semanas de idade, quando a bursa atinge seu máximo desenvolvimento. Nos desafios pelo vírus hiper-virulento esta idade pode ser estendida.

Após a infecção oral ou inalação, o vírus replica primariamente nos linfócitos e macrófagos do sistema imune associado ao trato gastroentérico (GALT). O vírus atinge a bursa através da corrente sanguínea onde ocorrerá a replicação. Treze horas pós-infecção é possível a detecção de muitos folículos positivos para o vírus e dezesseis horas uma segunda e pronunciada viremia ocorre com replicação secundária em outros órgãos resultando na enfermidade e morte. Similar cinética é observado na infecção por vvIBDV mas a multiplicação em cada etapa é ampliado.

As células da linhagem monócito-macrófago podem ser infectadas e ter um papel crucial na disseminação do vírus e no estabelecimento da doença. A exata causa da doença clínica e morte não estão claramente elucidadas principalmente quando correlacionadas com a severidade das lesões e extensão dos danos na bursa. Certamente, após infecção, algumas aves com pequenas lesões podem ser encontradas mortas enquanto outras podem sobreviver após extensos danos na bursa. Entretanto taxa de mortalidade são muito variados e o estabelecimento de DL50 (dose letal para 50% da população) tem sido difícil.

Aves recuperadas da doença ou infecções na sua forma sub-clínica podem apresentar diferentes níveis de imunossupressão com consequências mais sérias se a cepa for de maior patogenicidade ou se a infecção ocorrer em idade precoce. Embora a imunossupressão causada pela IBDV é resultante da depleção dos linfócitos-B, efeito nas células mediadoras da resposta imune (CMI) também tem sido demonstrada potencializando a redução da imunocompetência das aves.

## **Interação da doença de gumboro sub-clínica com outros fatores imunossupressores**

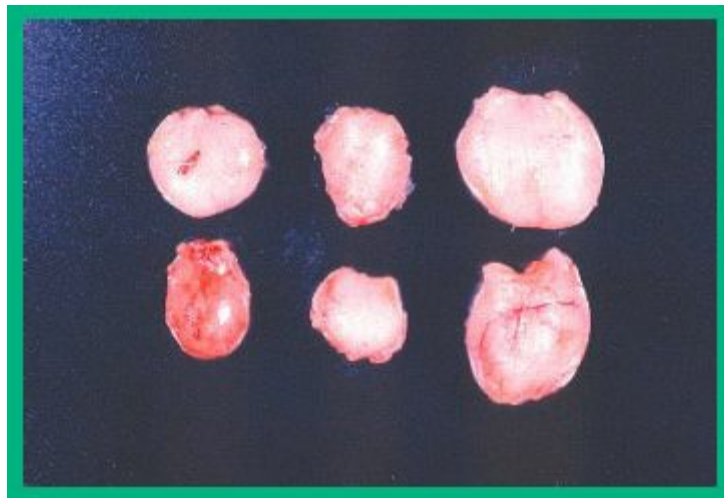
Os prejuízos causados pela infecção por gumboro sub-clínico são gravemente afetados quando interage com um ou mais fatores imunossupressores, neste caso há uma diminuição significativa da resposta imune da ave podendo levar a problemas secundários tais como: desuniformidade no

lote, aumento na suscetibilidade as doenças, reações respiratórias mais intensas e em alguns casos levando à morte.

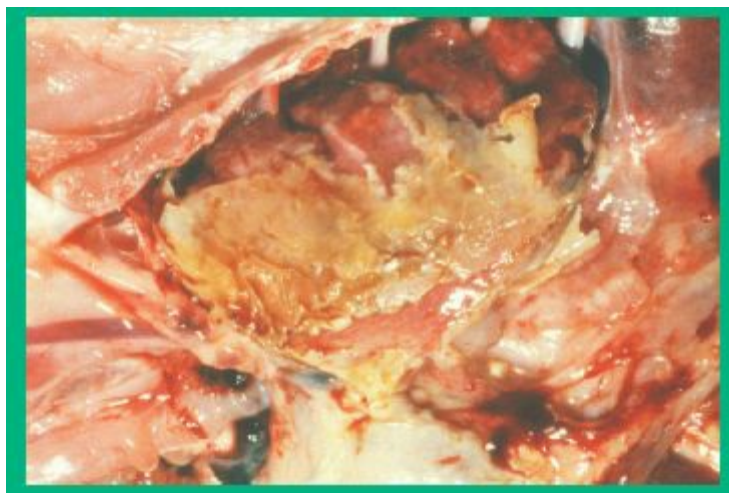
Rosemberger (1995) em seu estudo sobre interação entre agentes imunossupressores obteve 15% de mortalidade no grupo de aves que foram desafiadas com o vírus de Gumboro (vvIBDV) porém no grupo onde foram inoculados Gumboro e anemia infecciosa a mortalidade foi de 93%.

Azzam *et al.* (1997) avaliou a interferência da aflatoxina na resposta a vacinação contra a doença de Gumboro, e concluiu que aves vacinadas recebendo 200ppb de aflatoxina a resposta sorológica frente a vacinação foi 75% mais baixa do que o grupo controle que consumiu alimento sem a micotoxina.

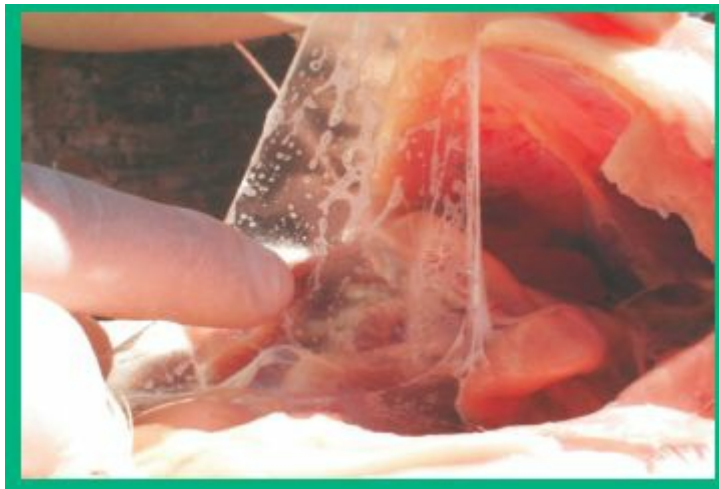
### **Lesões sugestivas de Gumboro na sua forma subclínica**



**Figura 10** - Atrofia e desuniformidade das bursas.



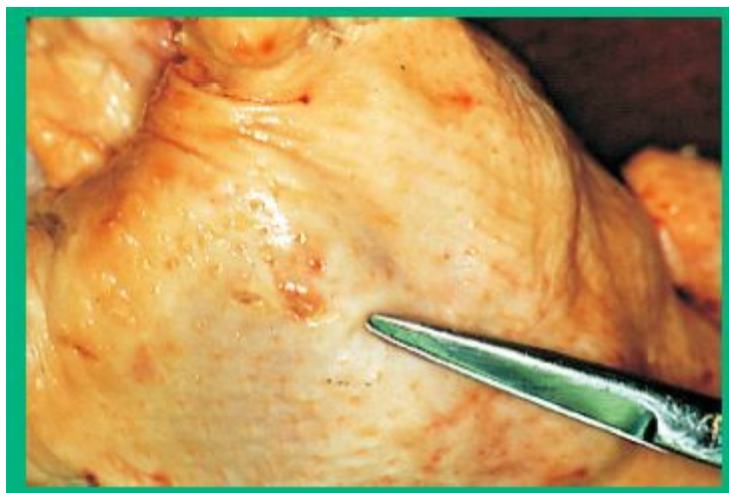
**Figura 11** - Colisepticemia.



**Figura 12** - Aerossaculite.

## **Diagnóstico**

O diagnóstico, conhecimento ou determinação de uma doença pelos seus sinais clínicos é muito importante para que ocorra o adequado controle em um determinado plantel ou área geográfica. Especialmente a DIB sub-clínica, onde animais infectados podem não apresentar sinais clínicos típicos ou aparentes, é indispensável a realização de análises anatomo-patológicas, laboratoriais e epidemiológicas da doença, para um diagnóstico diferencial de outras enfermidades.



**Figura 13** - Dermatite.



**Figura 14** - Problemas respiratórios.

### Diagnóstico epidemiológico

É realizado com base nas evidências, como antecedentes, sinais clínicos, morbidade, mortalidade, idade das aves acometidas e manejo sanitário. O diagnóstico epidemiológico é realizado a partir do conhecimento da cadeia epidemiológica da DIB, bem como do levantamento e estudo de todos os dados de sua ocorrência em um determinado plantel ou região geográfica, avaliando-os qualitativa e quantitativamente do ponto de vista sanitário (levantamento e análise de coeficiente como: mortalidade, letalidade e morbidade). Sua importância é possibilitar a adoção rápida de medidas de controle a fim de se evitar prejuízos em determinado plantel de aves.

### Diagnóstico clínico

Após um período de incubação extremamente curto de dois a três dias, os sinais observados são:

#### Na forma aguda ou clássica

**Acompanhamento das mortalidades semanais** – a ficha de acompanhamento das mortalidades nas granjas pode ser utilizada para o rastreamento dos desafios. A mortalidade provocada pelo vírus hipervirulento tem ocorrido entre a terceira e quinta semanas de idade. Com picos de mortalidades neste período não são comuns em frangos de corte índices acima da média da empresa deverá ser investigado.

**Monitoramento por necropsia** - quando o vírus de Gumboro atinge seu órgão alvo (Bursa) produz lesões, sendo sua extensão compatível com seu nível de virulência, sua concentração na ave e o status imune do animal.

A avaliação do aspecto, consistência e tamanho das bursas são amplamente empregadas para acompanhar a dinâmica da doença. Esta é uma ferramenta útil para o rastreamento dos desafios, não devendo, contudo, ser utilizado como método de diagnóstico, pois não somente o vírus de Gumboro causa alterações na Bursa, devendo-se lançar mão das análises laboratoriais para realizar o diagnóstico definitivo. Os padrões de tamanho da bursa variam de acordo com o

tipo de agressão sofrida, ou seja, vírus de campo; vírus vacinal, que pode ser intermediária, plus ou forte e sem estímulo viral

**Avaliação por PCR** – juntamente com a avaliação macroscópica da Bursa a análise do órgão por biologia molecular informará se o vírus de campo está presente ou se o programa vacinal tem conseguido atingir a bursa antes do vírus de campo.

## Na forma sub-clínica

Como a doença na sua forma sub-clínica não apresenta mortalidade ou sinais específicos uma abordagem diferenciada se faz necessário para a realização do monitoramento e posterior controle. Leffer (2006) sugere o emprego das seguintes ferramentas:

**1 – Localizar os desafios** – rastrear todos os sinais de imunossupressão.

- Os desafios por gumboro sub-clínico melhor podem ser observados em granjas onde os lotes freqüentemente necessitam de medicamentos como também regiões que apresentam altos desafios respiratórios ou queda de desempenho.
- O relatório de condenação de abate poderá fornecer dado auxiliando na triagem tais como: aerossaculite, dermatite e caquexia.

**2 – Avaliação em loco** – com a informação das granjas ou regiões com maior incidência dos sinais de imunossupressão, realizar necropsia nas granjas a fim de coletar material para análise laboratorial.

- Para visitação dos lotes é importante esta- belecer idades-chave para o levantamento do desafio por Gumboro, idades compreen- didas entre 21 a 28 dias tem sido o mais indicado para avaliar desafios precoces.
- É importante estabelecer o tamanho padrão esperado das bursas em função da idade das aves e programa de vacinação adotado. Este padrão se obtém realizando avaliações periódicas do órgão sempre em uma mesma idade.

**3 – Envio de material para análise:** não se deve dar diagnóstico de Gumboro apenas pelos sinais clínicos observados nos lotes. O exame laboratorial é de fundamental importância para um correto diagnóstico.

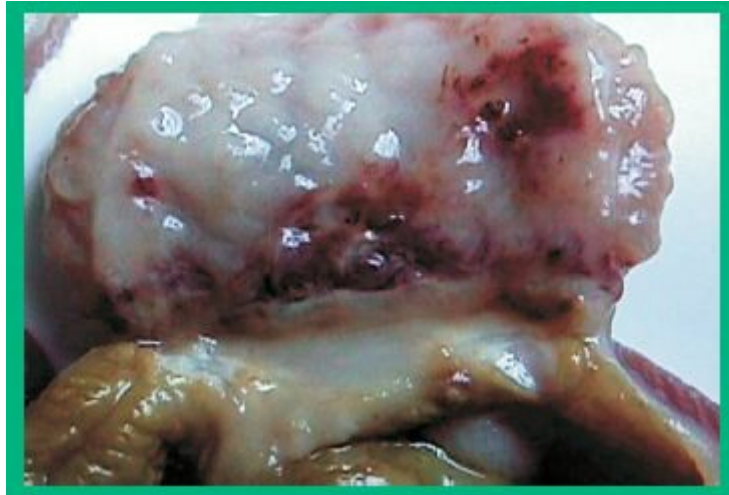
- A avaliação por PCR é uma ótima ferramenta para se verificar a presença do vírus e qual a cepa envolvida, o que auxilia na elaboração do programa vacinal, pode ser usada como forma de triagem no campo.
- A análise histopatológica fornecerá informa- ções quantitativas, ou seja, indicará qual a extensão das lesões na Bursa provocadas pelo vírus.
- A sorologia pelo método de ELISA pode ser realizada com soros de aves no abate e seu resultado é mais consistente quando a empresa possui um “histórico sorológico”, pois os títulos variam enormemente em função da realidade de cada empresa, e do Kit de ELISA utilizado.

## Diagnóstico anatomopatológico

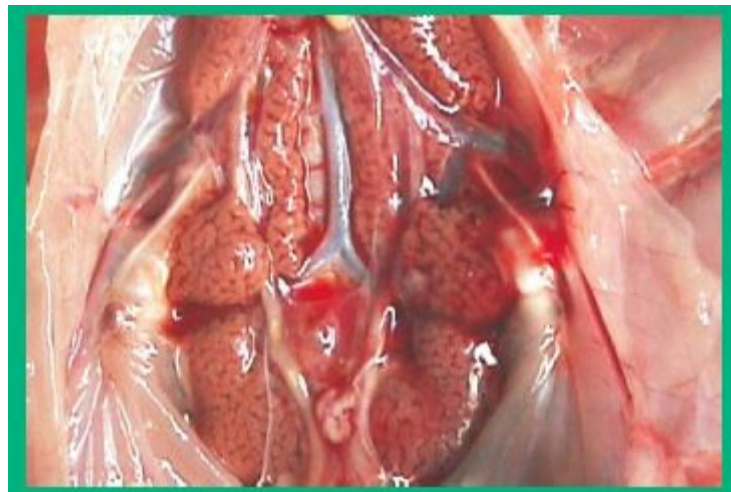
À necropsia, petéquias são as primeiras lesões observadas na musculatura das pernas, coxas e ocasionalmente na mucosa do proventrículo que aparecem em maior quantidade quanto mais



patogênico for o vírus desafio (**Figura 15**). Há aumento de muco no intestino, do volume hepático com infartos periféricos e esplenomegalia ocasional. Em algumas aves, os rins aparecem aumentados de volume e pode conter depósitos de uratos e debris celulares, provavelmente resultado do bloqueio dos ureteres por uma severa inflamação da bursa (**Figura 16**). Inicialmente, a bursa está aumentada de volume devido ao edema e à hiperemia (três dias pós infecção), com uma camada gelatinosa amarela (transudato amarelado) e estrias longitudinais salientes (três a seis dias pós-infecção, **Figura 17**) que evoluem para uma degeneração do tecido linfóide da bolsa e total redução do volume bursal (10 a 12 dias pós-infecção, **Figura 17**). Podem-se visualizar hemorragia na superfície interna e serosa e a formação de um material caseoso no lúmen a partir de um tecido epitelial comprometido.



**Figura 15** - Pró-ventrículo hemorrágico.



**Figura 16** - Rins aumentados.



**Figura 17** - Bursa aumentada e gelatinosa.

No caso da enfermidade sub-clínica só se vê a atrofia das bursas (**Figura 18**).



**Figura 18** - Bursas atrofiadas e hemorrágicas.

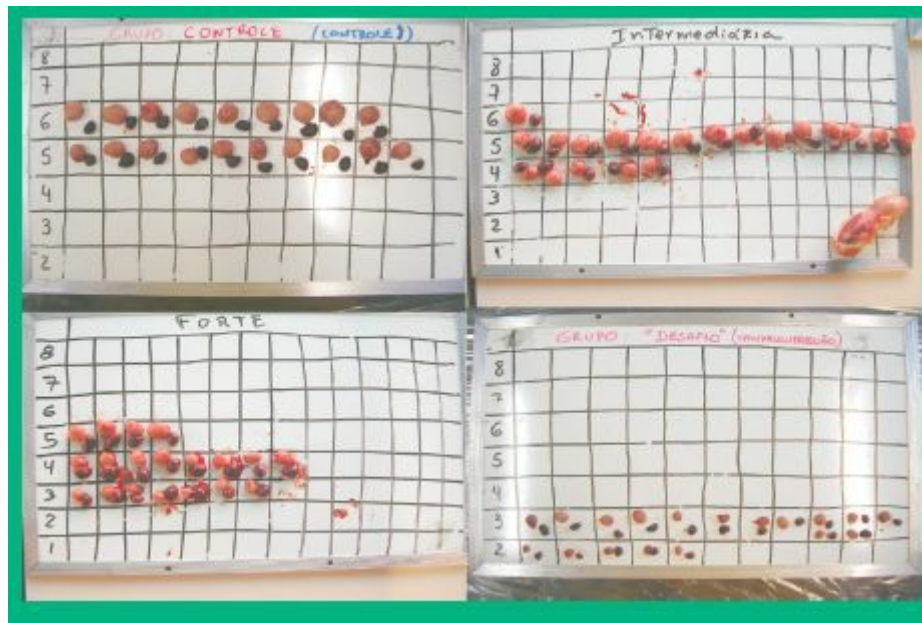
O padrão de tamanho observado a campo utilizando-se de instrumento específico para a mensuração (Bursômetro ou Bursapaqui) vai variar de acordo com o tipo de vacina utilizada e a idade da ave. Após anos de experiência nesta área, Bernardino indica como idade preferencial entre 35 a 40 dias tanto para aves leves como para as pesadas onde se encontra:

- 1- aves sem estímulo vacinal ou desafio – tamanho médio 6;
- 2- aves com efeito de vacina tipo intermediária – tamanhos 4 e 5;
- 3- aves com efeito de vacina tipo forte – tamanho médio 4;
- 4- aves que passaram por processo de imunode- pressão – tamanhos 2 e 3

Esta monitoria a campo seria o primeiro passo para se saber se temos um fator imunos- supressor ou se o padrão estaria de acordo com a vacina utiliza- da ou ainda se não estamos vendo nenhum efeito que no caso de um lote vacinado poderia indicar falha no processo ou na idade em que se usou a vacina.

A relação de tamanho bursa e baço, também avaliado na mesma idade pode nos ajudar a perceber se estaria ocorrendo um processo de atrofia da bolsa, onde enquanto não vacinadas sem imunossupressão e vacinadas apenas com vacinas tipo intermediárias o tamanho da bolsa supera o

tamanho do baço; a partir do uso de cepas vacinais tipo forte, já é possível ver maior igualdade entre o tamanho dos dois órgãos e algumas vezes a bolsa menor que o baço; quando ocorre um problema de imunossupressão/imunodepressão normalmente as bolsas são na maioria menores que o baço. Este procedimento está baseado em observação de campo e resultados de testes realizados em laboratório (**Figura 19**).



**Figura 19** - Padrão de tamanho das bolsa de acordo com o tipo de vacina ou desafio.

### Experiência brasileira no uso de vacinas tipo forte e provas de segurança

Desde sua implantação em programas para o controle da doença clínica de Gumboro (vvIBDV) no Brasil as cepas mais invasivas denominadas “forte” tem demonstrado serem altamente eficazes para controlar a mortalidade e a disseminação do vírus de campo.

Embora muito se tenha levantado sobre a possibilidade de imunossupressão destas desde sua implantação em 2001 até os dias de hoje foram bilhões de aves vacinadas em nosso mercado, muitas com programas que perduram até hoje sem ter contribuído para aumento de incidência de problemas relacionados à imunossupressão (queda de desempenho e aumento da condenação no abatedouro entre outros. Trabalho realizado por Leffer, 2005 e Nishizawa, 2007 avaliou em aves comerciais as lesões causadas pelas vacinas tipo “forte” e comparou com a resposta à vacinação de Newcastle. O resultado demonstrou que aves contendo diferentes níveis de imunidade materna apresentaram baixo escore de lesão de Bursa em todas as vacinas avaliadas e a resposta à vacinação contra Newcastle foi compatível com o grupo controle (somente vacinada contra Newcastle). Esse trabalho demonstrou que as vacinas comerciais disponíveis não induzem à imunossupressão, sendo portanto, seguras para serem utilizadas a campo.

### Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial é fundamentado em resultados de provas laboratoriais e é, geralmente, fator de confirmação diagnóstica. Pode ser direto, através do isolamento do antígeno viral obtido do tecido bursal infectado, ou indireto, pela análise sorológica das aves para detecção de anticorpos contra o vírus da DIB ou lesões provocadas pelo mesmo.

## Análise histopatológica

A lesão caracteriza-se por uma extensa destruição das células linfóides B, nas quais a arquitetura folicular da bolsa pode ser rompida pela degeneração e rompimento dos linfócitos, inicialmente na medula e depois em todo o folículo. As áreas interfoliculares tornam-se proeminentes devido à hipertrofia do tecido conectivo.

Outros órgãos linfóides (timo, baço, tonsilas cecais, glândulas de Harder) podem apresentar diferentes graus de necrose das células linfóides. Existem cepas variantes do vírus, como as do grupo molecular 1 e 2 (EUA) e dos grupos Moleculares 15 e 16 (Brasil) – classificação de Ikuta et all – que não provocam sintomatologia clínica como as cepas clássicas, e após 3 a 4 dias da infecção as bolsas já se apresentam atroficas, sem passar pela fase de edema gelatinoso. Microscopicamente as lesões são idênticas.

Exemplo de monitoramento do tamanho e aspecto das bursas.

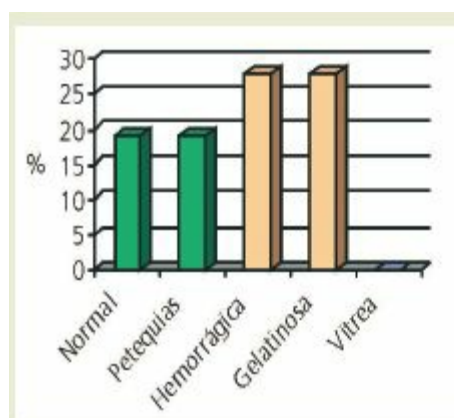


Figura 20 - Aspecto da bursa.

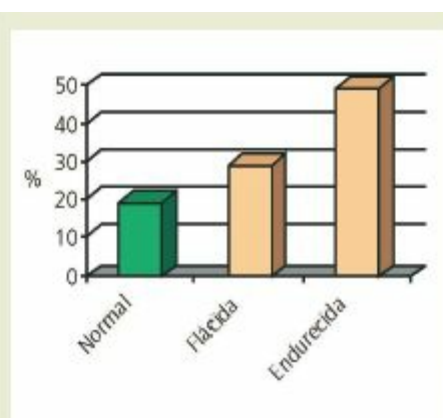


Figura 21 - Consistência da bursa.

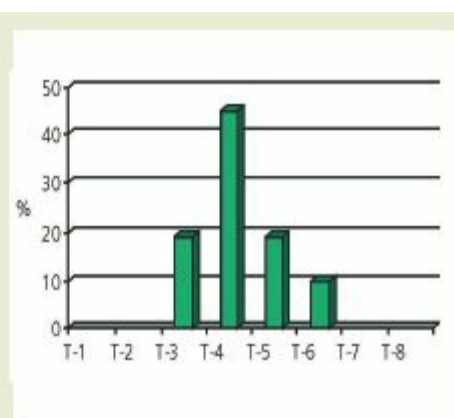


Figura 22 - Tamanho da bursa.

**Produtor – A** – Lote apresentando alteração das Bursas (aspecto, consistência e desuniformidade) sugestivo de desafio de campo.

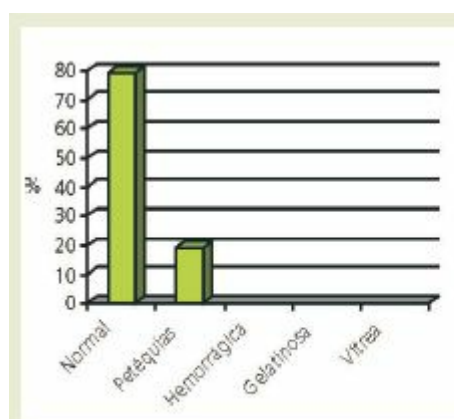


Figura 23 - Aspecto da bursa.

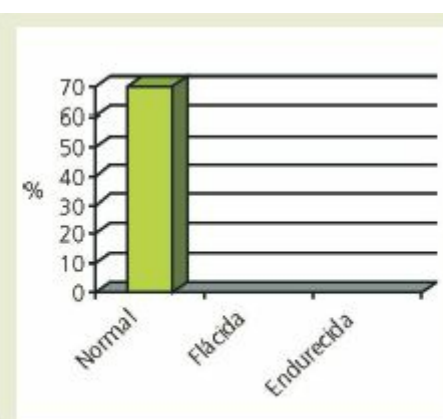


Figura 24 - Consistência da bursa.



Figura 25 - Tamanho da bursa.

**Produtor – B** – Lote apresentando Bursas com aspecto e tamanho normais.

Para a verificação da lesão são necessárias cortes do órgão em lâminas coradas por hematoxilina e eosina e a avaliação apesar de seguir um padrão de porcentagem de área lesada na bolsa onde:

0 = sem lesões;

1 = 1 a 25% da área com lesões severas;

- 2** = 26 a 50% da área com lesões severas;
- 3** = 51 a 75% da área com lesões severas;
- 4** = 76 a 100% da área com lesões severas.

Isto torna a análise subjetiva e pode variar de acordo com o patologista envolvido de acordo com o que cada um julga ser uma lesão severa.

Em estudos realizados em 2002 pelo COST ACTION na Europa, vários cortes de bursas de diferentes tratamentos (sem vacina; com vacina intermediária; com vacina forte e com desafio) foram enviados a 19 laboratórios diferentes em diferentes países e avaliados individualmente, primeiramente pelo padrão de porcentagem de área lesada. O resultado mostrou forte concordância quando se tratava de aves sem desafio (grau 0 e 1) e com desafio (graus 3 e 4) mas muita divergência nos vacinados, principalmente no grupo “vacina forte” (grau 1 a 4). Isso estimulou à repetição do chamado ring test, mas agora usando o padrão da Pharmacopea Européia (vide abaixo) e houve maior concordância nos resultados. Assim, podemos dizer que seria uma melhor maneira de se avaliar a lesão histopatológica.

Padrão da Pharmacopea Européia:

- 0-** Bolsas sem lesão aparente.
- 1-** Baixa depleção medular; infiltração de heterófilos no córtex; presença de focos necróticos na região medular.
- 2-** Depleção linfocitária considerável na maioria dos folículos; muitos núcleos picnóticos nas camadas medular e cortical; maior infiltração de heterófilos e macrófagos.
- 3-** Formação intensa de cavidades císticas (ou pseudocísticas) na medular, debris celulares e edema; atrofia folicular e aumento no espaço interfolicular; muitos corpos necróticos na cortical.
- 4-** Severa depleção linfocitária da medular e cortical; núcleos picnóticos e eosinófilos remanescentes; aumento do espaço interfolicular com tecido conectivo fibroso; perda da distinção entre córtex e camada medula.
- 5-** Completa perda da arquitetura normal da bolsa; poucos linfócitos remanescentes.

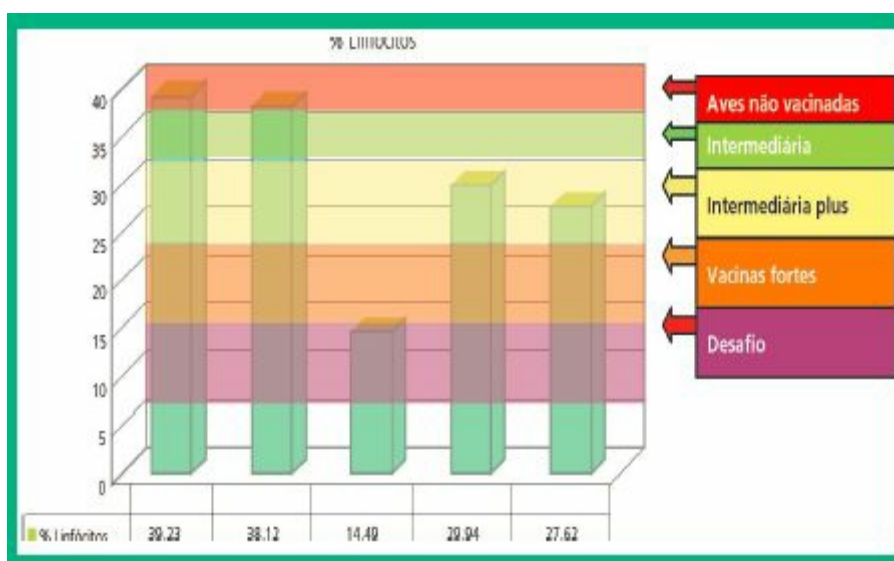
Não podemos esquecer que outros fatores imunossupressores também provocam lesões similares na bursa, principalmente micotoxinas e por isso, sempre que houver a remessa de material para exame histopatológico devemos incluir não somente bursas, mas também amostras do fígado; rins; baço como principais e qualquer outro órgão que porventura possa apresentar lesão; dessa forma ficará mais fácil saber se temos outros fatores envolvidos no processo de depleção linfocitária.

### **Análise de Imagens – Image processing analysis (IPA)**

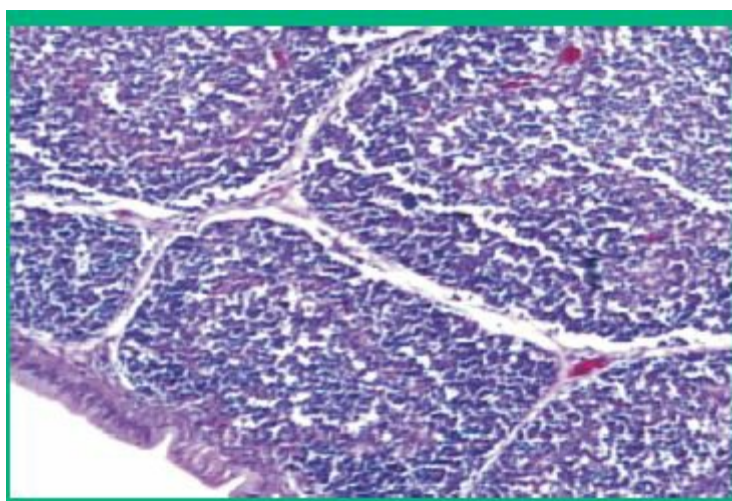
Sistema de avaliação por imagem sendo que depois de captada a imagem microscópica da bursa, a partir de lâmina corada por HE, a mesma é avaliada de forma computadorizada através de software específico onde o programa desenvolvido identifica e marca os linfócitos presentes no corte avaliado. São gerados dados de número de células por campo ou porcentagem de linfócitos no total da área avaliada. Essa avaliação torna-se mais precisa, pois se determina a porcentagem de linfócitos presentes na Bolsa e com isso pode-se mais facilmente relacionar com:

- efeito vacinal - de acordo com o tipo de vacina utilizada (intermediária; plus ou forte)
- efeito imunossupressor – onde o mais comum seria pelo vírus de Gumboro, porém sabemos que outros fatores infecciosos e tóxicos (micotoxinas p. ex.) também provoquem diminuição no número de linfócitos;
- Bolsa saudável, ou seja, sem efeito de vacina ou outro agente imunossupressor.
- A porcentagem de linfócitos varia de acordo com a idade da ave examinada, pois de 7 a 14 dias pós vacinação é quando vemos o maior efeito da vacina e conseqüentemente maior depleção linfocitária (que varia ao redor de 20% para vacinas fortes e ao redor de 30% para vacinas intermediárias) e depois de 21 a 28 dias vemos a regeneração do tecido linfóide com novo aumento nas porcentagens de linfócitos (variando ao redor de 30% para vacinas fortes e ao redor de 40% para vacinas intermediárias)

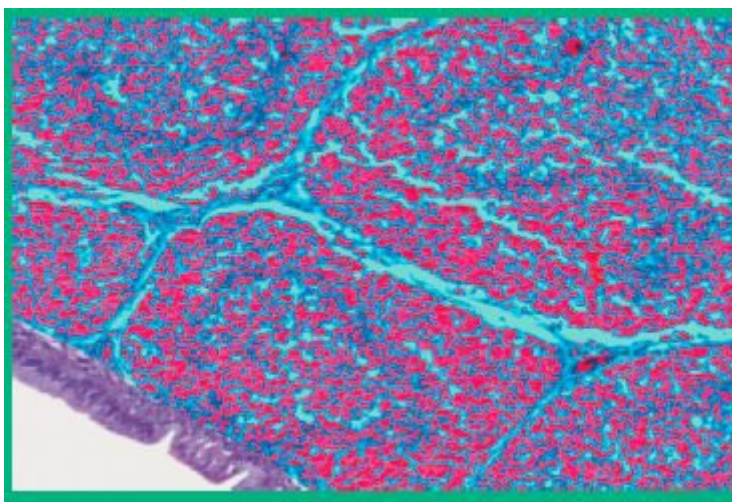
As **Figuras 27 e 28** mostram exemplos de imagens processadas para a avaliação da porcentagem de linfócitos.



**Figura 26** - Média de % de linfócitos esperada no sistema IPA.



**Figura 27** - Imagem da bursa corada HE.



**Figura 28** - Linfócitos corados.

## Sorologia

O rastreamento sorológico é uma forma efetiva para o mapeamento do nível de exposição das aves ao vírus de Gumboro, permitindo muitas vezes a tomada de medidas de controle sanitário antes mesmo do aparecimento dos sinais clínicos a campo. Os resultados sorológicos são analisados a partir da formação de uma base-line, que é o histórico dos níveis de anticorpos esperado em uma determinada idade para o esquema vacinal adotado pela empresa. O indicado é realizar a coleta dos soros no abate, pois como os anticorpos maternos são catabolizados até a terceira semana de vida (Sayd & Muñoz, 2003), a resposta vacinal ou os desafios de campo são melhores visualizados na fase final da vida da ave. Atualmente o teste ELISA tem sido mais utilizado e apresenta maior sensibilidade, porém os testes de soroneutralização também estão disponíveis e são mais específicos.

Normalmente podemos dizer que a resposta puramente vacinal não ultrapassaria, em ELISA, valores acima de 2000-2500, sendo menor para vacinas intermediárias e maior quanto mais forte a cepa vacinal. Títulos acima de 3000 já indicariam o estímulo por vírus de campo. Estes valores podem variar de acordo com o kit utilizado. A prova de precipitação em gel de ágar pode ser utilizada onde o antígeno é derivado da bolsa e detecta anticorpos precipitantes de infecção natural ou de vacinação. A sensibilidade é baixa e a especificidade é alta. O grande entrave dessa prova é o fato de não estar padronizada e os resultados variarem entre laboratórios.

## PCR

A técnica de biologia molecular permite que haja um melhor entendimento da epidemiologia do vírus de campo e da avaliação da eficácia dos programas vacinais adotados displacement (capacidade do vírus vacinal sobrepor ao vírus de campo na bursa e no ambiente). Esta é uma prova qualitativa, que em conjunto com as demais formas de monitoramento, permite adequar os programas vacinais aos desafios existentes.

Tanto a prova de RT-PCR-RFLP como o sequenciamento podem ser utilizados com finalidade de se obter informação sobre o vírus presente na amostra enviada. Devemos atentar para o fato de que esta prova é extremamente sensível e por isso ao se coletar amostras entre diferentes granjas (campo) ou diferentes aves (pesquisa) para cada tratamento ou granja devemos trocar o material

de coleta (luvas, tesoura, pinça, etc) e lavar as mãos pois corre-se o risco de contaminação cruzada entre amostras.

Vacinas tipo forte e vírus de campo persistem por maior tempo na bursa e sendo assim é mais fácil identificá-los, porém quando se trata de vacinas intermediárias a persistência na bolsa é menor e consequentemente a recuperação no PCR também o que leva a resultados negativos em lotes vacinados.

## Isolamento viral

É feito em membrana cório-alantóide de ovos embrionados de 10 a 11 dias, ou em cultivo celular, a partir de baço e bursa de aves mortas ou sacrificadas na fase aguda. Ao isolamento, segue-se a identificação e tipificação do vírus. Em algumas circunstâncias, é necessário identificar a variante, quando indicado. A tipificação viral é realizada por estudos em aves vivas ou por provas laboratoriais. A prova em aves vivas consiste na inoculação da amostra “desconhecida” em aves livres de anti- corpos e depois desafiadas com vírus previamente tipificados. Se as aves forem protegidas contra o vírus previamente tipificadas. Provas in vivo proporcionam resposta mais definitiva sobre a identidade do vírus, porém são muito demoradas, laboriosas e requerem laboratórios de segurança.

As provas laboratoriais para tipificação viral são a de vírus-neutralização (VN) e eventualmente ELISA. A prova de VN com anticorpos policlonais é confiável para tipificação e para estudos de relação entre cepas de vírus de DIB. Os resultados da VN são utilizados para interferir sobre as características da imunidade cruzada entre estas cepas. A prova de ELISA tem sido empregada também para fins de tipificação viral, utilizando bateria de anticorpos monoclonais que estão bem caracterizados quanto aos epítopes específicos contra os quais reagem, possibilitando não apenas identificar o vírus, como também distinguir as diferenças entre cepas variantes e cepa clássica. As cepas clássicas foram reconhecidas por três anticorpos monoclonais neutralizantes – R63, B69 e 179 – dirigidos contra diferentes epítopes. As cepas variantes Delaware não possuíam o epítope B69, o que permitiu diferenciá-la da cepa clássica. Outras cepas variantes, como aquelas isoladas em 1987, não eram reconhecidas pelo anticorpo R63. Em 1988, foi isolada uma cepa que não reagiu com o anticorpo 179, indicando a perda de outro epítope neutralizante, comparativamente à cepa padrão.

Existem outras provas laboratoriais, como a microscopia eletrônica, imunoperoxidase e de anticorpos fluorescentes que empregam anticorpos monoclonais, mas nenhuma é útil para diferenciação de sorotipos ou subtipos.

## Ficha de monitoramento a campo

Abaixo está um exemplo de monitoramento abrangente utilizando as principais ferramentas para rastreamento (necrópsia) e diagnóstico laboratorial (PCR e histopatologia). Com o uso periódico desse tipo de controle pode-se diagnosticar desafios por Gumboro na sua forma subclínica bem como subdividir regiões em alto, médio e baixo desafio.

Outra finalidade dessa ferramenta é avaliar a eficácia dos programas imunoprofiláticos adotados.



A sorologia também poderia ser incluída pois nos indicaria se o desafio está presente ou não, independente do lote estar protegido ou não. Pois uma vez presente o desafio, sejam aves protegidas ou não, ambas apresentarão soroconversão. Assim como a análise de imagens que indicaria um padrão de porcentagem de linfócitos característico ou não da vacina utilizada no lote, unindo todos os resultados como o tamanho e aspecto das bolsas, sorologia, lesão histopatológica, porcentagem de linfócitos e PCR tem-se maior confiabilidade se está ocorrendo um desafio de Gumboro ou qualquer outro fator imunossupressor e se as aves estariam protegidas ou não.

Um único teste não vai nos dizer sobre o estado de proteção das aves.

## Profilaxia

A profilaxia da DIB, emprego de meios para a prevenção e controle da ocorrência ou da disseminação dessa doença, deve estar necessariamente ligada a sua cadeia epidemiológica, ou seja, aplicada às fontes de infecção, à transmissão da doença e aos susceptíveis.

### Medidas de profilaxia aplicada às fontes de infecção

O primeiro passo é identificar ou diagnosticar quais são as aves doentes ou portadoras do VDIB. Quanto maior for o número de animais portadores e de infecções sub-clínicas que poderão estar ocorrendo no plantel, mais difícil será a identificação.

O segundo passo, uma vez feito o diagnóstico da doença, é a identificação das aves doentes ou portadoras, é o sacrifício e destruição dessas aves.

### Medidas de profilaxia aplicadas ao mecanismo de transmissão

Deve-se promover a desinfecção – limpeza – com agentes físicos ou químicos de todos os fômites que entram em contato com as aves, bem como de todo ambiente onde as mesmas se encontram alojadas. Além disso, deve-se procurar evitar o contato das aves com os possíveis disseminadores do IBDV, como as aves silvestres e os insetos, e manter uma ótima higiene do pessoal de trabalho. Desinfetantes como a formalina, cloramina e compostos iodóforos têm se mostrado eficazes contra o VDIB.

Monitoria de Gumboro - Aves com 28 dias de idade										
Mês: maio Ano: 2006										
Produtor bursas	Região Consistência	Tamanho das bursas					Aspecto das			
		ave 1	ave 2	ave 3	ave 4	ave 5	H	V	G	N P E F N
A	1	4	4	4	4	4				
X		X								

B	1	4	4	4	4	4													
X		X																	
C	1		4	4	4	4	3												X
	X																		
D	2		5	4	4	3	3												
X		XE		2		5	5	4	4	3									
X						XF		2		5	4	4	3						
3		X						XG		3	5	4	4	3					
4	3	3					X			X	3	4	4	4					

HI	3	4	3	3	3	2			X					X					
	3	5	4	4	3	3			X					X					

J	4		4	4	4	4	4												
X			X																

K	4		4	3	3	3	3												
X			X																

H - hemorrágica, V - vítrea, G - gelatinosa, N - normal, E - endurecida, F - flácida.

### Resultados de exame laboratorial

Produtor	Histopatológico					
	Bursa 1	Bursa 2	Bursa 3	Bursa 4	Bursa 5	PCR
D G15		#3	#3	#2	#1	#0
E G11		#4	#3	#3	#3	#3
F G3		#1	#1	#0	#0	#0
H G15		#4	#3	#2	#2	#2

I	#2	#1	#1	#1	#0
G15					
Tabela Figura 29 - Monitoria de gumboro a campo.					

## Medidas de profilaxia aplicadas aos suscetíveis

De maneira geral, há duas formas diferentes de medidas profiláticas relacionadas aos susceptíveis, mas que devem ocorrer simultaneamente. Uma é a forma inespecífica de prevenção relacionada a fatores de biossegurança, e a outra é a vacinação. Essas medidas serão mais detalhadamente abordadas no item seguinte devido à importância na doença infecciosa da bursa.

## Medidas específicas de profilaxia (imunização)

### Imunização passiva

A mais importante é aquela transferida da mãe para os pintinhos através da gema do ovo, que é capaz de proteger contra infecções imunossupressoras precoces. Esses anticorpos foram elaborados pela galinha em consequência de infecção natural ou da vacinação. Quanto melhor for a vacinação da galinha, maiores serão os títulos de anticorpos que os pintinhos receberão passivamente, refletindo na uniformidade da imunidade populacional. Pintinhos oriundos de diferentes incubadoras possuem diferentes níveis de anticorpos porque se originam de reprodutoras com níveis distintos de imunidade. Entretanto, pintinhos de mesma origem também podem apresentar níveis diferentes de imunidade passiva. A imunidade passiva de pintinhos oriundos de reprodutoras vacinadas perdura por uma a três semanas e se tiverem recebido dose de reforço com vacina em adjuvante oleoso, a imunidade passiva poderá estender-se por quatro a cinco semanas.

Trabalho realizado por DiFabio (2003) demonstra que com o aumento da idade da ave há um crescimento significativo do coeficiente de variação (%CV) da imunidade materna, sendo que em seu estudo aves com um dia de idade apresentaram um CV de 30%, aos 7 dias 47% e aos 11 dias 70%.

As vacinas inativadas podem ser preparadas a partir de cultura de fibroblastos; células de linhagem e mesmo bolsas de aves SPF previamente inoculadas com o vírus vacinal. Além dos vírus utilizados na vacina, cepas clássicas; variantes ou ambas, a emulsão também é fator importante no maior sucesso de cada vacina, pois ela regula a liberação do antígeno para o organismo da ave estimulando melhor e por mais tempo o que gera resposta na formação de anticorpos, maior e mais duradoura. Estas vacinas são recomendadas para uso em reprodutoras com a finalidade de promover alta imunidade que possa ser passada à progênie a fim de se evitar desafios precoces e como consequência imunossupressão permanente.

### Imunização ativa

A vacinação é o procedimento profilático mais recomendado e prático, embora não seja recomendável desprezar as medidas de biossegurança. Ambas atuam complementarmente para a efetiva prevenção da DIB. Existe uma diversidade grande de vacinas atenuadas e inativadas preparadas a partir de cepas clássicas e variantes.

Vacinas atenuadas são preparadas em embrião de pinto ou em cultivo celular. O grau de atenuação é também variado, sendo as vacinas identificadas como “suaves”, “intermediárias” ou “fortes”. Cada tipo de vacina diferente pode atuar de forma diferente na proteção contra os diversos vírus de campo. Atualmente em avaliação estão as vacinas de subunidades (recombinantes) e vacinas com proteção aos anticorpos maternos (complexo antígeno/anticorpo). As primeiras lançadas em 2006 e os complexos já existentes há mais tempo e com resultados variáveis no campo dependendo do nível de desafio e patogenicidade do vírus envolvido.

Devido ao grande número de vacinas existentes no mercado e conceitos diferenciados para estabelecer o programa de vacinação, o recomendado é a empresa estabelecer um bom programa de monitoramento para obter informações sobre a dinâmica da doença e avaliação dos programas vacinais adotados.

### **Pontos fundamentais no sucesso de um programa de vacinação**

- Não existe um programa universal de imunização em decorrência da variabilidade da imunidade passiva, tipo de manejo e condições operacionais.
- Seguir o esquema de vacinação do laboratório produtor de vacina ou do médico veterinário responsável pela granja.
- Vacinar frequentemente as aves para induzir a uma resposta imune positiva quando os anticorpos maternos tiverem declinado totalmente.
- Não diluir a vacina acima do recomendado pelo fabricante.
- Considerar a utilização de cepas mais invasivas (cepas fortes) quando se está diante de situações de vvIBDV (cepas muito virulentas).
- Vacinar pintinhos no primeiro dia de vida quando houver necessidade de protegê-los em decorrência de imunidade passiva insuficiente. Trabalhos de Giambrone e Cookson mostram que o uso da vacina de Marek associada com Gumboro preserva a queda dos anticorpos maternos e embora esse mecanismo não esteja totalmente explicado, nas várias repetições utilizando-se vacinas diferentes os resultados de sorologia e de proteção frente ao desafio, avaliando-se apenas a proteção materna, sempre foram melhores nos grupos que receberam as vacinas associadas.

A aquisição de aves de procedência desconhecida, aquisição de aves de estado sanitário desconhecido, superlotação de galpões por questões de economia, alojamento de aves de diferentes origens no mesmo galpão, uso e reaproveitamento de camas sem critério sanitário, prejudicam o controle da doença.

### **Possíveis causas relacionadas às falhas no controle da doença**

As empresas avícolas têm concentrado seus esforços em evitar a disseminação da doença e promover um controle eficaz da enfermidade. O check-list dos possíveis fatores envolvidos e seu constante monitoramento tem auxiliado para o sucesso dos programas preventivos. Segue abaixo

alguns itens relacionados à manutenção dos desafios a campo:

### **Fatores relacionados com a biossegurança.**

- Intervalo entre lotes.
- Manejo da cama reutilizada.
- Presença de aves silvestres e aves caipiras.
- Trânsito de animais, pessoas e veículos entre granjas.
- Manejo de desinfecção das granjas
- Controle de insetos e roedores.

Lotes com heterogeneidade de títulos de anticorpos maternos.

- Programa vacinal na matriz.
- Número de doses vacinais utilizadas (período de recria).
- Cepa utilizada.
- Via de administração.
- Pintinhos oriundos de diferentes lotes de matrizes.
- Condição de manejo e ambiência das matrizes (estresse).
- Nutrição das matrizes (micotoxinas e níveis nutricionais marginais).

### **Falhas na resposta a vacinação nos lotes de frango.**

- Qualidade da vacinação.
- Qualidade da água.
- Tempo de consumo.
- Disponibilidade de equipamentos.
- Ambiência (estresse).

### **Programa vacinal inadequado ao desafio.**

- Número de doses utilizadas.
- Cepas vacinais utilizadas.
- Idade de vacinação inadequada.

### **Nutrição**

- Níveis nutricionais marginais.

### **Estresse**

- Temperatura.
- Densidade.

### **Interação com fatores imunossupressores\***

- Micotoxinas.
- Agentes bacterianos: *E. coli*.

- Agentes Virais: Marek, AI, Leucose, *Reovirus*, Reticuloendoteliose.
- Estresse: manejo ambiental, social, fisiológico.
- Criptosporidiose.

## Agradecimentos

Aos autores do capítulo original, Vilson Antonio Simon e Masaio Mizuno Ishizuka e todos os que colaboraram com suas sugestões, apoio e disponibilização de materiais e experiência profissional para a reatualização deste capítulo na segunda edição deste livro.

## Bibliografia

- Azzam AH, Gabal MA. Interaction of aflatoxin in the feed and immunization against selected infectious disease. *Avian Pathology* 1997; 26:317-325
- Bayliss CD, Spies U, Shaw K, Peters RW, Papageorgiou A, Muller H, Boumell MEG. A comparison of the sequences of segment A of four infectious bursal disease virus strains and identification of a variable region in VP2. *Journal of General Virology* 1990; 71:1303-1312.
- Bernardino A. Considerações sobre o problema de Gumboro a campo [Informativo técnico]. Campinas: Fort Dodge Saúde Animal; 2000.
- Bernardino A. Painel Gumboro: a experiência brasileira. Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola; 2000; Santos, São Paulo. Brasil.
- Bernardino A. Programas de vacinação em frangos de corte. In: Mendes AA, Nääs IA, Macari M. Produção de frangos de corte. Campinas: FACTA; 2004. p.193-202
- Bernardino A, Cookson KC, Leite RA, Naime R. Image Processing Analysis (IPA) to differentiate vaccine virus and a vvIBDV field isolate present in Brazil. Proceedings and Annual report 2002 of COST ACTION 839; 2002; p.95-102
- Cosgrove AS. An apparently new disease of chickens avian nephrosis. *Avian Diseases* 1962; 6:385-389.
- Di Fabio J, Rossini LI, Eterradossi N, Toquin MD, Gardin Y. European-like pathogenic infectious bursal disease viruses in Brazil. *Veterinary Record* 1999; 145:203-204.
- Di Fabio J. Painel sobre vacinação no incubatório FACTA. Campinas: FACTA. Fussel LW. Poultry industry strategies for control of immunosuppressive diseases. **Poultry Science** 1998; 77(8):1193-1196.
- Giambrone JJ. Crowding worsens IBD: a current appraisal. *Broiler Industry* 1985; 98-106.
- Giambrone JJ. Broiler vaccination-additional protection is often needed. International Poultry Symposium Summit on IBD; 1995; Athens, GA. p.17-20
- Godwin M. Bursa scores and bursa body weight ratios after infection with classic IBD virus.

Technical Bulletin of Schering-Plough Poultry 1992; 231(273):5.

Godwin M. Interpretation of bursal scores. Technical Bulletin of Schering-Plough Poultry 1992; 231(258):3.

Ito NMK, Noronha AMB, Dagli MLZ, Gaviolle MC, Rossini LI, Matuguma LK. Infectious bursal disease: a case report. Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science 1990; 27(1):99-110.

Ito NMK, Miyaji CI, Candal ACR. Estudo comparativo de vírus da doença de Gumboro em diferentes sistemas experimentais. Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola; 1992; Santos, SP. Brasil. p.252

Ikuta N, Fonseca ASK, Filho RV, Oliveira C, Chiaramonte, Lunge VR. Caracterização de genótipos de campo do vírus da doença de Gumboro (IBDV) no Brasil. Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola; 1997; Campinas: Fundação Apinco; 1997.

Jackwood DH, Saif YM. Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. **Avian Diseases** 1987; 31:766-770. Jackwood DJ, Sommer SE. Restriction length polymorphisms in the VP2 gene of infectious bursal disease viruses. **Avian Diseases** 1997; 41:627-637.

Jackwood DJ, Sommer SE. *Restriction Fragment Length Polymorphisms* in the VP2 gene of infectious bursal disease viruses from outside United States. **Avian Diseases** 1997; 43:310-314.

Jordan FTW, Pattison M. Poultry diseases. London: W.B. Saunders Company; 1996. p.199-203.

Knoblich S, Jackwood D. Antibody titers to IBDV in broilers chicks after vaccination at one day of age with IBDV and Marek's disease virus. **Avian Diseases** 2000; 44:874-884.

Kouwenhoven B. El control de la enfermedad de Gumboro muy virulenta en Holanda. **World Poultry** 1995; supl:15-16.

Kreager K. La IBF en pollas para producción de huevo. **World Poultry** 1995; (supl):19-20.

Lasher HN, Box PG. Infectious Bursal Disease- the past, present situation and future prospects. **Zootecnica International** 1993; 70-77.

Leffer E. Manual técnico Univax-Plus; 2003.

Leffer E, DI Fabio J, Trevizoli JF, Casagrande H, Toledano F. Avaliação das vacinas de gumboro tipo "hot" nos órgãos linfóides e resposta sorológica de aves apresentando anticorpos maternos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola** supl 7:233.

Lukert PD. Uso de vacunas a virus activo (vivas) a presencia de anticuerpos maternos. **World Poultry** 1995; (supl):12-13.

Lukert PD, Saif YM. Infectious bursal disease. In: Calnek BW. Diseases of poultry. Ames: Iowa State University; 1997. p.1080

Mekkes DR, Witt JJ. Herramientas diagnósticas para la detección – cepas variants, virulentas y anticuerpos. *World Poultry* 1995; (supl):10-11.

McIlroy SG. Efectos economicos de la IBF subclínica sobre la producción de los pollos de engorde. *World Poultry* 1995; (supl):24-25.

Newman LJ. IBD vaccination: getting the most out of your vaccination program. *Technical Bulletin of Schering- Plough Poultry* 1992; 231:7.

Nishizawa M, Paulillo AC, Bernardino A, Alessi AC, Sayd S, Okada LSN, Doretto Junior L. Evaluation of anatomopathological, serological, immunological responses and protection in broilers vaccinated with live infectious bursal disease vaccines. *Arquivos do Instituto Biológico* 2007; 74(3):219-226.

Rifuliadi D. Effect of infectious bursal disease vaccination of chicks with maternal immunity (thesis). Georgia: University of Georgia; 1981.

Rosales AG. Programas de control y evaluación de la inmunidad en pollos de engorde y reproductores pesados. *World Poultry* 1995; (supl):21-23

Rosenberger JK. Virus da doença infecciosa bursal e agente de anemia das galinhas: seus efeitos na capacidade imunológica das aves. Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola; 1998; Campinas: Apinco; 1998. p.21-26.

Rosenberger JK. El papel de la IBF en la inmunosupresión- incremento en la susceptibilidad a otras enfermedades infecciosas. *World Poultry* 1995; (supl):7.

Sayd S, Muñoz R. Medicina preventiva en ponedoras y pollos de engorde: la importancia de la serología. *Anais do XVIII Congresso Latino Americano de Avicultura*; 2003; Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

Saif YM. Control y prevención de la enfermedad infecciosa de la bursa. XVI Congresso Latino Americano de Avicultura, 1999; Lima, Peru: APA; 1999. p.37-38.

Saif YM. Pruebas de laboratorio versus pruebas en aves vivas. *World Poultry* 1995; supl:9.

Saif YM. Infectious bursal disease and hemorrhagic enteritis. ***Poultry Science*** 1998; 77(8):1186-1189.

Sluis W. El virus de la infección de la bolsa de Fabricio – destructor del sistema inmune. *World Poultry* 1995; (supl):4-6.

Stewart-Brown B. Genetics and management of Infectious Bursal Disease: IBD- a worldwide perspective. *Misset World Poultry* 1992; 8(6).

Stewart-Brown B. Um enfoque integral de la enfermedad infecciosa de la bolsa. *Industria Avícola* 1990.



Stewart-Brown B, Trampel DW. Quantitating lymphocyte depletion of Thymus and Bursa using an image processing technique. WPDC 1992.

Tizard I. Introdução à imunologia veterinária. São Paulo: Ed Roca; 1981. p.329

Trevizoli J. Medidas profiláticas gerais contra a doença de gumboro. Simpósio Sobre a Doença de Gumboro; 2001 nov. 21-22; Campinas, SP. Brasil. p.135.

Van den Berg T. Acute infectious bursal disease in poultry: a review. **Avian Pathology** 2000; 29:175-194.

Winterfield RW, Hitchner SB. Etiology of an infectious nephritis-nephrosis syndrome of chickens. *American Journal of Veterinary Research* 1962; 23:1273-1279.

Winterfield RW, Hitchner SB, Appleton GS, Cosgrove AS. Avian nephrosis, nephritis and Gumboro disease. *L&M News Views* 1962; 3:103.

# Adenoviroses, reoviroses, rotaviroses e viroses intestinais

<b>Adenoviroses</b>	<b>677</b>
Introdução	677
<b>Importância econômica e em saúde de aves e humana</b>	<b>679</b>
<b>Propriedades gerais de Adenovírus</b>	<b>679</b>
<b>Doenças causadas por Aviadenovirus (ex-grupo I)</b>	<b>681</b>
<i>Hepatite por corpúsculo de inclusão</i>	681
<i>Etiologia</i>	681
<i>Hospedeiros naturais e experimentais</i>	681
<i>Epidemiologia</i>	682
<i>Transmissão</i>	682
<i>Patogenia, lesões e sinais</i>	682
<i>Diagnóstico</i>	684
<i>Bronquite das codornas</i>	684
<i>Etiologia</i>	684
<i>Hospedeiros</i>	684

<i>Transmissão</i>	684
<i>Patogenia, lesões e sinais</i>	684
<i>Diagnóstico</i>	685
<i>Infecções por Aviadenovirus em outras espécies de aves</i>	685
<i>Síndrome Hepatite-Hidropericárdio</i>	685
<i>Outras patologias por Aviadenoviruses</i>	686
<i>Queda de postura</i>	686
<i>Doença respiratória</i>	686
<i>Redução no ganho de peso</i>	686
<i>Proventriculite transmissível</i>	686
<i>Pancreatite necrótica e erosão de moela</i>	686
<i>Doenças do sistema imune</i>	687
<i>Artrite</i>	687
<i>Diagnóstico das Aviadenoviroses</i>	687
<i>Estratégias de prevenção</i>	688
<i>Infecções por Siadenovirus (Adenovirus aviário Grupo II)</i>	688

<i>Etiologia</i>	688
<i>História</i>	688
<i>Epidemiologia</i>	689
<b>Estratégias gerais de prevenção e controle de Adenovirose por Atadenovirus, Aviadenovirus e Siadenovirus</b>	<b>690</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>691</b>

# Adenovirose, reovirose, rotavirose e virose intestinais

Nelson Rodrigo da Silva Martins, José Sérgio de Resende

## Adenovirose

### Introdução

Desde a última edição deste capítulo, grandes modificações na sistemática de adenovírus ([Lista 1](#)) foram publicadas pelo ICTV, sigla em inglês do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (na internet <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/>). De acordo com o ICTV, na família Adenoviridae, há atualmente três gêneros com integrantes que infectam a classe AVES. Os adenovírus estão classificados no super-reino Viridae, reino dsDNA-no RNA stage, na ordem Caudovirales e na família Adenoviridae. As adenovirose são infecções por vírus da família Adenoviridae. Em AVES, as adenovirose ocorrem por integrantes dos gêneros Aviadenovirus (denominado anteriormente Grupo I), Atadenovirus (anteriormente Grupo III) ou Siadenovirus (anteriormente Grupo II) ([Lista 1](#)). Aviadenovirus infectam apenas aves e o gênero integra seis espécies virais, designadas A, B, C, D, E e adenovírus dos gansos. Estão provisoriamente também classificados no gênero os adenovírus de pato B, de pombo e de peru B. A espécie protótipo de Aviadenovirus é o adenovírus das galinhas A - (FAdV-A), com os sorotipos CELO (FAdv-1), Phelps e 112. Atadenovirus ("At" alto teor de Adenina-Timina) abriga apenas uma espécie descrita em aves, o adenovírus dos patos (DAdv-1), o vírus causador da síndrome da queda da postura de 1976 (egg-drop syndrome 76 - EDS-76). O gênero integra também vírus de ruminantes, de ovinos (protótipo), marsupiais e répteis. O gênero Siadenovirus (de sialidase) tem como protótipo um vírus de sapo (Classe Amphibia, Ordem Anura) e integra o vírus da enterite hemorrágica dos perus (TAdv-3 ou HEV), doença do baço marmóreo de faisões (PhAdv-1) e o adenovírus da esplenomegalia de frangos [vide [Lista 1](#)]. Outro gênero relevante em Adenoviridae é Mastadenovirus, que ocorre em mamíferos. Para maiores detalhes sobre os aspectos físicos, químicos e biológicos dos adenovírus, recomendam-se as consultas dos capítulos 67 Adenoviridae: The Viruses and Their Replication; por Thomas E. Shenk e 68 Adenoviruses por Marshall S. Horowitz (2001), em Fields Virology. O termo adenovirus (adenos, glândula), deriva de adenoides, devido ao primeiro isolamento das adenóides ou tonsilas faríngeas humanas, tecido linfóide localizado na junção naso-bucal no teto da nasofaringe.

Tabela Lista 1 - Taxonomia de Adenovirus na Classe AVES. Gênero Aviadenovirus [ex-adenovirus grupo I] Adenovirus de galinha A (Fowl adenovirus A)

As infecções por Aviadenovirus são comuns em aves comerciais e as características dos sistemas de criação intensificada, em locais com múltiplas idades e procedências, com proximidade e sem biossegurança entre lotes, favorecem a disseminação. De modo geral, as adenovirose por

Aviadenovirus têm pouca expressão clínica, que pode depender de fatores associados, especialmente para as infecções pelos integrantes do gênero Aviadenovirus. Entretanto, para os adenovírus dos outros gêneros há quadro clínico- patológico típico. No capítulo 8, Adenovirus infections, do livro Diseases of Poultry 11ª edição, o leitor poderá encontrar informações complementares (McFerran, 2003; McFerran e Adair, 2003a; McFerran e Adair, 2003b; Pierson e Fitzgerald, 2003). Os primeiros isolados de adenovirus aviários foram obtidos de forma acidental por estarem presentes em ovos embrionados utilizados na rotina de isolamento viral para diagnóstico, no final da década de 1940. O agente órfão letal do embrião de galinha (chicken embryo lethal orphan - CELO, FAdv-1) foi isolado de embriões e os isolados GAL de cultivos primários de células de galinha. A presença de adenovírus aviários em embriões, devida à transmissão vertical de reprodutoras infectadas, é fator determinante da perpetuação na população avícola. A transmissão horizontal, a partir da contaminação de fômites (utensílios da granja, como bandejas de ovos, comedouros, bebedouros), pessoal e proximidade de galinhas portadoras, ocorre em falhas de higiene e biosseguridade e coloca em risco os plantéis, especialmente importante, nos reprodutores. O sucesso dos programas de controle em criações industriais, com estratégias já definidas em galinhas para agentes de controle obrigatório no PNSA, deve-se considerar que, para adenovirose, há vantagem se os plantéis reprodutores forem livres de infecção e mantidos em biosseguridade.

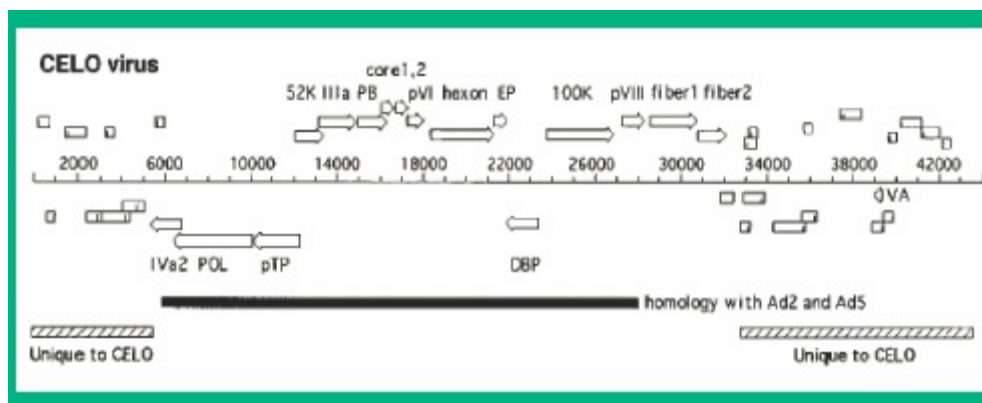
## Importância econômica e em saúde de aves e humana

Até o momento nenhum dos adenovírus que ocorrem em aves têm importância em saúde pública. Os adenovírus do gênero Aviadenovirus geralmente não são causadores de patologia evidente e sua presença em um hospedeiro não é sempre associada à doença. Os quadros clínicos mais consistentemente associados aos Aviadenovirus são a hepatite por corpúsculo de inclusão e hepatite- hidropericárdio, doenças multifatoriais, em que a depressão imune tem papel decisivo como condição potencializadora e, a bronquite das codornas, doença potencialmente severa em codornas *Colinus* e *Coturnix* jovens. Também, os adenovírus dos gêneros Atadenovirus (EDS-76) e Siadenovirus (enterite hemorrágica dos perus, doença do baço marmóreo de faisões e esplenomegalia de frangos) são causadores de doenças clínicas e típicas e por isto têm óbvio e direto significado econômico. Os *Aviadenovirus* embora não tenham caracterizada a sua importância econômica, que é de difícil mensuração, atuam especialmente na redução da produtividade e agravando a patogenia de outros agentes, infecciosos ou não e tornam-se relevantes pela alta disseminação. Mais recentemente, episódios de adenovirose severa têm sido relatados em falconídeos, com alta mortalidade e hepatite por corpúsculo de inclusão, com tremendo impacto nas criações preservacionistas ou de esporte.

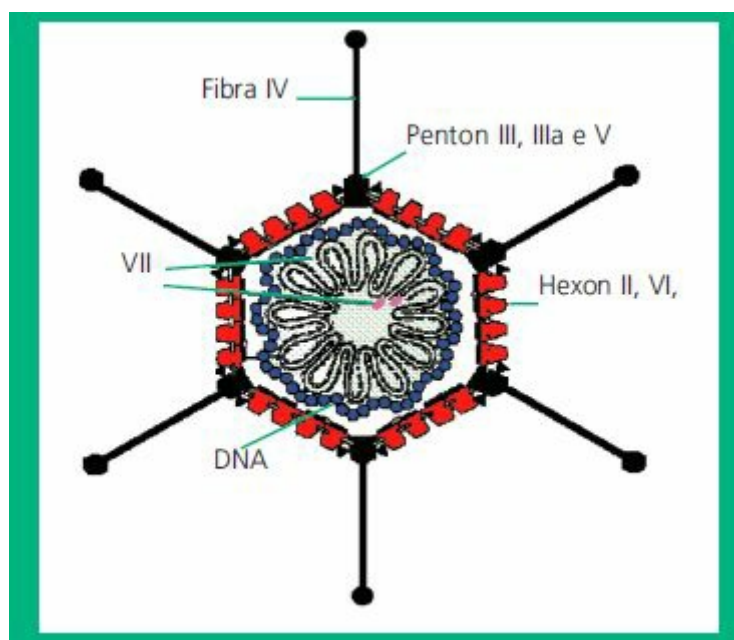
## Propriedades gerais de *Adenovirus*

Adenovirus contém genoma de ácido desoxirribonucléico (DNA), de fita dupla, não segmentado, com seqüências redundantes terminais (com repetições invertidas, ITR) e conteúdo G+C (guanina+citosina) de 53,8 a 57,7%. A seqüência completa de 43.804pb (protótipo) do genoma do Aviadenovírus CELO foi descrita (Chiocca *et al.*, 1996) e a organização do genoma é apresentada à **Figura 1**. O genoma codifica as proteínas estruturais e não-estruturais. As proteínas estruturais estão localizadas no capsídeo, fibras e cerne e as não estruturais apenas presentes na célula

infectada. Estudos eletroforéticos indicam a existência de 11 proteínas estruturais. A concha externa do vírion (**Figura 2**) é formada pelas proteínas do capsídeo S. A proteína II do capsídeo S (II), (109kDa, 967 aminoácidos), a mais abundante do vírion, está presente com 720 unidades e forma os 240 hexons do vírion com três moléculas idênticas em cada. A proteína é expressa na fase final de tradução. Os hexons, os pentons e as fibras são os principais componentes da superfície do vírion. Os polipeptídeos VI (217 aminoácidos - aa), VIII (134 aa) e IX (139 aa) estão associados ao hexon para estabilização e VI e VIII atuam na interação com componentes do cerne. Cinco cópias da proteína III, S(III) (63kDa) formam a base de cada um dos 64 pentons no vértice em cada vírion, totalizando 320 unidades de proteína III por vírion. Os capsômeros são formados pela associação entre o penton e a fibra. O polipeptídeo IIIa [S(IIIa), 64kDa, fosforilado, 60 cópias por vírion] está associado às unidades dos hexons que rodeiam os pentons e parece ligar as facetas adjacentes do capsídeo e formar ponte entre os hexons e o polipeptídeo VII do cerne. O polipeptídeo IV [S(IV), 62kDa] forma a proteína glicosilada trimérica da fibra, que se projeta da base de cada penton, com 12 cópias por vírion, em cada vértice do icosaedro. A fibra interage com receptor celular durante a adsorção viral e, vírus que apresentam duas proteínas IV, aumentam o espectro de células adsorvíveis. A fibra pode apresentar propriedade hemaglutinante e atividade tipo tóxica. A proteína interna do capsídeo VIII, de 25kDa [S(VIII)] é fosforilada e está envolvida da estabilização, montagem e formação do cerne. A proteína do cerne V [S(V), 42kDa, 180 cópias por vírion], está associada ao DNA e à base do penton. A proteína do cerne VII [S(pVII), 22kDa], semelhante à histona, é a principal proteína interna, forma com o DNA a substância tipo-cromatina e pode estar envolvida no empacotamento do vírion. As proteínas do cerne pX, X e  $\mu$  têm 10kDa cada e a proteína Term ou TP é de terminação. As proteínas não estruturais codificadas pelo vírus são enzimas DNA polimerase DNA-dependente, replicase e protease e uma proteína não-estrutural interna.

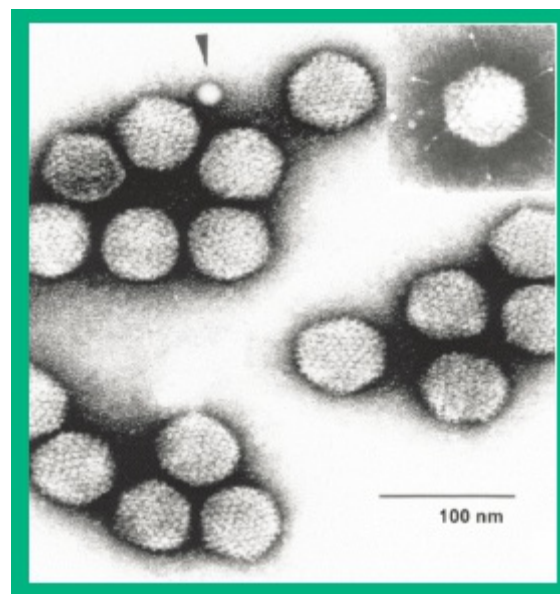


**Figura 1** - Organização genômica do Aviadenovirus chicken embryo lethal orphan (CELO).  
(Fonte: Chiocca *et al.*, 1996).



**Figura 2** - Diagrama de adenovírus.

As partículas de adenovírus (**Figuras 2 e 3**) são de simetria regular, formadas por um capsídeo em arranjo icosaédrico de 252 capsômeros hexagonais (em monocamada protéica), compostos de 240 hexons, 64 pentons e 12 fibras. Os vírions, com entre 70 e 90nm de diâmetro, consistem de um capsídeo e um cerne e contêm projeções superficiais filamentosas (fibras) nos 12 vértices. As propriedades antigênicas determinadas pelos hexons, pentons e fibras permitem a diferenciação de isolados, estirpes, espécies e gêneros de adenovírus aviários. As fibras determinam a propriedade de hemaglutinação presente em FAdv-1. Adenovírus não são envelopados, não contém lipídio e são resistentes a detergentes, solventes lipídicos, fenol a 2%, etanol 50%, tripsina, variações de pH entre 3-9 e, algumas estirpes, à temperatura de 60-70°C/30min. Entretanto, são sensíveis ao formol a 1:1000.



**Figura 3** - Microscopia eletrônica de adenovírus. Fonte:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>, acesso em 15/02/2007.

A classificação dos adenovírus é definida por características antigênicas e genóticas que levam em consideração a distância filogenética (5 a 10%), baseada na análise da matriz da distância das



seqüências dos genes da protease, pVIII, hexon e DNA polimerase, por análise do polimorfismo dos comprimentos dos fragmentos de restrição enzimática (RFLP), espectro de hospedeiros, patogenicidade, neutralização cruzada e habilidade de recombinar. No capsídeo estão os principais componentes antigênicos, na determinação de sorotipo, sorogrupo, subgrupo, espécie e gênero. Todos Aviadenovirus compartilham antígenos gênero-específicos presentes no hexon. O Atadenovirus DAdv-1 tem apenas reação cruzada parcial com alguns FAdv-1. A imunodifusão dupla pode ser usada para a diferenciação entre os três gêneros de adenovírus aviários. As estirpes de FAdv-1 têm a propriedade hemaglutinante de hemácias de rato (*Rattus rattus*) estável após o tratamento com tripsina, RNase, DNase e neuraminidase, mas destruída por aquecimento 56°C por 15min e reduzida por formaldeído. A genotipificação com o uso de enzimas de restrição permite a diferenciação entre todas as espécies de Aviadenovirus. A reação em cadeia pela polimerase (PCR) tem sido usada para a identificação de isolados.

Partículas virais semelhantes a adenovírus, com em torno de 70nm de diâmetro, denominadas adenovirus-assemelhadas (Adenovirus-like), AdLV intranucleares foram encontradas em cortes histológicos de lesões de proventrículo examinadas por microscopia eletrônica. A proventriculite viral infecciosa por AdLV (transmissible viral proventriculitis, TVP), foi reproduzida experimentalmente em galinhas SPF inoculadas com macerados de proventrículos de frangos de corte com proventriculite, nos quais foram detectadas partículas de AdLV.

Cultivos de adenovírus de aves podem conter Dependovirus, os adenovírus-associados de aves (avian adenovirus associated virus, AAV), vírus da família Parvoviridae, gênero Dependovirus, cujo genoma integra-se ao genoma do hospedeiro e são potenciais vírus endógenos em cultivos celulares de aves. Dependovirus são defectivos em replicação, auxiliado por adenovírus na geração de sua progênie viral. Os AAV são relacionados geneticamente mais aos parvovirus autônomos de aves, mas também aos *Parvovirus* de mamíferos. Em humanos, são estudados como vetores em terapia genética, pesquisados na terapia anti-tumoral.

## Doenças causadas por Aviadenovirus (ex-grupo I)

### Hepatite por corpúsculo de inclusão

A hepatite por corpúsculo de inclusão (HCI) é causada por qualquer dos integrantes de Aviadenovirus ([Lista 1](#)). Entretanto, para todos Aviadenovirus, há dificuldade de se estabelecer com clareza a relação causa e efeito da infecção, tornando-se difícil a reprodução experimental da HCI. A reprodução experimental da doença tem sido conseguida para algumas estirpes usando-se a via parenteral. As vias naturais de infecção (ingestão, inalação) não têm reprodutibilidade experimental, exceto quando associa-se um fator auxiliar à patogenia, agentes que deprimem a competência imune, como o vírus da doença de Gumboro (IBDV, infectious bursal disease virus, vírus da doença infecciosa bursal), vírus da anemia das galinhas [CAV ou CIAV; chicken (infectious) anemia virus], ou não infecciosos, por exemplo tóxicos, como as micotoxinas. Embora, quaisquer das 5 espécies de Aviadenovirus de galinhas, A a E integrantes do gênero, possam ser detectadas nos casos naturais da doença, há diferenças entre as estirpes, em sua habilidade de causar patologia.

### Etiologia

Integrantes do gênero Aviadenovirus Lista 1. Como etiologia são consideradas todas as espécies, A, B, C, D ou E de Aviadenovirus e nestas estão descritos 13 sorotipos e 27 estirpes e isolados. As estirpes e isolados podem apresentar espécie- especificidade e variação em patogenicidade. Todas as propriedades gerais físicas, químicas e biológicas são as mesmas descritas previamente neste capítulo para os adenovirus. O FAdV-1 é hemaglutinante de hemácias de rato, propriedade que pode ser explorada para ensaios de anticorpo e antígeno. Os determinantes antigênicos nos hexons contêm antígenos específicos para gênero (denominação obsoleta, grupo I), para espécie (A a E) e tipo (sorotipo), que resultam em resposta imune específica detectável para estes diferentes níveis de especificidade. Anticorpos sorotipo-específicos são neutralizantes para o sorotipo homólogo e possibilitam a caracterização das espécies em sorotipos.

## Hospedeiros naturais e experimentais

Os Aviadenovirus infectam as ordens Galliformes, Anseriformes, Psittaciformes Ciconiiformes (os falconídeos atualmente incluídos) e Columbiformes da classe AVES e podem ter-se originado de galinha d'Angola (*Numida meleagris*) e faisão comum (*Phasianus colchicus*) A infecção é disseminada em galinhas industriais (poedeiras e frangos de corte de *Gallus gallus domesticus*), perus (*Meleagris gallopavo*), pombo (*Columba livia*), periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*), marreco (*Anas platyrhynchos*) e ganso (*Anser anser*). O diagnóstico de adenovirus em cortes histológicos foi descrito em espécies da fauna e de companhia, como o falcão- americano ou quiri-quiri (*Falco sparverius*), gaivota prateada (*Larus argentatus*), agapornis (*Agapornis roseicollis*), periquito ring-neck (periquito-de-coleira, *Psittacula krameri*), periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*), papagaio rosella (*Platycercus* spp.), periquito red-rumped (*Psephotus haematonotus*), papagaio ecletus (*Eclectus roratus*), airo comum *Uria aalge* (ave marinha), cacatua (*Cacatua* spp.) e a ave australiana *Podargus strigoides*. Um surto de HCI em um criatório de falcões resultou em alta mortalidade (56%) de *F. femoralis septentrionalis* (falcão de coleira) e 5% de *F. peregrinus* (falcão peregrino) jovens de 14 a

25 dias de idade, com hepatite (HCI), esplenomegalia e enterite, nos Estados Unidos (Wyoming, Oklahoma, Minnesota e Califórnia). O surto reapareceu em diversos falconídeos em um intervalo de cinco anos. A análise genotípica do isolado resultou na caracterização de nova espécie de Aviadenovirus, específica de falcões. A investigação epidemiológica concluiu tratar-se de contaminação durante a incubação conjunta dos ovos das diversas espécies. Aviadenovirus de psitacídeos têm sido descritos e uma nova espécie foi designada, o adenovirus de psitacídeos (PsAdV) em papagaios do Senegal (*Poicephalus senegalus*) com inclusões intranucleares eosinofílicas nos hepatócitos.

## Epidemiologia

Os vários Aviadenovirus da [Lista 1](#) estão disseminados pela avicultura comercial mundial. Todos os sorotipos já foram descritos em plantéis industriais da avicultura mundial de galinhas e frangos de corte, em infecções únicas ou múltiplas, subclínicas ou clínicas. A infecção em frangos de corte e poedeiras pré-postura tem impacto na produtividade e viabilidade dos plantéis. Mais recentemente, as Aviadenoviroses estão adquirindo expressão clínica em espécies de aves da fauna, especialmente em criatórios mais intensificados para a reposição, por exemplo, falconídeos e psitacídeos, de aves de esporte, como os pombos correio, faisões ou de companhia, como psitacídeos. Nestas espécies há uma repetição dos erros já cometidos pela avicultura industrial

em seu passado, que incluíam a criação conjunta de aves de origens e idades diferentes. Aviadenovirus estão descritos em aves das ordens Anseriformes (pato, marreco, ganso), Galliformes (galinha, faisão, codorna, peru), Columbiformes (pombo), Psittaciformes (papagaio, periquito), Passeriformes (pássaros em geral), Procellariiformes (gaivota, fragata, pelicano) e Ciconiiformes (cegonha, falcão). Adenovírus de galinha (FAdV - fowl adenovirus) foram isolados também de peru (*Meleagris gallopavo*), pombo (*Columba livia*), periquito australiano (*Melopsittacus undulatus*) e marreco (*Anas platyrhynchos*). Partículas de Aviadenovirus foram encontradas em tecidos de falcão (*Falco* sp.), gaiivotas (*Larus argentatus*) e outras aves marinhas, *agapornis* (*Agapornis fischeri*) e várias outras espécies de psitacídeos. Anticorpos específicos para Aviadenovirus estão disseminados pelas aves domésticas dos gêneros *Gallus*, *Meleagris*, *Phasianus*, *Coturnix*, *Colinus*, *Anas* e *Anser* e selvagens, especialmente as cativas, incluindo as famílias *Columbidae*, *Psittacidae* e *Falconidae*.

Usualmente, na avicultura industrial, o manejo de lotes de diferentes origens mantidos próximos ou misturados promove intercâmbio de vírus, resultando à maturidade sexual, idade em que as aves já estão infectadas com diversos sorotipos endêmicos. Na inexistência de um programa de biossegurança, é comum que haja a infecção com mais de um sorotipo de Aviadenovirus em um mesmo indivíduo, resultado da baixa proteção cruzada entre sorotipos.

## Transmissão

Aviadenovirus são transmitidos da matriz para a progênie, por via transovariana ou no sêmen do macho infectado (vias verticais), e da ave infectada para a ave susceptível (vias horizontais), por ingestão, principalmente fecal-oral, ou inalação, que requer proximidade. Os folículos ovarianos da galinha infectada acumulam carga viral durante a maturação folicular, no ovário, até a ovulação do folículo para o infundíbulo. O folículo pode também ser infectado pelo sêmen de galo portador. Os folículos infectados fecundados no infundíbulo (ovos propriamente ditos) ao serem incubados dão origem à progênie infectada. A transmissão vertical em galinhas é maior durante o pico de postura, possivelmente associada à imunodepressão da produção, o que garante maior sucesso para o vírus na sua disseminação e perpetuação, tanto pelo número maior de indivíduos, como na maior carga viral em cada um dos indivíduos infectados. A infecção por adenovírus em geral pode ser latente e, mesmo com a monitoria permanente de plantéis saudáveis, pode-se obter resultados laboratoriais falso-negativos para isolamento viral, por amostragem nos ciclos sem expressão viral. A transmissão vertical (infecção embrionária) origina as aves que desenvolvem latência. Na progênie infectada, em frangos de corte, a expressão máxima de vírus pode ocorrer entre a terceira e sexta semanas de vida e em poedeiras entre a quinta e nona semanas. Em criações industriais, propriedades com multiplicidade de idades e procedências, com falhas em biossegurança, por misturas de trabalhadores e equipamentos entre lotes, permitem a difusão horizontal dos vírus que podem ser infectados por diversos Aviadenovirus e, podem apresentar maiores consequências da HCI.

## Patogenia, lesões e sinais

Qualquer sorotipo de Aviadenovirus pode causar HCI. Estão documentados episódios naturais com FAdV-1, FAdV-2, FAdV-3, FAdV-4, FAdV-5, FAdV-6, FAdV-7, DAdV-8, FAdV-9 e FAdV-12 em diversas partes do mundo. Há variações na virulência dos isolados e estirpes, algumas sendo capazes de causar crescimento retardado, hepatite e/ou imunossupressão após a infecção

experimental em galinhas isen- tas de patógenos específicos (sigla em inglês: SPF).

A expressão viral ou sua reativação está dependente do declínio dos anticorpos anti-virais circulantes. Progênes infectadas expressam vírus quando do declínio dos anticorpos maternos específicos. Nestas progênes, o declínio da imunidade passiva coincide com o início da manifestação de doença. Adultos infectados têm ciclos de latência e reativação regulados pelos níveis de anticorpos circulantes, altos no primeiro e baixos no segundo. Aviadenovirus são comumente obtidos de aves saudáveis. Devido à alta disseminação, os Aviadenovirus estão freqüentemente presentes em aves infectadas ou doentes por outros patógenos, agravando a patogenia de infecções com, por exemplo, IBDV ou CAV ou micotoxinas. Entretanto, em contraste à alta disseminação, a doença clínica (HCI) é rara. O sítio principal de replicação é o intestino. Em aves doentes, o vírus extrapola a infecção intestinal e torna-se sistêmico, sendo isolado das vísceras. Os diversos sorotipos descritos estão relacionados na Lista 1. O FAdv-1 (Phelps) pode produzir infecção inaparente em galinhas e bronquite clínica em codornas. A oncogenicidade por algumas estirpes, especialmente FAdv-1 (CELO) foi demonstrada, após a inoculação experimental in vitro em células humanas e de hamsters e, in vivo em hamsters. Após a inoculação parenteral, algumas estirpes de Aviadenovirus causam mortalidade em pintinhos de um dia de idade, entretanto, o quadro não ocorre se inoculados aos 10 dias de idade. A patogenicidade às inoculações experimentais depende de variáveis como estirpe de vírus, título da dose viral e idade da ave. Há grande variação em patogenicidade entre as estirpes, mesmo em um mesmo sorotipo de Aviadenovirus, com a dose letal podendo variar entre quatro doses infectantes de cultivos de tecidos 50% (sigla em inglês: TCID<sub>50</sub>), para alta virulência, a 300.000 TCID<sub>50</sub>, para estirpes de baixa virulência.

Matrizes infectadas transmitem Aviadenovirus via vertical e os embriões e jovens recém-eclodidos podem apresentar vírus e anticorpos e, transmitem vírus via horizontal, principalmente por fezes e secreções respiratórias. A infecção nas progênes infectadas é vitalícia e apresenta latência cíclica. Há forte correlação entre a ocorrência de surtos de HCI e o declínio nos títulos de anticorpos maternos. O catabolismo dos anticorpos passivos ocorre, em média, entre as segunda e quarta semanas, o que permite a reativação do vírus. A susceptibilidade à reativação e replicação do vírus resulta em altos títulos virais, que atingem diversas vísceras, incluindo o fígado, sistema respiratório e excretor. O quadro clínico, tipicamente, ocorre em progênes de reprodutores infectados, em decorrência das lesões, especial-mente hepáticas. Em frangos de corte a ocorrência foi registrada desde a 1ª semana de vida e, experimentalmente, até a 20ª semana de idade. A morbidade é baixa e a mortalidade pode variar entre 10 e 30% dos clinicamente afetados, por três a quatro dias, geralmente durante cinco dias, embora haja relatos de duração de até duas a três semanas. Há depressão da conversão alimentar e baixo ganho de peso. Os fígados estão aumentados e com hemorragias. As aves apresentam prostração, redução da atividade, agachamento, penas arrepiadas, palidez e icterícia. À necropsia constata-se as hemorragias de vísceras (fígado) e músculos. O fígado pode estar pálido, aumentado, friável, com hemorragias punti- formes (petequiais) ou equimóticas. À histopatologia podem-se observar nos hepatócitos inclusões basofílicas (devidas à concentração de DNA viral) intranucleares, que são sítios de montagem viral. As inclusões eosio- nofílicas podem ser encontradas e são principalmente protéicas, de aspecto granular e fibrilar. As inclusões podem ser circundadas por um halo claro.

Como a patogenia de HCI pode ser multifatorial, têm especial importância as doenças imunode-

pressoras intervenientes, doença infecciosa bursal ou de Gumboro, anemia das galinhas, micotoxinas, estresse ou outro fator imunodepressor ou supressor. Os relatos históricos que descrevem a patologia de HCI podem de fato relatar co-infecções e associações sinérgicas, caracterizadas por hemorragias e hipoplasia ou displasia da medula óssea. A doença hepatomieloepoiética, inicialmente creditada à infecção por Aviadenovirus, e à HCI, hoje rara, possivelmente descrevera casos multifatoriais, em que os vírus da doença de Gumboro (IBDV, infectious bursal disease virus) e da anemia das galinhas (CAV, chicken anemia virus) tiveram possivelmente papel principal como patógenos. Os episódios de doença hepato- mieloepoiética tornaram-se raros, com o avanço da erradicação do CAV dos plantéis reprodutores. A falta de qualidade (pureza) das vacinas vivas foi historicamente outro aspecto importante na patogenia de Aviadenovirus. A infecção por CAV em plantéis SPF produtores de ovos para a produção de vacinas (avícolas ou não), esteve disseminada por muitos anos. Muitas partidas de vacinas vivas para a avicultura (por exemplo, contra a doença de Marek, bronquite infecciosa das galinhas e doença de Newcastle) infectadas por CAV foram utilizadas.

A HCI é observada na avicultura intensificada, principalmente em *Gallus gallus domesticus* jovens, especialmente frangos de corte. Entretanto, o desenvolvimento de criatórios de espécies sensíveis com concentração de indivíduos de origens diferentes e intensificação, tem resultados em surtos cada vez mais freqüentes, relatados em Columbiformes, Falconiformes e Psittaciformes. Em pombos, a infecção resulta em hepatite e pancreatite. Surtos severos com alta mortalidade foram descritos em falcões (*Falco columbarius* e *F. peregrinus*). HCI foi também descrita em papagaios do gênero *Ecletus* (Psittaciformes) em criatórios.

Algumas estratégias para a prevenção de HCI, válidas também para outras doenças por Aviadenovirus, serão discutidas em maior detalha- mento ao final do capítulo. Com o surgimento de espécies de Aviadenovirus de grande patogenicidade para aves de criatórios de reposição da fauna (falconídeos, psitacídeos) ou de produção de espécies de companhia e esporte (psitacídeos e columbídeos), tornou-se interessante e importante o desenvolvimento de vacinas específicas para estes plantéis.

## Diagnóstico

O quadro clínico e lesões são sugestivos. Doença hemorrágica em jovens com envolvimento do fígado (hemorrágico, aumentado) é digna de suspeita. Em histopatologia podem ser observadas inclusões basofílicas intranucleares nos hepatócitos, devidas à concentração de DNA viral nos sítios de montagem viral. As inclusões nucleares eosinofílicas, de aspecto granular ou fibrilar, são principalmente protéicas. As inclusões podem ser circundadas por um halo claro. Os Aviadenovirus podem ser isolados e cultivados em monocamadas de células primárias, idealmente derivadas da espécie hospedeira e de origem SPF, por exemplo, de fígado ou rim. Algumas estirpes podem ser cultivadas em embriões de galinhas SPF inoculados via saco da gema. Aviadenovirus pode ser detectado nos tecidos infectados ou nos hospedeiros laboratoriais, por histopatologia, com a visualização de inclusões intranucleares basofílicas (DNA) ou eosinofílicas (proteína) ou por imunistoquímica, em que se revelam especificamente as inclusões com conjugado de anticorpo para Aviadenovirus. Os materiais suspeitos obtidos de surtos ou de infecção laboratorial para diagnóstico, podem ser avaliados por PCR, para a pesquisa de DNA de Aviadenovirus, em que os iniciadores podem ser específicos para estirpe,

sorotipo ou espécie, seguida de caracterização dos produtos de PCR por enzimas de restrição ou seqüenciamento. A detecção do DNA pode também ser conseguida em cortes histológicos por hibridização *in situ* com sondas de DNA complementares ao DNA viral.

## Bronquite das codornas

Aviadenovirus FAdv-1 causam a bronquite das codornas (BC), doença respiratória severa altamente contagiosa e aguda, de ocorrência natural em codornas da espécie *Colinus virginianus*. A BC é também descrita em codornas japonesas de postura *Coturnix japonica*. A BC tem grande importância em criatórios intensificados destas espécies e criações de aves fasianídeas (*Phasianidae*) de esporte ou caça do tipo perdiz.

## Etiologia

A BC é causada por Aviadenovirus FAdv-1 da espécie A (ex-sorotipo I). O vírus da BC (QBV, quail bronchitis virus) é considerado idêntico ao Phelps e CELO, ambos sorotipos da espécie A. As propriedades físico-químicas do QBV são típicas dos Aviadenovirus.

## Hospedeiros

A BC ocorre naturalmente na espécie *Colinus virginianus*, a codorna bobwhite, e *Coturnix japonica* (codorna japonesa). Galinhas (*Gallus*) e perus (*Meleagris*), entretanto, infectam-se, mas não desenvolvem doença clínica, sendo demonstrável a conversão sorológica.

## Epidemiologia

A BC ocorre como doença clínica apenas em codornas *C. virginianus* e *C. japonica*. A doença é altamente contagiosa com morbidade e mortalidade alta e súbita. A ocorrência dá-se principalmente em aves com menos de seis semanas de idade.

## Transmissão

A transmissão da ave infectada para a ave susceptível ocorre principalmente por aerossóis respiratórios, a inalação de microgotas expelidas com a expiração da ave infectada e, fecal-oral, com alimento, água ou equipamentos contaminados por fezes infectadas. Galinhas e perus podem servir como reservatórios de QBV, por não desenvolverem quadro clínico.

## Patogenia, lesões e sinais

Surtos de BC podem ser severos e inviabilizar criações de codornas. A morbidade e mortalidade freqüentemente excedem 50% do plantel infectado. Aves menores que três semanas de vida podem apresentar índices ainda mais elevados e aves pré-adultas ou adultas podem sofrer infecção sub-clínica. A ocorrência clínica pode ser anunciada inicialmente por súbito aumento da mortalidade. As aves doentes têm diminuição do consumo de alimento, amontoamento próximo de aquecedores, dispnéia, respiração ofegante e com o bico aberto, estertores respiratórios e acúmulo de secreção óculo-nasal. As principais lesões estão localizadas no sistema respiratório, com espessamento da parede da traquéia e exsudato nos pulmões e sacos aéreos. Em histologia da traquéia detectam-se inclusões basofílicas intranucleares, que contêm partículas virais, no

epitélio. No fígado podem haver focos necróticos (hepatocitólise), de aspecto claro e puntiforme. No baço pode haver aumento de volume, manchas claras e linfocitólise e, na bolsa cloacal (bursa de Fabricius), necrose de linfócitos, depleção linfóide e atrofia folicular.

## Diagnóstico

Doença aguda respiratória com alta morbidade e mortalidade em aves *Colinus* e *Coturnix* é sugestiva de bronquite das codornas. Nenhuma outra doença com envolvimento respiratório, como micose pulmonar por *Aspergillus* (aspergilose), doença respiratória superior pelo vírus da boubá aviária (Poxviridae, Avian Pox) ou de etiologia bacteriana, como *Staphylococcus aureus* ou *Escherichia coli*, resulta em quadro tão agudo e fulminante. A doença de Newcastle clínica não foi diagnosticada em *Colinus virginianus*. O isolamento do QBV pode ser feito após três a cinco passagens em embriões de galinhas SPF de 9 a 11 dias de incubação inoculados via cavidade alantóide, a partir de macerados e suspensões da traquéia, sacos aéreos, pulmões, fezes e intestinos (íleo), fígado, bolsa cloacal e tonsilas cecais. As lesões nos embriões inoculados incluem nanismo, espessamento do âmnion, focos necróticos e manchas no fígado e acumulações de uratos nos mesonefros. A identificação do QBV pode ser feita por neutralização específica com soro anti-QBV. A imunodifusão para a detecção de anticorpos precipitantes em títulos ascendentes (coleta dupla pareada de soros) anti-QBV pode ser útil no diagnóstico. A demonstração histológica de corpúsculos de inclusão intranucleares de morfologia típica de adenovírus na mucosa da traquéia e brônquios tem alto valor de diagnóstico.

## Infecções por Aviadenovirus em outras espécies de aves

Em perus, surtos que não foram reproduzidos experimentalmente descrevem Aviadenovirus em diarreias, doença respiratória e da reprodução (queda na produção de ovos). Aviadenovirus foram isolados de avestruzes (*Struthio camelus*) domesticados, associados à baixa eclodibilidade, doença e mortalidade em jovens recém-eclodidos. Os isolados de avestruzes produziram mortalidade experimental em avestruzinhas. Em gansos, inclusões intranucleares nos hepatócitos contendo partículas semelhantes a adenovirus foram associadas à alta mortalidade em jovens. No pato-do-mato (*Cairina moschata*) e em gansos canadenses (*Branta canadensis*), foram descritos quadros de traqueíte severa e pneumonia, com partículas de adenovirus detectadas nas células cilíndricas ciliadas da traquéia. A transmissão vertical resultou em alta mortalidade (12%) da progênie nos primeiros dias de vida. Em pombos-correio jovens, na Europa, os Aviadenovirus foram associados à alta morbidade rápida (100%), com vômito e diarreia aquosa amarela, lesões de HCI ou hepatite necrótica e infecções oportunistas, possivelmente potencializados pelo estresse das competições. Em galinhas d'Angola, os adenovirus foram associados com pancreatite necrotizante, doença respiratória ou doença hemorrágica, todas reproduzidas experimentalmente.

## Síndrome Hepatite-Hidropericárdio

Uma síndrome em frangos de corte de três a seis semanas de idade, com alta mortalidade, entre 20 e 70%, caracterizada tipicamente por hepatite por corpúsculo de inclusão e hidropericárdio tem sido mais recentemente descrita. A síndrome do hidropericárdio ou doença de Angara (Angora), que ocorre em aves *Gallus gallus domesticus* jovens, é especialmente severa em frangos de corte, menos severa em aves adultas (poedeiras e reprodutores) e descrita também em pombos. Apesar de envolvimento consistente de FAdV-4 (Aviadenovirus C) e FAdV-8 (Aviadenovirus E), para

alguns autores a doença é multifatorial, necessitando agente acessório à patologia, possivelmente do CAV, IBDV ou outro agente imunodepressor e supressor. Os primeiros relatos ocorreram no Paquistão em 1987 e, no ano seguinte, na Índia e países vizinhos, na época ao sul da ex-URSS, Iraque, Kuwait e Japão e depois, episódios mais severos na América do Sul, Central e México (1989), ocorreram episódios da denominada síndrome do hidropericárdio (SH) em frangos de corte a partir de três semanas de idade. SH difere da HCI pela mortalidade alta (20 a 80%) dos frangos doentes, máxima em quatro a oito dias, entretanto com baixo percentual de aves doentes (morbidade baixa) e, com patologia, caracterizada pela formação de hidropericárdio, necrose hepática, hepatomegalia, hemorragia ou palidez e nefromegalia. As lesões características são fígado friável, com petéquias (hemorragias puntiformes), focos de necrose e inclusões intranucleares basofílicas nos hepatócitos. Todas as aves doentes desenvolvem hidropericárdio. O pico de ocorrência situa-se entre a quarta e quinta semanas de idade. Ocorre transmissão horizontal entre lotes, facilmente demonstrável com a colocação de aves sentinelas sensíveis. As falhas de biossegurança e trânsito de pessoal tem papel importante. Há variações em virulência entre isolados e estirpes de FAdV-4. O diagnóstico pode ser determinado por histopatologia e demonstração das inclusões intra- nucleares basofílicas, a demonstração de anticorpos por imunodifusão, contra-imuno- eletroforese, ELISA, hemaglutinação indireta e imunofluorescência indireta. A PCR específica para o FAdV-4 foi desenvolvida para o diagnóstico e pesquisa. Extratos hepáticos com clorofórmio, obtidos de aves experimentalmente infectadas, inativados com formalina e adjuvados com parafina líquida foram utilizados com sucesso na redução da ocorrência. Vacinas foram também desenvolvidas com vírus produzido em cultivo celular e inativado. Parece haver algum papel de vírus adenovírus-associados (AAV), comumente presentes em infecções por Aviadenovirus, nos surtos de doença de Angara. Foram descritos também outros vírus nos episódios naturais da síndrome, além dos Aviadenovirus, no Paquistão, os vírus da doença de Newcastle, doença de Marek e influenza aviária e, no México, o vírus da doença de Gumboro e vírus da anemia das galinhas.

### Outras patologias por *Aviadenovirus*

O alto grau de disseminação dos Aviadenovirus, especialmente em galinhas, resulta em freqüente isolamento destes de uma variedade de casos clínicos, nos quais podem não exercer papel inicial na patogenia.

### Queda de postura

Embora os Aviadenovirus sejam comumente isoláveis de plantéis de poedeiras saudáveis, algumas estirpes podem afetar a produção de ovos em galinhas, com redução média de 10% no número de ovos e alterações na qualidade da casca. Em plantéis SPF, a infecção acidental por algumas estirpes pode não resultar em alteração imediatamente perceptível nos indicadores da produção, embora a infecção experimental possa causar queda na produção. Plantéis com excelente produção de ovos de consumo podem estar infectados. Os Aviadenovirus parecem ser de pouca importância em avicultura de postura industrial e, a queda de postura raramente ocorre em lotes de postura comercial e de reprodução, por serem as galinhas adultas menos susceptíveis.

### Doença respiratória

Estudos epidemiológicos e da patologia do sistema respiratório indicam que não há um papel



primário de Aviadenovirus neste sistema. Os Aviadenovirus são de disseminação ampla por plantéis industriais e, por isto são detectáveis e isoláveis em co-infecções, tais como em doenças respiratórias, causadas por outras etiologias, entre as mais comuns, por exemplo, pelo vírus da bronquite infecciosa das galinhas. A associação de Aviadenovirus pode determinar um caráter mais severo à doença respiratória, especialmente por depressão imune.

## Redução no ganho de peso

Embora haja relatos clínico-patológicos de campo, há dificuldade experimental na comprovação do papel de Aviadenovirus em alguns transtornos do desempenho e de ganho de peso. Em infecções experimentais com algumas estirpes, entretanto, reproduzem redução no consumo de alimento e, em consequência, redução no ganho de peso. As infecções por Aviadenovirus, por terem um caráter disseminado, podem resultar em sinergismo patogênico, em grande parte dos casos de transtorno digestório por outras etiologias, como reovirose, rotavirose, colibacilose, entre outras.

## Proventriculite transmissível

Partículas virais intranucleares semelhantes a adenovírus, com em torno de 70nm de diâmetro, denominadas adenovirus-assemelhadas (Adenovirus-like, AdLV), foram detectadas em cortes histológicos de lesões de proventrículo examinadas por microscopia eletrônica. A proventriculite viral infecciosa (transmissible viral proventriculitis, TVP), foi reproduzida experimentalmente em galinhas SPF inoculadas com macerados de proventrículos de frangos de corte com proventriculite, nos quais foram detectadas partículas semelhantes a adenovirus.

## Pancreatite necrótica e erosão de moela

Quadros de pancreatite necrótica e erosão de moela foram descritos em frangos. Nas células acinares do pâncreas exócrino e epiteliais da moela, mas não nos hepatócitos, foram demonstradas inclusões intranucleares ricas em antígenos de adenovírus. Pancreatite por adenovírus foi também descrita em galinhas d'Angola.

## Doenças do sistema imune

As Aviadenovirose podem estar associadas às doenças do sistema imune, especialmente em galinhas. As doenças pelos vírus CAV e IBDV, podem ter os Aviadenovirus em co-infecção, em criatórios com múltiplas procedências e idades criadas próximas e sem estratégia de biossegurança. Na literatura científica que descreve casos naturais de adenovirose no sistema imune de aves e, especialmente a que antecede a descrição dos vírus CAV (1979) e IBDV (1962), relata-se, possivelmente em muitos casos, a descrição de co-infecções de Aviadenovirus-CAV ou Aviadenovirus-IBDV, ou múltiplas, que podem incluir os três agentes e outros.

## Artrite

Os *Aviadenovirus* têm sido isolados de articulações de galinhas com artrite, embora não pareçam atuar como patógeno primário. A sua presença articular tem associação com o caráter disseminado da infecção, à semelhança do que ocorre com a sua presença em doenças

respiratórias.

## Diagnóstico das Aviadenoviroses

O quadro clínico de depressão imune, redução do crescimento e lesões hepáticas, com hepatite por corpúsculo de inclusão intranuclear no hepatócito é indicativo para Aviadenovirus. A histopatologia do fígado pode ser auxiliar no diagnóstico, com a demonstração de inclusões intranucleares nos hepa-tócitos corados por hematoxilina e eosina. O cultivo e a identificação dos Aviadenovirus e a demonstração de anticorpos têm, entretanto, pouco valor de diagnóstico na avicultura, por sua alta disseminação em aves de aspecto saudável ou doentes por outras etiologias. Entretanto, os adenovirus podem ser isolados em cultivos primários em monocamada, de células de fígado ou rins de embrião de galinhas SPF. O vírus pode ser isolado de fígado com HCI e de fezes, faringe e rins de aves doentes ou normais. Podem ser necessárias duas passagens consecutivas, com sete dias de incubação cada, para a visualização de efeito citopático. Embora embriões sejam pouco sensíveis para o isolamento de Aviadenovirus, as estirpes FAdv-1 (CELO) e Aviadenovirus B (Tipton) podem ser isoladas em embriões de galinhas SPF inoculados via saco da gema. Para o isolamento de estirpes de diferentes espécies de aves podem ser necessários cultivos de células homólogas à espécie de ave hospedeira. Os cultivos são examinados para a presença de corpúsculos de inclusão intra-nucleares após a coloração com hematoxilina e eosina ou revelação com anticorpo específico marcado, em imunistoquímica. Embora os métodos sorológicos de diagnóstico não tenham sido mais utilizados na avicultura industrial, pela baixa correlação entre títulos de anticorpos e doença, assim como pela alta disseminação da infecção, são úteis para as outras espécies de aves. Na avicultura industrial o diagnóstico por sorologia é de difícil interpretação porque anticorpos ocorrem tanto em aves saudáveis quanto em doentes. Anticorpos contra Aviadenovirus (antigo Grupo I) podem ser detectados por imunodifusão, contra pool de antígenos das cinco espécies. A detecção de anticorpos ou de antígenos virais, na identificação de sorotipos, pode ser também obtida por testes de neutralização, ELISA e imunofluorescência. Anticorpo específico anti-Aviadenovirus (sorotipo, espécie ou gênero) pode ser marcado com fluoresceína, peroxidase, fosfatase alcalina, biotina ou outro marcador, para a detecção de antígenos nos tecidos infectados. O diagnóstico baseado na amplificação e caracterização molecular de seqüências do DNA de Aviadenovirus são atualmente as ferramentas de melhor relação custo- benefício. A reação em cadeia pela polimerase (PCR) é considerada o método laboratorial mais rápido e confiável no diagnóstico. A PCR pode ser desenhada para a alocação do isolado em um sorotipo, espécie ou, com iniciadores mais universais, pode-se classificar o isolado no gênero Aviadenovirus. Com iniciadores espécie-específicos para A, B, C, D, E, ganso, marreco, peru, faisão ou falcão, pode-se definir a espécie. Novo sorotipo de Aviadenovirus de falconiformes foi descrito por método molecular (PCR seguido de seqüenciamento) em episódios de alta mortalidade em falcões nos EUA. Os produtos de PCR podem ser avaliados por seqüenciamento ou clivagem por enzimas de restrição, com a comparação dos resultados às seqüências ou perfis de restrição (RFLP- *Restriction Fragment Length Polymorphism*) publicados na literatura científica.

O AdLV pode ser propagado em embriões de galinhas SPF de 12 dias de incubação inoculados via saco amniótico. Para a detecção do vírus, são examinados os proventrículos dos pintinhos dois dias após a eclosão, para lesões proventriculares, para a visualização de AdLV após a coloração específica de AdLV, por imunistoquímica no epitélio proventricular, ou ainda por

microscopia eletrônica de AdLV intestinal intra ou extracelular. Outras vias embrionárias de inoculação e monocamadas celulares não têm obtido sucesso. AdLV é detectável e diferenciável dos demais Aviadenovirus por imunofluorescência indireta ou reação em cadeia pela polimerase (PCR) específicas.

## Estratégias de prevenção

Na avicultura industrial (*Gallus gallus domesticus*), os episódios em aves jovens podem estar associados à compra de aves infectadas na origem. As reprodutoras de linhagem infectada produzem progênie infectada, que poderá apresentar competência imune e desempenho deprimidos e hepatite. Fornecedores da linhagem genética poderiam oferecer diferencial de qualidade de seu produto, podendo o estado de "livres de Aviadenovirus e Reovirus", ser uma interessante vantagem econômica. A dificuldade está, entretanto em manter estes plantéis livres. A eliminação da infecção dos plantéis reprodutores infectados pode ser o ponto de partida e, sem dúvida, fundamental para a erradicação. Progênies livres devem ser alojadas em granjas que empreguem biossegurança, para que mantenham o perfil de livres. Para o controle da ocorrência clínico-patológica, em plantéis infectados é necessária a prevenção das doenças que deprimem o sistema imune, como a doença infecciosa bursal (de Gumboro), anemia das galinhas, reovirose, leucose linfóide, doença de Marek, micotoxicoses, entre outras.

Uma vacina bivalente contendo adenovírus de galinha (FAdv-4) inativado e CAV atenuado foi avaliada no Chile, com a vacinação de reprodutoras às 17 semanas de idade. Houve redução da mortalidade e da ocorrência de inclusões intranucleares hepáticas, após o desafio via intramuscular, na progênie aos 10 dias de idade, com adenovírus (único), desafio com adenovírus e CAV simultâneo, ou desafio oral com adenovírus no primeiro dia. A vacina monovalente contra FAdv-4 apresentou baixa eficiência isoladamente (Toro *et al.*, 2002).

As vacinas, entretanto, parecem surgir como alternativa, nas criações não industriais, com a indução de proteção em plantéis sob risco, especialmente para as novas espécies de Aviadenovirus descritas em pombos, falcões ou psitacídeos. Algumas vacinas atenuadas pareceram, entretanto, apresentar patogenicidade residual. As vacinas inativadas são mais seguras e estão sendo utilizadas no Paquistão, preparadas de fígados de aves infectadas experimentalmente, para a prevenção da síndrome do hidropericárdio. Vacinas comerciais polivalentes para todos os Aviadenovirus não estão disponíveis e são difíceis de produzir para atender todas as possibilidades de sorotipos. A demanda por qualidade dos imunobiológicos é essencial, e deve-se exigir vacinas vivas comerciais destinadas à prevenção de outras doenças da avicultura (bronquite infecciosa, doença de Newcastle, doença infecciosa bursal) com pureza, potência, imunogenicidade, inocuidade, estabilidade e não reversão de virulência. A pureza exige não conter adenovirus ou adeno-virus-associados (Dependovirus), além dos outros potenciais contaminantes de transmissão vertical (reovirus, retrovirus, enterovirus, entre outros).

A limpeza e desinfecção das instalações são recomendações de rotina e podem contribuir para a redução da carga de infecção ambiental. Para a eficiência destes processos, as instalações devem ser compatíveis com limpeza e desinfecção química. Contudo, a disseminação horizontal a partir de lotes infectados, em criações com múltiplas idades e procedências é muito eficiente e, mesmo com excelente manejo, é inevitável. Em falconídeos, a prevenção dos severos problemas causados por Aviadenovirus de falcão foi obtida por segregação de grupos por origem e status quanto à

infecção.

## Infecções por Siadenovirus (Adenovirus aviário Grupo II)

### Enterite Hemorrágica dos Perus

### Doença do Baço Marmóreo dos Faisões

### Esplenomegalia dos Frangos de Corte

Os *Aviadenovirus* do gênero *Siadenovirus* (ex- Grupo II) formam grupo antigenicante distinto, com diferenças em patogenicidade, de virulentos a avirulentos, demonstráveis por digestão do DNA com enzimas de restrição (RFLP) ou por caracterização com anticorpos monoclonais.

## Etiologia

Em *Siadenovirus* estão os vírus TAdV-3 ou HEV (Turkey Hemorrhagic Enteritis Virus), vírus da enterite hemorrágica dos perus jovens e o PhAdV-1, que inclui duas etiologias indistinguíveis, o MSDV (Marble Spleen Disease Virus), da doença do baço marmóreo (DBMF), que ocorre em faisões confinados e o vírus da esplenomegalia de frangos de corte (AASV, Avian Adenovirus Splenomegaly Virus), da esplenomegalia de frangos de corte associada a adenovirus (EAA). Todos estes vírus são sorologicamente e antigenicamente semelhantes, com anticorpos policlonais em testes de proteção cruzada e imunodifusão. As estirpes são, entretanto, distinguíveis na composição protéica por anticorpos monoclonais e DNA fingerprinting com enzimas de restrição.

## História

A enterite hemorrágica dos perus (EHP) foi descrita primeiramente nos Estados Unidos (1937 em Minnesota e 1957 em Ohio) e tornou-se epidêmica no Texas na década de 1960. A doença do baço marmóreo em faisões de coleira (ring-neck) foi descrita pela primeira vez na Itália em 1966. A identificação definitiva do TAdV-3 e PhAdV-1 ocorreu no começo da década de 1970.

## Epidemiologia

### Hospedeiros

A EHP ocorre em perus a partir das 4 semanas, comumente de sete a nove semanas de idade, sendo aves mais jovens aparentemente refratárias. A doença do baço marmóreo dos faisões (DBMF) ocorre em faisões criados em confinamento entre 12 e 32 semanas de idade, sendo os menores que quatro semanas de idade refratários. A esplenomegalia associada a adenovirus (EAA) ocorre em frangos de corte jovens ou ao abate, com esplenomegalia, ou com congestão e edema pulmonar em aves maduras (*Gallus*). A infecção por *Siadenovirus* (ex-Grupo II) tem sido descrita em várias espécies de aves, como perus, galinhas d'Angola e psitacídeos. A infecção experimental com o desenvolvimento de lesões, mas sem mortalidade, foi obtida após a administração de TAdV-3 (HEV) em várias espécies de galináceos, incluindo faisão dourado, pavão azul, galinha e codorna *Colinus*. O PhAdV-1 (MSDV) pode infectar perus e o HEV, faisões, experimentalmente.

### Transmissão

A transmissão é fecal-oral (horizontal) de aves portadoras para susceptíveis e não há evidências de transmissão vertical de Siadenovirus. A transmissão mecânica horizontal é direta, da ave infectada, ou indireta por materiais, animais e pessoal contaminados por fezes de aves infectadas.

## Patogenia, lesões e sinais

A incubação da EHP pode demorar aproximadamente cinco a seis dias após o contato com a fonte de vírus e os sinais clínicos de diarreia hemorrágica aguda com mortalidade variável, de até 60%, são observados por até 10 dias em perus. As lesões de EHP são muito semelhantes às lesões de enterite por coronavírus dos perus (ECP, causada por TCoV) e, incluem conteúdo hemorrágico ou escuro nos intestinos, especialmente nas porções anteriores (duodeno e jejuno), que estão distendidos e avermelhados ou pretos. Os baços estão aumentados, friáveis e marmóreos em perus com EHP. Palidez é observada como consequência da hemorragia intestinal. A mortalidade de DBMF em faisões pode chegar a 20% e distribuída durante vários dias, com baços aumentados e marmóreos e pulmões congestionados. A EAA em frangos pode resultar em mortalidade de até 9%, com lesões esplênicas semelhantes a DBMF. Ambas DBMF e EAA são superagudas e podem resultar em mortalidade súbita, embora em alguns casos podendo a ave apresentar dispnéia, fraqueza e asfixia. As lesões histopatológicas de EHP, DBMF e EAA no baço são semelhantes e incluem o aumento da polpa branca ao redor dos elipsóides, que podem estar confluentes e são visíveis macroscopicamente como pontos brancos. Os linfócitos B contêm inclusões intranucleares assim como as células mononucleares. Depleção linfóide também foi notada nas regiões medular e cortical do timo e da bolsa cloacal (bursa de Fabricius).

## Diagnóstico

Doença superaguda em faisões e frangos de corte, com mortalidade súbita podendo haver dispnéia, fraqueza, asfixia e as lesões compatíveis podem suscitar a suspeita de DBMF e EAA. Doença de alta mortalidade em faisões merece a suspeição para DBMF. Pode haver a suspeita de EAA para casos de doença em frangos de corte com intestinos hemorrágicos (duodeno e jejuno), distendidos e avermelhados ou pretos e sem a visualização de *Eimeria* (esquizontes, merozoítos, oocistos) ao microscópio. Os baços estão aumentados, friáveis e marmóreos em faisões com DBMF e perus com EHP. Como Aviadenovirus, Siadenovirus podem ser isolados, preferencialmente em cultivos primários (de origem SPF) ou, na falta destes, em embriões de galinhas SPF, inoculados via saco da gema. Os materiais recolhidos para isolamento de vírus podem ser da porta de entrada (faringe) ou de excreção (intestinos, fezes, rins), secreções e tecidos, por exemplo, fígado em HCl. Cultivos de células de fígado ou de rins da espécie hospedeira são mais sensíveis para o isolamento. HEV pode ser isolado em cultivos de células linfoblastóides de perus (MDCT-RP19). Aves sensíveis podem ser infectadas com material suspeito de HEV, MSDV ou AASV, preferentemente perus de 5 a 10 semanas de idade, inoculados via oral ou intravenosa com extratos de baços. Estirpes virulentas podem ocasionar mortalidade dentro de cinco e seis dias pós infecção, se inoculadas via oral e três dias pós infecção via intravenosa. As aves sobreviventes podem apresentar esplenomegalia e, do baço, o vírus pode ser re-isolado ou detectado in situ.

Os HEV, MSDV ou AASV podem ser detectados em impressões ou cortes histológicos no baço, nos demais órgãos do tecido linfóide e sistema digestório, das aves doentes, ou inoculadas experimentalmente, por imuno-istoquímica com conjugados enzimáticos ou fluoresceína.

Antígenos destes vírus podem ser detectados e identificados por imunodifusão contra anticorpos específicos. ELISAs têm sido descritos para a detecção e quantificação de antígenos e anticorpos. A detecção e análise do DNA pode ser obtida por amplificação em PCR e digestão com enzimas de restrição. Os anticorpos específicos para HEV, MSDV e AASV são indistinguíveis e podem ser detectados por ELISA e imunodifusão, preferivelmente com amostragem de soros em duas coletas com intervalo de aproximadamente 15 dias, no início da crise aguda e na convalescença.

## **Estratégias gerais de prevenção e controle de Adenoviroses por *Atadenovirus*, *Aviadenovirus* e *Siadenovirus***

Na avicultura industrial, a prevenção de adenoviroses aviárias deve incluir bom manejo com vistas a atender todos os requisitos, previstos nos manuais de produção, publicados pelas empresas produtoras das marcas comerciais de aves domésticas, e nas recomendações de higiene, em manuais publicados, nos programas oficiais de saúde e pelas agências oficiais de saúde animal ([www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br) e [www.oie.int](http://www.oie.int)). O manejo sanitário na propriedade deve prever a criação, em cada núcleo de produção, de aves de uma única procedência e idade. A difusão horizontal é rápida e a mais importante forma de transmissão e, como filosofia geral, deve-se reduzir ao mínimo o contato com aves e outros animais de origem desconhecida, domésticos e de vida livre, inclusive humanos em visitas. Na granja, o controle de entrada e saída deve incluir uma portaria para o registro de entrada e saída, com horário e identificação, assim como a declaração do motivo da visita, cuja autorização deverá ser restrita à entrega de ração, manutenção e conserto de equipamentos ou atendimento veterinário. Veículos devem ser lavados em toda superfície externa, incluindo embaixo e rodas, com soluções desinfetantes (por exemplo, quaternário de amônia, glutaraldeído ou formol). A entrada de pessoal visitante deve ser excepcional, com roupa e calçado, fornecido pela granja, previamente lavado e tratado com formaldeído ou autoclavado ou, cobertura de roupa e calçado com material descartável. Os trabalhadores devem ser exclusivos do núcleo e devem usar roupa e calçado exclusivos da empresa. Apesar de, para alguns destes vírus, não haver comprovação de transmissão vertical, a aquisição de aves de empresas ou criadores de qualidade, sem histórico de problemas por adenovírus nos reprodutores e suas progênes, ou quaisquer outros agentes de transmissão vertical ou que induzam estado de portador ou latência, é altamente recomendada, pelos benefícios em qualidade e saúde de plantel, em seus vários aspectos. Boa limpeza e desinfecção em rotina do ambiente criatório, com lavagem, drenagem e remoção de todos os dejetos e de resíduos das proximidades dos galpões, aplicação de desinfetantes apenas sobre superfícies já limpas, por exemplo, o hipoclorito de sódio de 1% a 5% de solução (100-500ppm) e formaldeído a 5% a 10% (de solução saturada a 36 a 40%). Produtos com quaternários de amônia têm limitada eficiência em granjas avícolas, pelo alto grau de matéria orgânica). Para a desinfecção volumétrica do galpão é necessário saber o volume cúbico interno do galpão e calcular a aplicação de 42 a 53mL de formol para cada metro cúbico. Os vapores de formol podem ser produzidos por aquecimento da solução de formol, ou com a mistura em razão 2:1, formol 10%:permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ), por exemplo, para 1m<sup>3</sup> usar 50mL de formol colocados sobre 25g de  $\text{KMnO}_4$ , em recipiente metálico (lata) dez vezes maior que o volume usado, pois há grande aquecimento e fervura e, pode haver transbordamento. Nunca deixar a reação próxima de materiais inflamáveis. Sempre aplicar formol sobre  $\text{KMnO}_4$  já presente na lata, sem respingar e, sair do local. O ambiente a ser fumigado deve estar fechado, sem renovação de ar, com umidade relativa em torno de 90% (obtida em ambientes

recém lavados) e permanecer em repouso por pelo menos 30min. Um procedimento comum é a repetição da desinfecção, no ambiente preparado para a recepção de novo lote, um ou dois dias antes da chegada das aves, com todos os utensílios da criação já dispostos, incluindo comedouros, bebedouros e cama. Outro produto recomendado é o paraformaldeído, que pode ser queimado em fogareiros elétricos na concentração de 12g/m<sup>3</sup>. O vazio sanitário das instalações, sob ação dos desinfetantes, reduz o risco de transferência de problemas sanitários entre lotes e, permite a manutenção dos equipamentos (comedouros, bebedouros, ventiladores, cortinas) e combate aos roedores e artrópodes. Para a boa atividade pecuária, esta deve atender também aos requisitos de impacto ambiental, planejando a reciclagem dos resíduos e não a simples descarga para o ambiente. Muitos municípios brasileiros já adotam a avaliação de impacto ambiental como pré-requisito para a instalação de atividade agrícola ou pecuária.

As vacinas aviárias de todas as especificidades, especialmente as vivas, devem ser de boa procedência, de laboratório idôneo e certificado pelo MAPA. Vacinas com estirpes não patogênicas de HEV e MSDV foram experimentadas com sucesso administradas na água de bebida. Nos EUA, as vacinas com suspensões de baços de perus de quatro a seis semanas de idade inoculados com HEV não patogênico ou MSDV, assim com vacinas com estirpes replicadas em MDTC-RP19, são utilizadas em larga escala e descritas como eficientes na prevenção. A vacinação padrão rotineiramente aplicada para perus ocorre em torno da 4 a 6 semanas de vida com vacina colocada na água de bebida não clorada em bebedouros livres de desinfetantes e estabilizada com leite em pó desnatado. Vacinações in ovo para perus estão sendo avaliadas e foram descritas como de sucesso. Vacinas vivas não patogênicas contra a DBMF são aplicadas para os faisões e descritas como eficientes na prevenção. Entretanto, nenhuma vacina contra a EAA está descrita até o momento para frangos de corte. Para falcões, por se tratar de Aviadenovirus diferente e de alta patogenicidade, o desenvolvimento de vacina específica pode ser alternativa, tendo também em vista, o aumento dos criatórios de falconídeos e seu potencial em importância preservacionista e comercial.

## Bibliografia

- Chiocca S, Kurzbauer R, Schaffner G, Baker A, Mautner V, Cotten M. The Complete DNA Sequence and Genomic Organization of the Avian Adenovirus CELO. *J. Virol.* 1996; 70(5):2939-2949.
- Cook JKA. Spread of an avian adenovirus (CELO virus) to uninoculated fowls. *Res Vet Sci.* 1974; 16:156-161. Cook JKA. Pathogenicity of avian adenoviruses for day-old chicks. *J Comp Pathol.* 1974; 84:505-515.
- Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Monath TP, Melnick J, Roizman B, Straus SE. Editors. *Fields Virology*. 4<sup>a</sup> Ed., LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, Estados Unidos, 2001.
- Gale C, Wyne JW. Preliminary observations on hemorrhagic enteritis of turkeys. *Poult Science* 1957; 36:1267-1270.
- Horowitz MS. Adenoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Monath TP, Melnick JL, Roizman B, Straus SE. Editors. *Fields Virology*, 4<sup>a</sup> Ed., LIPPINCOTT WILLIAMS &

WILKINS, Estados Unidos, 2001.

Kefford B, Borland R, Slattery JF. Serological identification of avian adenoviruses isolated from cases of inclusion body hepatitis in Victoria, Australia. *Avian Disease* 1980; 24(4):998-1006.

McFerran JB. In: *Diseases of Poultry*, Ed. Y. M. Saif *et al.* -11th ed., Iowa State Press, Blackwell Publishing Company, 2003.

McFerran JB, McConnell BA. Group I Adenovirus Infections. In: *Diseases of Poultry*, Ed. Y. M. Saif *et al.* -11th ed., Iowa State Press, Blackwell Publishing Company, 2003.

Mandelli G, Rinaldi A, Cervio G. A disease involving the spleen and lungs in pheasants: Epidemiology, symptoms, and lesions. *Clin Vet (Milano)* 1966; 89:129-138.

Oaks J, Lindsay, Schrenzel M, Rideout, Bruce and Sandfort, Cal. Isolation and Epidemiology of Falcon Adenovirus. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; 43(7):3414-3420.

Pierson FW, Fitzgerald SD. Hemorrhagic Enteritis and Related Infections. In: *Diseases of Poultry*, Ed. Y.M. Saif *et al.* - 11th ed., Iowa State Press, Blackwell Publishing Company, 2003.

Pomeroy BS, Fenstermacher R. Hemorrhagic enteritis in turkeys. ***Poultry Science*** 1937; 16:378-382.

Raines AM. Adenovirus infection in the ostrich (*Struthio camelus*). *Proc. Annu. Confs Assoc. Avian Vet.*, Nashville, TN, EUA, 304-312, 1993.

Raines AM, Kocan A, Schmidt R. Experimental inoculation of adenoviruses in ostrich chicks (*Struthio camelus*). *J. Avian Med. Surg.* 1977; 11:255-259.

Raue R, Gerlach H, Muller H. Phylogenetic analysis of the hexon loop 1 region of an adenovirus from psittacine birds supports the existence of a new psittacine adenovirus (PsAdV). *Archive Virology* 1943; 150:1933-1943.

Reed WM, Jack, Sherman W. Quail bronchitis. In: *Diseases of Poultry*, Ed. Y. M. Saif *et al.* -11th ed., Iowa State Press, Blackwell Publishing Company, 2003.

Shenk T. Adenovirus and their replication. In: Fields, B N, D. M. Knipe, P. M. Howley, R. M. Chanock, T. P. Monath, J. L. Melnick, B. Roizman, S. E. Straus, Editors, *Fields Virology*, 4<sup>a</sup> Ed. LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, Estados Unidos, 2001.

Toro H, González C, Cerda L, Morales MA, Dooner P, Salamero M. Prevention of inclusion body hepatitis/hydropericardium syndrome in progeny chickens by vaccination of breeders with fowl adenovirus and chicken anemia virus. *Avian Disease*; 46(3):547-54.

## Reoviroses e rotaviroses

### Introdução



As reovirose e rotavirose têm importância na avicultura industrial, por interferirem negativamente na produtividade e viabilidade econômica dos plantéis. No Brasil estão descritos episódios naturais causados por cada um dos gêneros. As infecções por reovírus estão disseminadas na avicultura industrial mundial. Por sua alta disseminação, os *Reovírus* são isolados com frequência em associação com outros patógenos. As doenças nas quais os reovírus têm sido designados como etiologia primária mais consistente são a artrite-tenosinovite viral e síndrome da má absorção. As orthoreovirose têm sido relacionadas à falta de qualidade sanitária no plantel de reprodutores, nos quais há transmissão vertical para a progênie. Os rotavírus, por sua vez, causam enterites mais severas e de ocorrência mais explosiva, não relacionadas à origem (incubatório) da ave, mas à qualidade e biossegurança de criação. Um crescente número de agentes virais têm sido descritos, associados a processos de enterite, diarreias, depressão do desempenho, perda da digestibilidade, alterações proventriculares, duodenais e no restante do intestino delgado. As etiologias virais para enterites em aves parecem ser muitas, das quais poucas são adequadamente conhecidas. A intensificação parece favorecer as emergências de enterites virais, possivelmente pela facilitada transmissão, magnificação do desafio por acumulação ambiental e estresse. Espécies de psitacídeos e outras ordens estão sendo reproduzidas comercialmente para companhia, em ambientes mais confinados, que têm facilitado episódios de virose gastro-intestinais.

A enterite por coronavírus dos perus (ECP) e as astrovirose têm quadro clínico agudo e severo de enterite, semelhante às rotavirose em perus. A patogenia nestas é semelhante e reside em efeitos sobre os enterócitos absorptivos apicais da vilosidade do intestino delgado. Enterovírus ou enterovírus-semelhantes (enterovírus-like, ELV) foram descritos em aves jovens de criações mais intensificadas de galinhas, perus, faisões, galinhas d'Angola, perdizes, avestruzes e psitacídeos, com transmissão vertical, mortalidade embrionária e neonatal.

Para detalhes complementares sobre enterites por etiologias virais em aves, recomenda-se a leitura dos capítulos em *Diseases of Poultry* (Saif *et al.*, 2003) de J. Rosenberger (Reovírus Infections), R. Jones (Other Reovírus Infections), J. Guy (Turkey Coronavirus Enteritis), M.S. McNulty (Rotavírus Infections) e D.L. Reynolds e S.L. Schultz-Cherry (Astrovírus Infections), M. S. McNulty and James S. Guy (Avian Enterovíruslike Viruses) e A. Ali and D. L. Reynolds (Turkey Torovírus Infection).

## Reovirose

As reovirose e rotavirose são infecções por vírus dos gêneros Orthoreovírus e Rotavírus, respectivamente, ambos gêneros da família Reoviridae, na qual estão incluídos muitos vírus que ocorrem nos reinos PLANTAE e ANIMALIA. O nome reovírus refere-se a REO - respiratory enteric orphan - agente "órfão" - originalmente sem patologia definida - dos sistemas respiratório e entérico. Em Orthoreovírus, estão os Orthoreovírus aviários (avian orthoreovírus) e os Orthoreovírus de mamíferos. Outros gêneros desta família são Aquareovírus e Seadornavírus em Osteichthyes (peixes ósseos), Coltireovírus vírus da febre do carrapato do Colorado, Cypovírus e Idnoreovírus (poliedrose) da ordem Hymenoptera (Classe Insecta; vespas, abelhas, formigas), Fijivírus, Oryzareovírus e Phytoreovírus em plantas e Orbivírus (língua azul). Entre as doenças causadas por vírus da família Reoviridae em aves industriais, com reprodução experimental consistente, estão a artrite-tenosinovite viral e enterites virais (síndrome da má-absorção), por

Orthoreovirus aviários e enterites virais por Rotavirus. Os vírions consistem de duplo capsídeo arredondado, um cerne e o complexo da nucleoproteína (NP). Reoviridae não tem envelope, são icosaédricos, com diâmetro aproximado de 80 a 82nm (concha externa) e 60 a 62nm (concha interna). Dentro da célula, durante a montagem, os vírions podem ter envelope. A infecção inicial pode ocorrer por várias partículas de vírus oclusas e protegidas por proteína seqüestrante. O capsídeo é formado por concha dupla, sendo que a camada externa, que possui projeções nos 12 vértices, pode ser perdida nas preparações. O genoma é constituído de RNA (23.700 nucleotídeos) de dupla fita dividido em 10 segmentos, de 1 a 3kb cada, envolvidos por proteína, formando a NP. São vírus resistentes à grande variedade de condições físicas e químicas. São resistentes ao calor de 60° por 8 a 10 horas e à conservação a +4°C ou -20°C por mais de três anos, resistem ao pH 3,0 e temperatura de 56°C por 30 minutos. A ausência de lipossolubilidade permite resistência ao éter. Os reovirus são também resistentes ao Lysol a 2% (fenol 40-55%, cresol 3%, água qsp) e à formalina a 3%. São sensíveis ao etanol 70°GL e ao iodo orgânico 0,5%. Orthoreovirus aviários semipurificados tratados a 604°C por 5 horas mantêm nível de infecção residual. Cloreto de magnésio tem efeito protetor contra a inativação térmica. No ambiente de criação, nas fezes secas os *Reovirus* são protegidos da inativação, inativação que ocorre apenas sob teor de umidade e é eficiente na compostagem. Maiores detalhes sobre as características de Reoviridae podem ser encontrados à página <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>, do Comitê Internacional para a Taxonomia de Vírus (International Committee on Taxonomy of Viruses-ICTV) e Fields Virology (Knipe *et al.*, 2001). Há diferenças antigênicas entre os *Reovirus* aviários, que permitem a classificação de vários sorotipos, embora estes compartilhem antígenos comuns. Na literatura há citações da classificação dos isolados de campo em 5 sorotipos (estirpes do Japão), quatro sorotipos nos EUA e pelo menos 11 sorotipos nos EUA e Japão. Os métodos genômicos permitem a classificação de 53 genótipos de Orthoreovirus aviários ([Lista 2](#)), por análise de microsatelites do RNA - simple sequence repeats SSR.

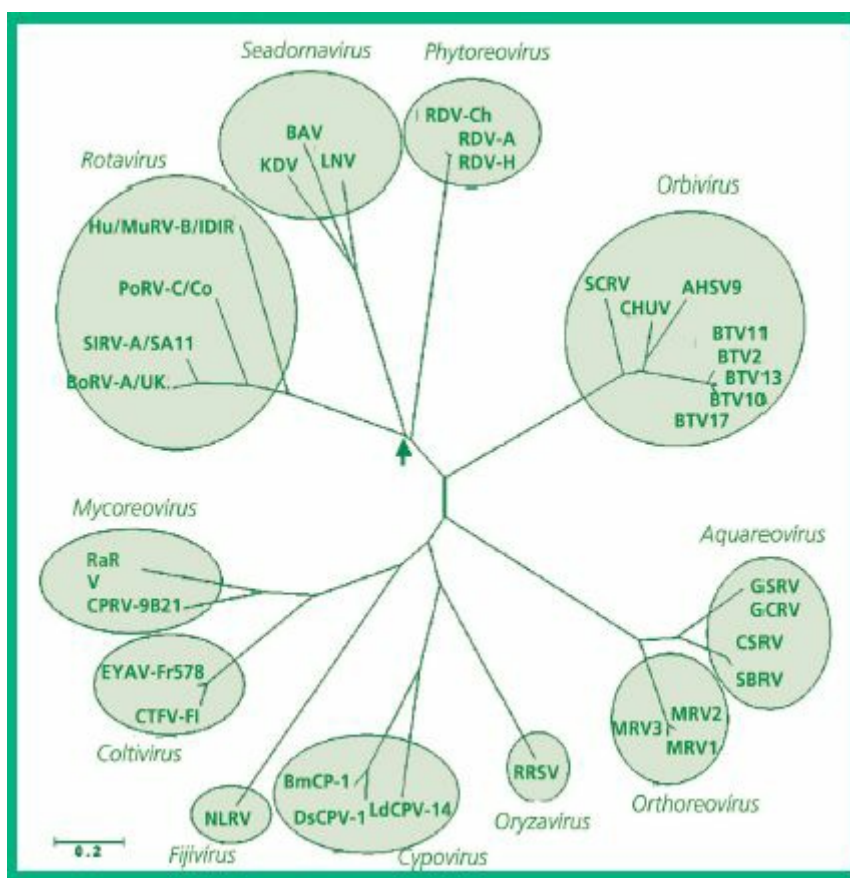
**Lista 2** - Estirpes de reovirus aviários pela análise dos microssatélites.

**Avianorthoreovirus aviários**

Avian reovirus strain S1133  
Avian reovirus strain 1733  
Muscovy duck reovirus (pato)  
Avian reovirus strain 176  
Avian reovirus strain 138  
Avianorthoreovirus aviários strain 601G  
Avianorthoreovirus aviários strain 916  
Avian reovirus GEI11 97M  
Avian reovirus GEL02 96U  
Avian reovirus GEL04 97T  
Avian reovirus GEL07 97M  
Avian reovirus GEL08 97M  
Avian reovirus GEL14 98T  
Avian reovirus GEL15 00M  
Avian reovirus NLA07 96M  
Avian reovirus NLA08 96M  
Avian reovirus NLA10 96M  
Avian reovirus NLA16 96U  
Avian reovirus NLA17 96U  
Avian reovirus NLA18 97M  
Avian reovirus NLI01 80M  
Avian reovirus NLI19 97M  
Avian reovirus NLI20 98M  
Avian reovirus NLA09 96M  
Avian reovirus NLA11 96M  
Avian reovirus NLA14a96T  
Avian reovirus NLA14b96T  
Avian reovirus NLI03 93T  
Avian reovirus NLI21 98H  
Avian reovirus GEI09 97M  
Avian reovirus GEI10 97M  
Avian reovirus GEL01 96T  
Avian reovirus GEL03 97T  
Avian reovirus GEL05 97M  
Avian reovirus GEL06 97M  
Avian reovirus GEL12 98M  
Avian reovirus GEL13a98M  
Avian reovirus GEL13b98M  
Avian reovirus NLA13 96T  
Avian reovirus NLI02 98M  
Avian reovirus NLI12 96M  
Goose reovirus (ganso)  
Avianorthoreovirus aviários strain 1017-1  
Avianorthoreovirus aviários strain 2408  
Avianorthoreovirus aviários strain 601SI  
Avianorthoreovirus aviários strain 919  
Avianorthoreovirus aviários strain OS161  
Avianorthoreovirus aviários strain R2/TW  
Avianorthoreovirus aviários strain T6  
Avian reovirus 99G  
Avian reovirus ARV17  
Duck reovirus strain DRV044  
Duck reovirus strain DRF

Fonte: [http://bioinformatics.pcbasc.la.trobe.edu.au/cgi-bin/ssr\\_taxonomy.cgi?tax\\_id=38170](http://bioinformatics.pcbasc.la.trobe.edu.au/cgi-bin/ssr_taxonomy.cgi?tax_id=38170) Acesso em 07/05/2007.

Os Orthoreovirus aviários estão mais próximos geneticamente dos Aquareovirus e distantes de Rotavirus e Orbivirus (**Figura 4**). Em Orthoreovirus estão os representantes da classe AVES, incluindo ordens Galliformes e Anseriformes, além de vírus de mamíferos (MRV). Na **Lista 3** são apresentados os sorotipos de reovirus aviários e suas estirpes representativas.



**Figura 4** - Árvore filogenética de Reoviridae. Fonte: [www.cdc.gov/Ncidod/eid/vol11no11/05-0868.G5.htm](http://www.cdc.gov/Ncidod/eid/vol11no11/05-0868.G5.htm).

**Lista 3** - Sorotipos, estirpes e isolados protótipos de reovirus na classe Aves (Avian orthoreovirus) de acordo com o ICTV - Comitê Internacional para a Taxonomia de Vírus.

Avian reovirus 1 (Uchida)  
 Avian reovirus 2 (TS-17)  
 Avian reovirus 3 (TS-142)  
 Avian reovirus 4 (CS-108)  
 Avian reovirus 5 (OS-161)  
 Avian reovirus 6 (R24)  
 Avian reovirus 7 (R25)  
 Avian reovirus 8 (Fahey-Crawley)  
 Avian reovirus 9 (59)  
 Avian reovirus estirpe Somerville virus 4

Fonte: ICTVdB Management (2006). 00.060.0.01.002. Avianorthoreovirus aviários. In: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/> Acesso em 02/05/2007.

Em aves industriais, para o controle de qualidade sanitária e biossegurança dos plantéis, preocupa-se com a possibilidade da contaminação via aplicação de vacinas vivas contaminadas. Os *Reovirus* aviários podem ser introduzidos em lotes por vacinas produzidas em embriões de galinhas portadoras de Orthoreovirus. Lotes SPF infectados podem inicialmente não expressar quadro clínico e haver transmissão vertical para os embriões.

A proteína FAST (fusion associated small transmembrane protein: pequena proteína transmembrana associada à fusão), da superfície dos Orthoreovirus aviários é associada à fusão com a membrana celular e pesquisada para a entrega (delivery) de terapia intracelular. As proteínas de reovirus, orbivirus e rotavirus estão apresentadas à **Tabela 1**.

# Importância econômica e em saúde de aves e humana

As doenças por *Reovírus* aviário mais reconhecidas são a artrite-tenosinovite viral (AV) e a síndrome de má absorção (SMA). Entretanto, a grande maioria dos isolados e estirpes da galinha e peru não são patogênicas para estas espécies, embora se considere que haja impacto negativo no desempenho produtivo. Os reovirus aviários estão disseminados e podem estar presentes no sistema digestório e respiratório de aves industriais *Gallus* e *Meleagris* saudáveis. As funções respiratória e, especialmente, intestinais, podem estar comprometidas e haver redução da viabilidade econômica, aumento da mortalidade e da conversão alimentar (mais ração necessária para produção de carne ou ovo). Além da artrite, enterite e doença respiratória, há também relato de *Reovírus* aviário em doença do sistema imune. O perfil de qualidade da criação, o status de saúde e do sistema imune, a estirpe e a dose do vírus são determinantes do curso da doença. Até o momento não há importância comprovada dos *Reovírus* e rotavirus aviários para a saúde pública.

## Doenças por Orthoreovirus aviários

### Artrite viral e síndrome da má-absorção

Em 1954, Fahey e Crawley, nos Estados Unidos, isolaram vírus de doença respiratória, cuja inoculação experimental resultou em doença respiratória, necrose hepática e artrite-tenosinovite. A ocorrência natural de tenosinovite por agente resistente à clortetraciclina e furazolidona e diferente de *Mycoplasma gallisepticum* e *M. synoviae* foi descrita por Olson e colaboradores em 1957, que Walker e colaboradores (1972) caracterizaram como um reovirus.

Dalton e Henry (1967) descreveram o aspecto diferente no envolvimento do tendão do gastrocnêmio na tenosinovite viral em comparação com a infecção articular por *Mycoplasma*.

### Etiologia

A etiologia de AV foi descrita em 1972 por Walker e colaboradores. Os Orthoreovirus aviários da AV ou SMA são típicos do gênero e todas as propriedades físico-químicas são aplicáveis ([Tabela 2](#)). São descritos 10 sorotipos e estirpes de Orthoreovirus aviários ([Lista 2](#)). O genoma de Orthoreovirus aviários é RNA de dupla fita (dsRNA), com 10 segmentos, classificados como grandes (L), médios (M) e pequenos (S), que codificam, respectivamente, proteínas de 3 categorias,  $\lambda$  ("lambda"),  $\mu$  ("mu") e  $\sigma$  ("sigma") - [Tabela 1](#) e [Figura 5](#). O segmento S1 do RNA é tricistrônico, diferencia Orthoreovirus aviários de aves e mamíferos e codifica uma proteína estrutural e duas não-estruturais (Bodelon *et al.*, 2001). A proteína sigma-C está envolvida na determinação de sorotipo (Liu e Giambrone, 1997). Orthoreovirus aviários produzem oncólise in vitro mediada por uma quinase de proteína de 65kDa inibidora da tradução, ativada por dsRNA (Strong *et al.*, 1998). Para a transmissão, tropismo celular, susceptibilidade ao pH ácido e detergente (vide [Tabela 2](#)). As estirpes isoladas de galinhas parecem semelhantes em sorologia às de perus. As análises por eletroforese dos RNA genômicos de estirpes de Orthoreovirus aviários de diferentes sorotipos, indicaram que há grande polimorfismo migratório do RNA entre as estirpes. Não há correlação entre sorotipo e padrão de migração de qualquer um dos 10 segmentos do RNA, nem entre genótipo e patótipo. Há menor variação eletroforética entre estirpes de uma mesma região geográfica e alguns segmentos do RNA mantêm padrão de migração invariável entre as estirpes (Gouvea e Schnitzer, 1982). No ambiente de criação, os Orthoreovirus aviários

resistem por mais tempo no cepilho de madeira (maravalha), nas penas e na ração, pelo menos 10 dias, com resistência menor sobre madeira (dois dias) e sobre papel e algodão (quatro dias). A viabilidade dos Orthoreovirus aviários é geralmente mantida por mais tempo nas fezes. A presença de material orgânico aumenta a viabilidade do vírus na casca dos ovos. Na água de bebida podem permanecer viáveis por pelo menos 10 semanas, com pouca perda de título (Savage e Jones, 2003). Outros vírus descritos em processos de enterite em aves industriais (frangos e galinhas) e outras espécies de criação intensificada serão abordados brevemente ao final deste capítulo.

**Tabela 1** - Reoviridae: Proteínas de Reovirus, Orbivirus e Rotavirus.

<b>Gênero</b>	<b>Capsídeoexterno</b>	
<b>Cerne</b>	<b>Não-estruturais</b>	
Reovirus 2	s-3, m-1c, s-1 (HA) m-NS, s-NS	l-1, s-2, l-2, l-3, m-
Orbivirus VP6	VP2 (HA), VP5 NS1, NS2, NS3	VP3, VP7, VP1, VP4,
Rotavirus NSP2, NSP3, NSP4, NSP5, NSP5A	VP4 (HA), VP7	VP2, VP6, VP1, VP3 NSP1,

**Tabela 2** - Propriedades de Orbiviruse Reovirus.

**Propriedades  
Orbivirus**

**Reovirus**

Sensibilidade a pH ácido  
Sensível

Resistente

Sensibilidade a detergente  
parcial

Resistente

Sensibilidade

Tropismo tecidual  
epiteliais

Intestinos

Céls. hematopoiéticas e

Transmissão:  
Arthropoda

Fecal-oral

Vetor

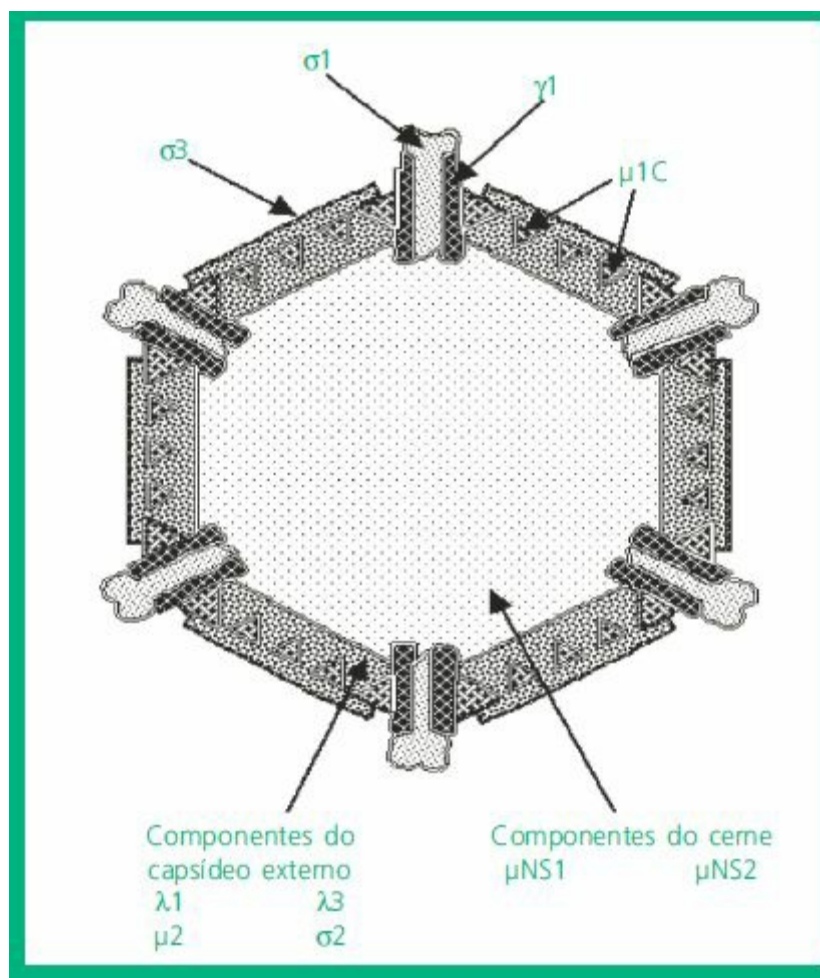
### Determinantes de virulência

A patogenia não parece relacionada às características sorológicas de Orthoreovirus aviários (Kibenge e Dhillon, 1986). A resistência à tripsina é um determinante de virulência (al-Afaleq *et al.*, 1997), pois permite a manutenção da infecciosidade do *Reovirus* após a passagem pelo sistema gastrointestinal. A proteína do capsídeo micro1C, codificada pelo gene M2, pode determinar a resistência à quimiotripsina nas estirpes resistentes (Rubin e Fields, 1980). A proteína não-estrutural sigma-1-pequena ( $\sigma 1s$ ) é determinante de apoptose no coração e músculo. O gene S1 é bicistrônico e codifica a proteína de adsorção sigma-1 e a não-estrutural  $\sigma 1s$  (Hoyt *et al.*, 2005). A estirpe S1133 vacinal administrada via oral imprime resposta imune, embora seja sensível à tripsina, propriedade típica de estirpes não patogênicas. Os Orthoreovirus aviários produzem sincícios celulares in vitro, por fusão celular intermediada pela proteína FAST e, esta propriedade determina maior efeito citopatogênico e maior liberação de vírus.

### Hospedeiros naturais e experimentais

Integrantes do gênero Orthoreovirus estão descritos em muitas espécies hospedeiras das classes Aves e Mammalia, inclusive humanos, com as estirpes (grande maioria) não associadas à patologia. Orthoreovirus aviários, entretanto, são apenas importantes para a classe AVES. Para as espécies de criações mais intensificadas, como a galinha, peru e pato, as patologias articular e intestinal são consistentemente reproduzidas em infecções experimentais. Também foram encontrados Orthoreovirus aviários em pato (*Anas platyrhynchos*) pombo, ganso, perdiz americana (*Scolopax minor*), codorna americana (*Colinus virginianus*) com quadro respiratório e psitacídeos (*Psittacus erithacus*).

Os *Orthoreovirus* aviários estão disseminados na avicultura industrial mundial, especialmente favorecidos pela transmissão vertical, da matriz infectada para a progênie e o intenso mercado internacional de aves. As granjas de reprodução com falhas em biossegurança permitem a infecção das matrizes, que se tornam transmissoras e suas progênes, disseminadoras horizontais, para tão distante quanto o comércio permitir. Os *Orthoreovirus* aviários foram descritos, além de galinhas, perus e patos, em gansos, pombos, perdiz e psitacídeos. No Brasil, reovirus e picobirnavirus, que não variaram no perfil de migração eletroforética, foram detectados por eletroforese em fezes de frangos de corte de até um mês de idade com diarreia, juntamente com rotavírus de nove diferentes eletroferotipos. Reovirus foram detectados em 37,8% e rotavírus em 13,5% das fezes de frangos com diarreia. Rotavírus foram também detectados (1,5%), mas não reovirus, de frangos saudáveis. Picobirnavirus foram detectados em fezes diarréicas e pastosas de frangos com sete semanas de idade. (Alfieri *et al.*, 1989a; 1989b; Tamehiro *et al.*, 2003). Evidência de infecção em avestruzes foi determinada pela pesquisa de anticorpos (19% reagentes) para *Orthoreovirus* aviários por ELISA no Zimbábue (Cadman *et al.*, 1994). Em cordornas, reovirus foram isolados de casos de alta mortalidade com doença respiratória e letargia (Magee *et al.*, 1993).



**Figura 5** - Estrutura protéica de Orthoreovirus aviários. Tabelas e ilustração adaptadas de <http://www.mcb.uct.ac.za/cann/335/Diarrhoea.html>; Acesso em 14/05/2007.

## Transmissão

Os Orthoreovirus aviários são transmitidos via vertical e horizontal. Em reprodutores infectados,



a transmissão vertical parece diminuir com o avanço da idade das matrizes, à medida que uma sólida resposta imune é estabelecida nestas. Há, entretanto, variações entre as estirpes quanto a habilidade de transmissão. Secreções respiratórias (aerossol, expectoração) e intestinais (fezes) podem conter vírus e permitir transmissão horizontal, sendo a principal via de transmissão entre aves de aspecto saudável além da fecal-oral. A localização articular (Marquart *et al.*, 1983; Jones e Nwajei, 1985) e nas tonsilas cecais da infecção, em aves infectadas quando jovens, pode permitir um estado de portador por meses. Na ave portadora, a partir das articulações ou tonsilas cecais, dependendo do estado imune da ave, o vírus pode migrar para outros tecidos, sendo especialmente importante a infecção intestinal, que poderá causar transtornos digestórios e de desempenho e, permitir transmissão horizontal fecal-oral.

## Patogenia, lesões e sinais

Há variação entre isolados e estirpes quanto à capacidade de produzir doença e a susceptibilidade diminui com a idade. A ave jovem pode desenvolver o estado de portador articular ou nas tonsilas cecais (Jones e Nwajei, 1985). As aves mais jovens tendem à infecção mais disseminada e severa. Infecção experimental com Orthoreovirus aviários mais patogênicos resulta em infecção generalizada que atinge o timo, bolsa cloacal, baço, fígado e tendão do gastrocnêmio (Roessler e Rosenberger, 1989). Em galinhas, perus e patos (*Anas platyrhynchos*), a doença pode ser sistêmica, com prostração, doença respiratória, diarreia, com oportunismo infeccioso, por exemplo, por *E. coli*, ou local na articulação - AV, ou ainda em processo crônico de nanismo infeccioso - SMA. As lesões articulares têm severidade aumentada nas aves pesadas, devido ao maior trabalho ou esforço articular. As aves doentes têm dificuldade locomotora, andar claudicante e recusam caminhar, em consequência do edema e dor articular. O processo inflamatório articular (edema), pode impedir o trabalho dos tendões, que travam e não deslizam pelas bainhas tendinosas. O travamento dos tendões, já fragilizados pela infiltração leucocitária, linfocitária e por edema, pode resultar em sua ruptura durante o esforço para caminhar. A ruptura do tendão do gastrocnêmio pode ocorrer com grandes hemorragias articulares, em machos de linhagens pesadas (reprodutores de frangos de corte). O processo crônico resulta em aderências de tendões e bainhas dos pés e dedos. Os reovirus estão envolvidos em nanismo infeccioso, enterite, doença crônica respiratória, miocardite, pericardite, hidropericárdio, hepatite, atrofia bursal e do timo e osteoporose. As aves mais jovens são mais sensíveis, especialmente para as alterações intestinais. Os jovens infectados via vertical podem apresentar nanismo infeccioso, com retardo no crescimento, desuniformidade (**Figuras 6 e 7**), mortalidade e refugagem aumentadas. Nos jovens, a doença no sistema digestório pode envolver o proventrículo, intestino delgado e pâncreas, com grande repercussão para o crescimento e desempenho. A patogenicidade de determinadas doenças pode ser agravada ou agravar as reovirose, por exemplo, as coccidioses por *Eimeria* em galinhas. Estirpes de Orthoreovirus aviários de perus podem infectar e causar doença em galinhas. A síndrome do trânsito rápido, em que há baixa digestibilidade e aparecimento de ração não digerida nas fezes, é outra denominação para o nanismo infeccioso.



**Figuras 6 e 7** - Frangos de corte de mesma idade (35 dias), com nanismo infeccioso. Notar a desuniformidade no desenvolvimento das aves.

## Lesões macro e microscópicas

### Forma aguda de Artrite e tenosinovite

Ocorre especialmente em reprodutores de corte, mais em machos, entre 12-16 semanas de idade. Há sinal de dor, aumento do volume articular, congestão e hemorragias. Imobilização por edema ou ruptura do tendão do gastrocnêmio, flexor digital ou extensor do metatarso. O exame interno da articulação revela erosão da cartilagem articular e hemorragias articulares/sinoviais.

### Forma crônica de artrite e tenosinovite

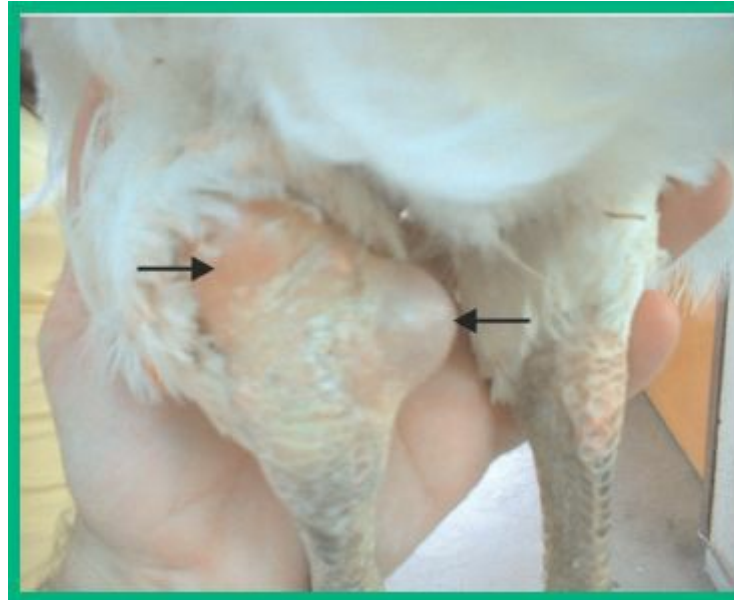
Há fusão das bainhas tendinosas, imobilidade, claudicação e pode haver deformação articular.

## Síndrome da má-absorção

Mais em jovens. Ao movimentar podem apresentar claudicação, por osteoporose e/ou artrite-sinovite-tenosinovite. Pode haver distensão do proventrículo com hemorragias na serosa e enterite catarral. Há degeneração das vilosidades intestinais, degeneração e atrofia do pâncreas e atrofia da bursa cloacal (de Fabricius). Em outras alterações patológicas e doenças pode haver isolamento de reovirus em infecção oportunista ou co-infecção: pericardite, miocardite, hidropericárdio, hepatite, atrofia da bursa cloacal e timo, doença respiratória crônica, coccidioses

(*E. tenella*, *E. maxima*), colibacilose, doença de Newcastle, anemia das galinhas (CAV) e doença infecciosa bursal (IBDV).

Co-infecções de Orthoreovirus aviários com os vírus IBDV e CAV são determinantes de maior patogenicidade que as infecções isoladas de cada um destes, especialmente mais severa para o sistema imune. Canário, pombo, cobaio, rato, camundongo, hamster e coelho foram refratários à infecção experimental. Entretanto, para algumas estirpes de Orthoreovirus aviários, camundongos inoculados via oral desenvolveram lesões hepáticas e por via intracerebral, incoordenação e nanismo infeccioso.



**Figura 8** - Artrite unilateral em frango refugo. Notar grande aumento junto ao tendão de aquiles (seta), na articulação do tibiotarso, com infecção bacteriana secundária (cabeça de seta).

## Diagnóstico

As alterações clínico-patológicas são sugestivas, em especial se ocorrem no tipo de ave mais susceptível, machos reprodutores de linhagens pesadas (frangos de corte). As artrites podem ser co-infecções com diferentes etiologias e infecções únicas podem ser de difícil distinção. Entre as etiologias que podem causar doença articular semelhante ou estar em co-infecção com Orthoreovirus, estão *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma synoviae* e *M. gallisepticum*. As tenosinovites por micoplasmas podem ser mais crônicas e acompanhadas de doença sistêmica com perda de produtividade, infecção respiratória (aerossaculite) e histórico de baixa qualidade de origem (transmissão vertical). Artrites por *E. coli* podem ser associadas à história de problemas prévios com *E. coli* em outros órgãos ou sistemas, tipicamente de origem respiratória (aerossaculite) ou de infecção peri-natal (onfalite). As infecções articulares por *Staphylococcus* iniciam-se geralmente no coxim plantar, em erosões e úlceras da pele plantar e progridem ascendentes, para as articulações digitais, do tarso e tibiotarso.

Os Orthoreovirus aviários são replicáveis em embriões de galinhas SPF ou em cultivos primários de fígado derivados destes. A amostragem para virologia é mais eficiente em suabes umedecidos com meio de cultura (Savage e Jones, 2003). A infecção pode ser demonstrada *in situ*, por revelação de antígenos ou genoma de Orthoreovirus aviários em cortes histológicos das bainhas tendinosas e tendões ou na membrana cório-alantóide de embriões inoculados (sete dias pós

infecção), por imunofluorescência ou imunistoquímica, com IgG anti-orthoreovirus marcada por isotiocianato de fluoresceína, peroxidase, fosfatase alcalina ou outra enzima associada ao anticorpo, ou pela hibridização de sondas marcadas complementares ao RNA viral. A identificação do isolado pode ser conseguida com a prova de precipitação em ágar (imunodifusão ou gel-precipitação) frente a anticorpo específico para Orthoreovirus aviário. O teste de imunodifusão pode ser também empregado para a detecção de anticorpos nos soros das aves suspeitas, usando antígeno de referência, no diagnóstico da infecção natural, da resposta vacinal ou da imunidade passiva. O antígeno para imunodifusão pode ser preparado em membrana cório-alantóide de embriões SPF. Duas proteínas recombinantes sigma-C (determinate de sorotipo) de estirpes de Orthoreovirus aviários semelhantes à 1733, foram avaliadas como antígenos em ELISA, sendo que aves vacinadas com S1133 expressaram baixos títulos de anticorpos específicos.

A patogenicidade dos isolados pode ser demonstrada pela inoculação de pintos SPF via coxim plantar, com o surgimento, para estirpes patogênicas, de inflamação plantar três dias após a inoculação. Para a caracterização de isolados e estirpes, tem sido empregada a análise de segmentos do RNA viral. A eletroforese (**Figura 9**) em gel de poliacrilamida (PAGE) pode ser empregada para a visualização e caracterização de reovirus, e picobirnavirus, vírus RNA de dupla fita de dois ou três segmentos. A detecção de segmento(s) do RNA de Orthoreovirus aviários nos tecidos infectados por transcrição reversa e reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR - reverse transcriptase polymerase chain reaction) é método molecular de diagnóstico, pela rapidez e sensibilidade, pode ser universal, para detecção do grupo de Orthoreovirus aviários ou utilizando oligonucleotídeos genótipo-específicos. A caracterização subsequente do produto de PCR pode ser conseguida por seqüenciamento ou com enzimas de restrição.

### Estratégias de prevenção e controle

A transmissão vertical de Orthoreoviridae impõe aos reprodutores das linhagens comerciais a necessidade do status de livre, como critério de qualidade para a geração de progênie com desempenho adequado, especialmente para frangos de corte. As aves industriais, principalmente das linhagens de corte, são mais sensíveis nos primeiros dias após a eclosão, período em que a biosseguridade deve ser estrita. Tendo em vista a transmissão vertical de orthoreovirus aviários, a infecção em jovens pode estar relacionada à baixa qualidade sanitária dos reprodutores. A aquisição de plantéis livres e a criação em ambiente com biosseguridade são as estratégias ideais de controle das orthoreoviroses. Entre os benefícios da vacinação das matrizes antes da maturidade sexual estão a ausência de transmissão vertical e proteção passiva precoce da progênie, o que é uma vantagem econômica significativa (Dobson e Glisson, 1992).

Estirpes vacinais derivadas da estirpe de artrite viral S1133 aplicadas em reprodutoras também resultam em transmissão vertical do vírus vacinal, com mortalidade embrionária e da progênie, com tenosinovite, após a eclosão, além de causar diarreia nas fêmeas, perda de qualidade da casca dos ovos e de eclodibilidade.

A transmissão vertical e a alta susceptibilidade dos jovens exigem programa de vacinação de matrizes com a proteção antes da plena maturidade sexual, para que não haja transmissão vertical durante a postura e para a proteção passiva da progênie. Anticorpos maternos transferidos de matrizes vacinadas são protetores contra o desafio horizontal ou ambiental. As vacinas

empregadas na avicultura industrial visam especialmente a proteção contra o nanismo infeccioso e artrite viral e, há estirpes recomendadas para a proteção específica contra o nanismo infeccioso (SMA) ou AV. Estas estirpes podem pertencer ao mesmo sorotipo. Vacinas derivadas da estirpe S1133, destinadas tipicamente para a prevenção de artrite viral, foram primeiramente descritas por Van Der Heide e Page (1980) e Van Der Heide *et al.* (1983) e, podem exercer alguma proteção contra estirpes de enterites do mesmo sorotipo. As estirpes CO8 (proventriculite/enterite), S1133 (artrite), 2408 (artrite), 1733 (artrite) e UMI-203 (relacionado ao S1133), utilizadas em vacinas comerciais descritas nos Estados Unidos, são integrantes do mesmo sorotipo (Giambrone e Solano, 1988). Uma vacina comercial contendo vírus associado ao anticorpo foi comparada à vacina convencional de vírus atenuado, para aplicação em embriões com 18 dias de incubação, in ovo (0,1ml/dose). Para a aplicação em embriões (frangos de corte SPF experimentais), foi desenvolvida uma vacina associada a anticorpo (Guo *et al.*, 2003), que, embora não avaliada em associação com vacinas contra a doença de Marek, resultou em menor mortalidade pós-eclosão (3,7%) e proteção de pelo menos 70%, se comparada à vacina atenuada convencional derivada de S1133 (17% de mortalidade embrionária). Há interferência negativa do Orthoreovirus aviário S1133 sobre a infecção vaccinal de HVT (herpesvirus of turkeys) contra a doença de Marek, quando aplicados juntos via subcutânea no 1º dia de vida (Rosenberger, 1983). Algumas vacinas comerciais contra a artrite viral são recomendadas para a aplicação desde o primeiro dia de vida por spray ou na água de bebida para matrizes e, há melhor desempenho da resposta imune com programas de vacinação que estabelecem primovacinação com estirpes vivas atenuadas ou apatogênicas seguidas da aplicação de vacina inativada em emulsão oleosa (Wood *et al.*, 1986).

As progenies de matrizes vacinadas podem manter localização articular (estado de portador) do vírus patogênico homólogo ao vacinal usado para desafio (Jones e Nwajei, 1985). A transmissão vertical ocorre em matrizes portadoras (Menendez *et al.*, 1975; Van der Heide e Kalbac, 1975). Matrizes desafiadas via oral, nasal ou traqueal aos 15 meses (60 semanas) de idade transmitem vírus para a progênie (1,7%) durante três dias iniciando-se aos 17 após o desafio. O vírus está presente nos embriões e cultivos celulares derivados destes (Menendez *et al.*, 1975).

As vacinas derivadas da estirpe S1133 causam transtornos intestinais nas reprodutoras, mortalidade embrionária e doença nos jovens, se aplicadas próximo ou durante a postura.

A proteína sigma-C recombinante, expressa em *Saccharomyces cerevisiae* foi avaliada em condições experimentais na indução de resposta imune em galinhas SPF. As doses de 125mg ou 250mg induziram proteção de 64% ou 91%, respectivamente. A vacina comercial com sigma-C "VaVac" aplicada em uma ou duas doses proporcionou proteção de 82% (Wu *et al.*, 2005).

Vacinas desenvolvidas com estirpes autógenas ou autóctones podem ser uma alternativa para regiões com infecção por estirpes variantes, não disponíveis em vacinas comerciais (Hemzani *et al.*, 1996)

## Rotaviroses

### Introdução

As rotaviroses em aves são associadas a quadros de diarreia, como em mamíferos. Por analogia à importância em humanos e outros mamíferos, nos quais as rotaviroses têm grande importância, as rotaviroses em aves têm significado na avicultura comercial e impacto econômico de grande relevância.

As infecções inter-espécies não tem significado epidemiológico, sendo as estirpes restritas às espécies de origem. Apesar desta característica predominante, rotavirus de peru e faisão podem infectar galinha e um rotavirus originário de pombo foi descrito como etiologia de diarreia em bezerros (Brüssow *et al.*, 1992). Os rotavirus de aves não têm, até o momento, importância em saúde pública. Entretanto, em mamíferos há o aspecto zoonótico, sendo rotavirus exclusivos de bovinos e suínos encontrados em crianças diarreicas no Brasil.

## Histórico

As diarreias e enterites subclínicas estão entre os principais fatores de redução de produtividade em criações intensificadas. Várias etiologias têm efeitos sobre a saúde intestinal, diretamente, por infecção de enterócitos, outras células intestinais ou órgãos anexos, ou, ainda, indiretamente, por alteração na estrutura (por exemplo, circulatória) tecidual, ou por ação à distância, por efeito remoto mediado por hormônios, toxinas ou metabólitos. Em muitos capítulos deste livro, em que se descrevem as doenças em outros sistemas, por exemplo, respiratório (doença de Newcastle, bronquite infecciosa), excretor (bronquite infecciosa, doença infecciosa bursal) e imune (doença infecciosa bursal), há a descrição de efeitos intestinais. As etiologias, com efeito direto e de grande significância, como enterites bacterianas (*Salmonella*), parasitárias (coccidioses, outras protozooses e helmintoses) e tóxicas (toxinas de fungos, plantas, venenos), são tratadas, por sua importância, em capítulos próprios.

As rotaviroses foram descritas relativamente há pouco tempo em aves. Bergelang *et al.* (1977) descreveram a presença de partículas semelhantes a rotavirus em peruzinhos com diarreia aquosa e mortalidade aumentada. Rotavirus são atualmente considerados entre os principais agentes causadores de diarreias em criações de aves sujeitas à transmissão fecal-oral (no chão). Em criações de aves livres de rotavirus (não há transmissão vertical), mantidas com biossegurança, boas práticas de manejo (recomendações dos manuais de produção), com qualidade de insumos (ração e água), trabalhadores treinados e motivados, as rotaviroses têm pouca importância. As medidas preventivas ideais para rotaviroses, atendem e previnem a maioria dos transtornos à saúde da criação avícola.

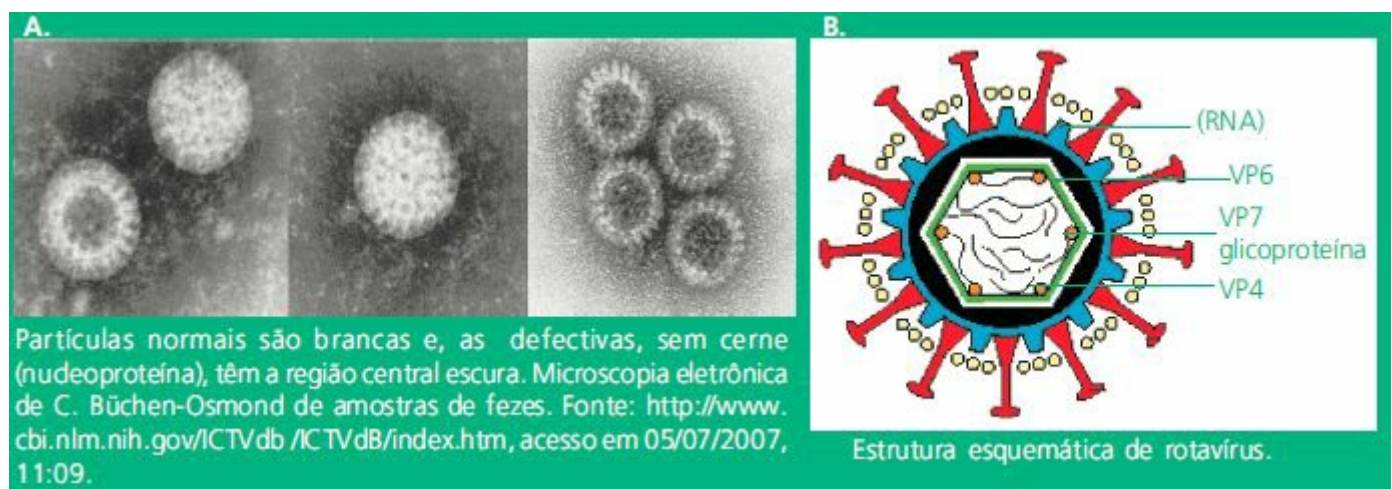
Além de ocorrer mutação em vírus de genoma RNA, a emergência de estirpes recombinantes é uma possibilidade, devido à segmentação do genoma de Reoviridae, o que eleva o risco de surgimento de estirpes que comprometam a saúde intestinal em confronto com a imunidade dos hospedeiros.

## Distribuição e ocorrência

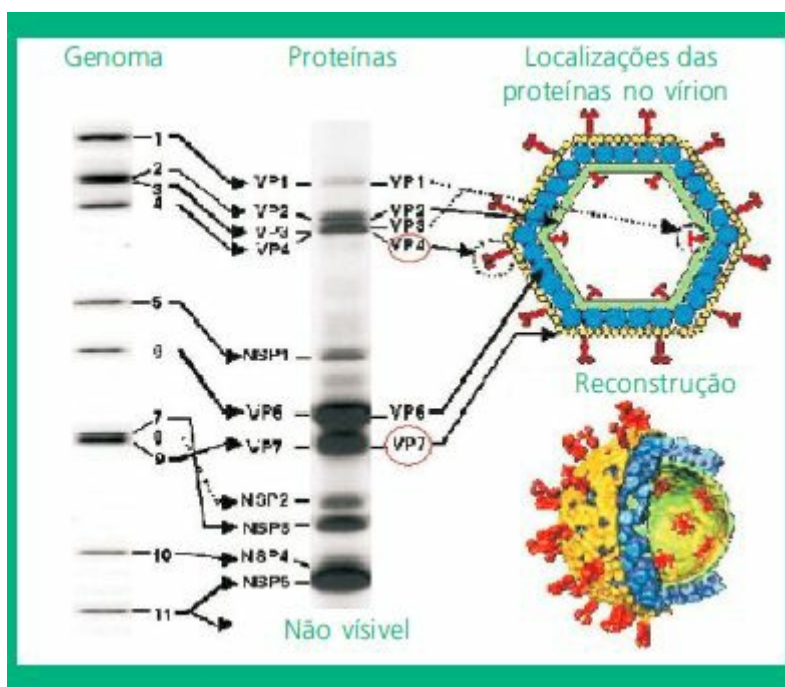
Os rotavirus podem estar disseminados em regiões do mundo com densidade avícola, inclusive no Brasil (Alfieri *et al.*, 1989b; Tamehiro *et al.*, 2003) e, apesar de estarem associados com surtos de diarreia, as infecções subclínicas são mais comuns e deprimem o desempenho produtivo.

## Etiologia

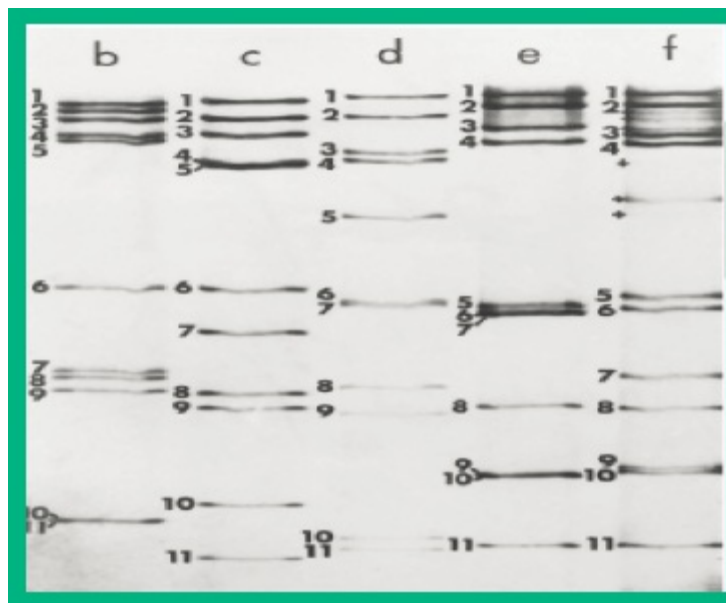
Os rotavírus são icosaédricos sem envelope e consistem de capsídeo (85%) e cerne (25%), no qual está o complexo nucleoproteína (16% do vírion). Os vírions com capsídeo de concha dupla têm 80nm de diâmetro, contêm genoma de 11 segmentos lineares de RNA de fita dupla. Vírions com capsídeo interno são rugosos, obtidos nas preparações laboratoriais, e têm 50nm de diâmetro. O cerne tem 35nm de diâmetro. A concha do capsídeo do vírion emergente têm parede dupla, sendo a camada lisa mais externa perdida nas preparações para concentração e purificação e a rugosa interna que persiste. Associadas à concha interna estão enzimas necessárias à replicação do RNA. Projeções superficiais de 4,5 a 6nm, normalmente perdidas nas preparações, estendem dos 60 vértices. O capsídeo tem 132 capsômeros com arquitetura que lembra os raios de uma roda, do latim rota (**Figura 9**). Após a montagem intracelular, ao brotar para o retículo endoplásmico liso, alguns vírions têm envelope. O genoma contém 23.700 nucleotídeos (nt). Os segmentos L1, L2 e L3, de 3800-3900nt cada, M1, M2 e M3 de 2200-2300nt cada, S1, S2, S3 e S4, de 1200-1400nt cada, estão seqüenciados. A extremidade 5' do genoma tem uma capa nucleotídica metilada do tipo m7G5ppp5'GmpNp. Cada vírion tem apenas uma cópia do genoma e cada tipo genômico (eletroferotipo) é típico para cada estirpe. O genoma codifica proteínas estruturais e não estruturais. As proteínas constituem 80-85% da massa do vírion. Lipídios estão ausentes em rotavírus. A patogênese de rotavirus parece ser determinada pelo segmento genômico 4 (Offit *et al.*, 1986). Os 10 principais polipeptídeos de uma estirpe de rotavirus de perus foram denominados VP1 (125kDa), VP2 (100kDa) e VP6 45kDa), associados ao capsídeo interno, sendo VP6 proteína estrutural única do capsídeo interno, estudadas em partículas sem o capsídeo externo. Os polipeptídeos VP3 (90kDa), VP4 (88kDa), VP5s (54-55kDa) e VP7 (37kDa glicosilado) fazem parte do capsídeo externo e os polipeptídeos glicosilados não-estruturais de 28 e 30kDa não estão integrados ao vírion. As proteínas da superfície VP4 e VP7 são determinantes antigênicos imuno-dominantes e expostos, que determinam os sorotipos (**Figuras 9A, 9B e 10**). A VP4 é clivada em VP5 (60kDa) e VP8 (28kDa), clivagem proteolítica que aumenta a infecciosidade e cultivo *in vitro* (tripsina). A NSP4 é considerada enterotoxina. O genoma constitui 16% da massa do vírion e a análise dos 11 segmentos do RNA permite a diferenciação de estirpes (**Figura 11**) de acordo com a massa molecular de cada segmento, em eletroferogrupos b, c, d, e e f.



**Figura 9** - A. Rotavirus. B. Rotavirus. Antígenos determinantes de sorotipos.



**Figura 10** - Composição dos rotavírus. Genoma e proteínas de rotavírus. Fonte: <http://bioinformatica.uab.cat/biocomputacio/treballs05-06/gpascual06/Rotavirus/images/> em 07/05/2007.



**Figura 11** - Eletroferotipos de rotavírus de acordo com o perfil de migração dos segmentos de RNA. Estão representados os rotavírus não-grupo A. Fonte: M.S. McNulty, Diseases of Poultry, 11ª Ed., 2003.

As estirpes de rotavírus aviários e de mamíferos têm, na proteína VP6, do capsídeo interno, a principal proteína do vírion (Figuras 9B e 10) uma ou duas regiões conservadas, antigenicamente relacionadas. As estirpes aviárias assim caracterizadas como relacionadas ao grupo A dos mamíferos, são denominadas de grupo A de rotavírus aviário. Variações em VP6 tem possibilitado a subtipagem de rotavírus, por exemplo em A-I. Rotavírus atípicos (rotavírus não-grupo A) não tem as regiões conservadas em VP6 e são classificados com B, C, D, E, F e G. Os rotavírus A são encontrados em mamíferos e aves. Os rotavírus B, C e E são apenas de mamíferos e D, F e G apenas em aves. Entre os rotavírus aviários, entretanto, há baixa homologia em VP6 (75%). Os rotavírus A aviários podem ser subagrupados com A-I, por semelhança com A-I de humanos. Os

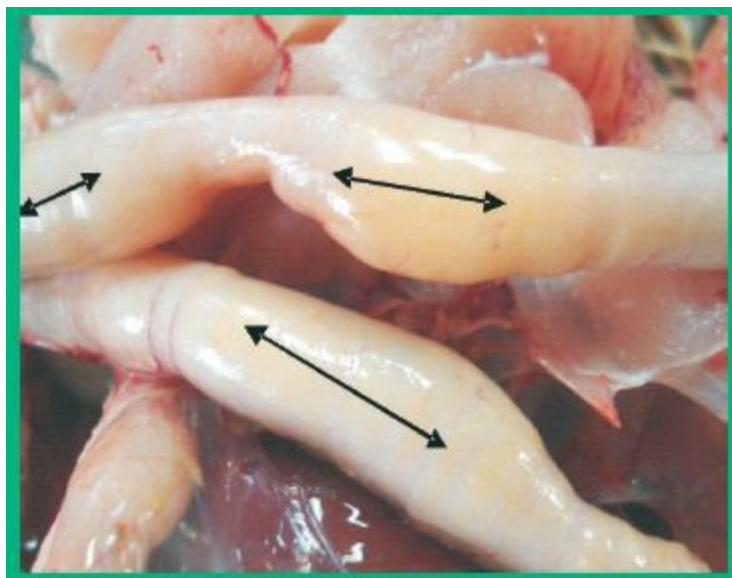


sorotipos são determinados pelas proteínas da superfície integrantes do capsídeo externo, polipeptídeo VP4 (sorotipos P) e a glicopolipeptídeo VP7 (sorotipos G) ou de seus genes codificadores. Há, em aves, pelo menos 14 sorotipos G e 11 sorotipos P, caracterizados por vírus-neutralização (VN). A caracterização por análise de produtos de PCR ou hibridização de ácido nucléico dos genes de VP4 e VP7, permite a classificação em genótipos (oligonucleotídeos VP4 ou VP7 específicos), que correlacionam positivamente com as análises por VN, podendo a genotipificação substituir a sorotipagem com vantagens. Em humanos foram identificados 9 VP4 (P) e 10 VP7 (G), diferentes de rotavírus das aves. Entretanto, o intercâmbio de genótipos/sorotipos entre mamíferos parece ocorrer, uma vez que estirpes de sorotipos exclusivos de bovinos, G6 e G10, e de suínos G5, foram encontrados em crianças brasileiras com diarreia (caráter zoonótico).

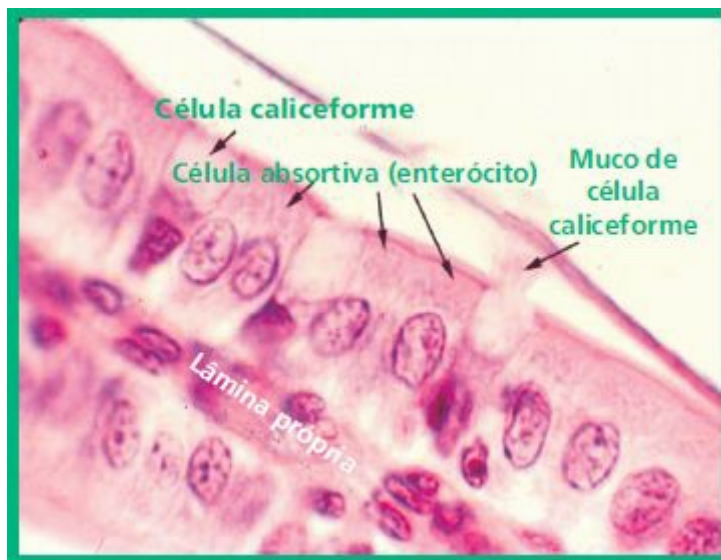
Rotavírus são resistentes a detergentes lipídicos, éter, clorofórmio, pH ácido (3,0) e calor 56°C por 30 minutos (redução de 2log10). Sobre superfícies limpas e não porosas, são sensíveis ao glutaraldeído (2%), hipoclorito de sódio (800ppm) e fenol 14,7% diluído a 1:256 (Rutala, 2005 - fonte: <http://www.unc.edu/depts/spice/dis/APIC-disinfect-Peds2005.pdf>; acesso: 05/07/2007).

### Patogenicidade

As células alvo de infecção são os enterócitos maduros de absorção, localizados nas vilosidades (apicais) do intestino delgado (**Figuras 12, 13 e 14**). A destruição das células absorptivas apicais resulta em diarreia, por não absorção de água e nutrientes e continuidade secretora das células da cripta. A redução da expressão de dissacaridases e falta de absorção de dissacarídeos reduz a disponibilidade de energia às aves.



**Figura 12** - Jejuno distendido e pálido. Notar áreas de balonamento mais pálidas (delimitadas por setas).



**Figura 13** - Enterócitos normais. <http://www.siumed.edu/> Acesso em 06/07/2007.



**Figura 14** - Enterócitos infectados.

As rotavirose são tipicamente doenças de aves jovens em crescimento, em galinhas, perus, faisões, pavões, perdizes, patos, sexualmente imaturas, principalmente, em galinhas e perus, aves com menos de seis semanas de idade. Entretanto, há evidências experimentais de que há maior excreção viral com o aumento da idade. Um surto em galinhas adultas (maior que 20 semanas de idade) foi descrito e confronta a hipótese da resistência crescente com a idade. A infecção ocorre em enterócitos absorptivos maduros do ápice das vilosidades no intestino delgado, principalmente duodeno (**Figuras 13 e 14**). A patogênese de rotavirus está associada à redução da expressão de dissacaridases (sacarase- isomaltase [SI], lactase e maltase-glucoamilase) das microvilosidades (brush borders) do intestino delgado (duodeno). Esta redução da atividade enzimática oligosacarolítica ocorre na ausência de alterações histológicas nos enterócitos.

## Patogenia e Epizootiologia

### Hospedeiros

As rotavirose têm sido descritas em galinhas, faisões, perus, pavões, perdizes, patos jovens e outras espécies de aves mantidas em confinamento e sem estratégia preventiva (biossegurança,

higiene). Em geral, os sorotipos são específicos de grupo filogenético da ave hospedeira, embora um rotavírus letal para embriões de galinhas (Galliformes) SPF foi isolado de *Agapornis* (Psittaciformes) com diarreia. Embora na maioria dos casos haja resistência crescente com a idade, há descrição de episódios, em adultos, sem esta correlação, que podem se dever a perda de imunocompetência ou, ocorrência de isolado de rotavírus variante de alta virulência.

A falta de biossegurança, somada ao estresse e concentração do confinamento e intensificação, favorecem a disseminação entre plantéis, dentro de núcleos de produção e entre granjas. Os rotavírus, os quais são de alta resistência ambiental, são excretados em altos títulos nas fezes e imediatamente transferidos via horizontal. A larva de *Alphitobius diaperinus* (coleóptero da cama) pode atuar como vetor mecânico de rotavírus.

Estudos em frangos de corte na Irlanda do Norte demonstraram que a detecção de rotavírus nas fezes iniciou na 3ª semana de idade em 10 a 11 lotes examinados, que foram infectados com dois sorotipos diferentes. Em estudo prolongado, também em lote de frangos de corte, os autores demonstraram a ocorrência de excreção intermitente entre 9 e 50 dias de idade, em ondas de uma semana de duração (intercaladas de quatro dias de intervalo), com 4 diferentes eletroferogrupos, cada um representando um distinto sorotipo (McNulty *et al.*, 1980). As infecções seqüenciais e mistas são comuns em razão sorotipos não manterem imunidade cruzada.

## Transmissão

Em regiões densamente povoadas por galinhas e perus pode ser inevitável o desafio por rotavírus, inclusive por vários sorotipos. A transmissão está principalmente associada à contaminação fecal e via horizontal, fecal-oral, embora rotavírus tenha sido isolado de peruzinhos com três dias de idade, que suscita a possibilidade de transmissão vertical. As condições de transmissão são dadas pela criação de aves de múltiplas procedências e idades em condições não ideais de higiene, mantidas com os mesmos trabalhadores. Em avicultura industrial tem importância na transmissão e emergência de diarreias, o não atendimento às condições higiênico-sanitárias de rotina, que incluem o vazio sanitário, a limpeza e desinfecção das instalações e equipamentos e inexistência de política de biossegurança entre núcleos de criação. Para agravar o risco de rotavirose, há crescente necessidade de reutilização de cama em criações de frangos (redução de resíduos, custo do substrato).

A infecção seqüencial de lotes com distintos rotavírus, de sorotipos ou eletroferogrupos diferentes, é provavelmente a realidade de muitas regiões densamente povoadas de avicultura no Brasil e no mundo.

## Incubação

O período de incubação é tipicamente curto, mais curto em mais jovens, mas varia com a idade da ave e seu status sanitário, com a estirpe de vírus e a carga de desafio, esta relacionada à infecção ambiental e dependente da qualidade da higiene e biossegurança. Infecções experimentais demonstraram efeitos clínicos detectáveis após 24 horas de infecção.

## Sinais clínicos

As rotaviroses causam desde a depressão do desempenho em ganho de peso até doença explicita com diarreia e mortalidade aumentada. A deficiente produção de dissacaridases resulta em menor ganho de peso, que pode ou não ser acompanhada de quadro clínico de diarreia. A diarreia aquosa resulta em desidratação ("canelas secas") e, na cama dos frangos há empastamento por excesso de água fecal, que resulta em penas sujas, especialmente nas partes inferiores do corpo. Os sinais comuns são cama molhada, aves em prostração, amontoamento, inapetência, desuniformidade e aumento de mortalidade, em galinhas até 10% e em faisões pode atingir 30%.

## Alterações anátomo-patológicas

### Macroscópicas

As principais alterações notáveis à necropsia são aumento de fluido e de gás (**Figura 12**), palidez e perda de tônus no intestino delgado e cecum, erosões amarronzadas no duodeno e jejuno, desidratação, desuniformidade, ingestão de cama, cloaca suja, congestão cloacal, congestão cecal e pés sujos com fezes aderidas.

### Microscópicas

As principais células atingidas são os enterócitos maduros do ápice das vilosidades (**Figuras 13 e 14**). Estes são enterócitos envolvidos na absorção e que têm expressão superficial de dissacaridases nas microvilosidades. As rotaviroses causam perda de função digestiva por não ocorrer adequada maturação das enzimas dissacaridases, sem alterações histológicas detectáveis, que evolue até a destruição completa do enterócito absorptivo. Nestas células os rotavírus podem ser revelados, por coloração específica com anticorpo marcado por peroxidase ou fluoresceína, principalmente no terço apical da vilosidade.

À microscopia eletrônica a superfície das vilosidades está rugosa, deformada e desuniforme. Há perda de enterócitos no ápice das vilosidades. Infecções experimentais em galinhas SPF evidenciaram apenas leve infiltração linfocitária na lâmina própria e leve perda de microvilosidades na membrana celular do enterócito. A atrofia de vilosidades no íleo foi descrita em galinhas experimentalmente infectadas.

As alterações histológicas no intestino delgado, em infecções experimentais com rotavirus A podem ser mais intensas no duodeno que no jejuno. São descritas vacuolização basal dos enterócitos, descolamento enterocitário da lâmina basal epitelial e descamação celular, atrofia das vilosidades, alargamento da lâmina própria, pregueamento da superfície das vilosidades, fusão de vilosidades, redução do comprimento das vilosidades, aumento da profundidade das criptas e infiltração monocitária e de polimorfonucleares na lâmina própria.

## Imunidade

Anticorpos da classe IgA de imunoglobulinas específicos para rotavirus foram demonstrados da mucosa. Entretanto, o papel dos anticorpos na proteção da mucosa parece ser parcial, visto que pintinhos bursectomizados in ovo desenvolveram resistência ao desafio. Células equivalentes às matadoras naturais (natural killer-NK) anti-células infectadas por rotavirus foram demonstradas dentro do epitélio intestinal podem ser importantes na destruição dos enterócitos infectados e

eliminação da infecção. Experimentos sobre a proteção passiva de peruzinhos com anticorpos maternos conseguiram apenas demonstrar benefícios em proteção até 12 dias após a eclosão.

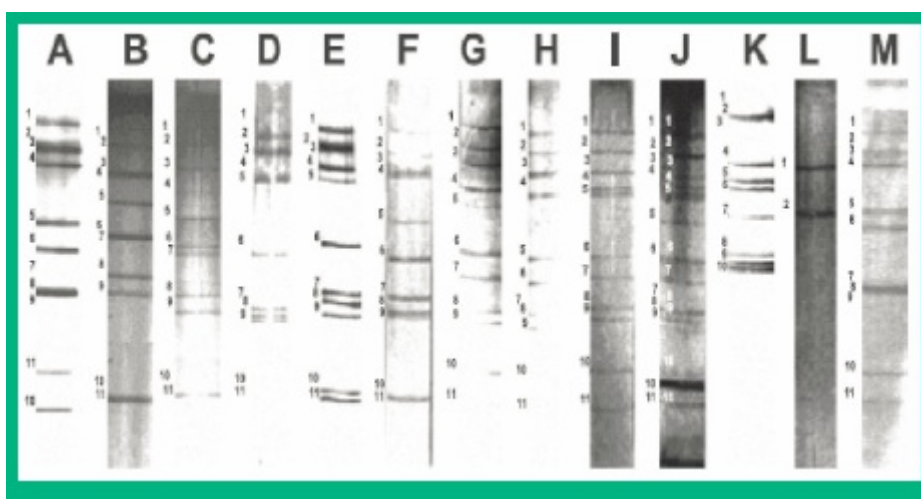
Experimentos demonstraram que os títulos intestinais de anticorpos passivos declinam rapidamente e tornam-se negligíveis à 2ª semana de vida. Para a eficiente proteção, os títulos de anticorpos intestinais (IgA) necessitam estar muito altos.

## Diagnóstico

A demonstração e tipificação de rotavírus pode ser obtida pela extração e eletroforese de RNA obtido das fezes e revelado em gel de poliacrilamida (PAGE; [Figuras 11 e 15](#)). A transcrição reversa seguida de reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) foi descrita para o gene da VP6, que permite a caracterização de isolados (Elschner *et al.*, 2002; 2005) com a subsequente análise do produto amplificado. Um RT-PCR multiplex, para diversos agentes de infecção intestinal, astrovirus tipo-1 e tipo 2 de perus, astrovirus de galinha, vírus da nefrite aviária e rotavirus aviário foi descrito (Day *et al.*, in press).

O diagnóstico rápido de rotavirose pode ser também obtido pela demonstração do vírus por microscopia eletrônica (ME) na mucosa, no conteúdo intestinal ou nas fezes. O vírus das fezes pode ser concentrado por centrifugação em PBS- fluorocarbono e o pellet observado à ME. A micro- aglutinação com soro mono-específico pode ser empregada associada à ME.

A demonstração de anticorpos (sorologia) específicos para os rotavirus não tem sido feita em diagnóstico por ser inconclusiva. A alta disseminação de grande diversidade de rotavírus torna os métodos convencionais com reatividade cruzada. Testes sorológicos válidos devem ser estabelecidos para avaliar todos os sorotipos prevalentes e com alta especificidade, para reduzir os diagnósticos falso- positivos ou falso-negativos, o que é difícil em rotavirus. Estes seriam melhor estabelecidos com anticorpos monoclonais. Para algumas estirpes e sorotipos há dificuldade na produção de antígenos para os ensaios.



**Figura 15** - Eletroferotipos de rotavirus, reovirus e picobirnavirus identificados em fezes de frangos de corte por eletroforese em gel de poliacrilamida corada por prata. Linhas A e M: Padrão genômico de rotavirus bovino (estirpe NCDV) e suíno (estirpe OSU), respectivamente; Linhas B e J: rotavirus aviário com diferentes eletroferotipos. Obs.: Linhas F, G e J apresentam bandas contaminantes não identificadas, com concentrações equimolares distintas; Linha K: eletroferotipo de reovirus aviário; Linha L: eletroferotipo de picobirnavirus aviário. Os segmentos genômicos dos vírus estão numerados de 1 a 11. Tamehiro CY; Alfieri AF; Médici KC; Alfieri AA. Segmented double- stranded genomic RNA viruses in fecal samples from broiler chicken. *Braz. J. Microbiol*;34(4), 2003.

### Prevenção

Os rotavirus têm natureza disseminada na avicultura comercial e de subsistência com maior intensificação ou confinamento, sendo impossível evitar o desafio em regiões densamente povoadas por aves, com trânsito que favoreça a transmissão.

### Tratamento

As rotaviroses podem resultar em perdas progressivas em produtividade. Os quadros explosivos podem ser um alerta tardio. A melhor estratégia deve ser a monitoração da produtividade e análise dos plantéis e núcleos- problema para a presença de rotavirus. A acumulação de alguns agentes mais resistentes, no ambiente de criação, entre estes os rotavirus (e reovirus) deverá ocorrer com o tempo, mesmo em criações que não reutilizam cama, se não forem atendidas as recomendações de biossegurança, vazio sanitário e desinfecção entre lotes. Como resultado da magnificação no ambiente de criação, a rotavirose poderá ser explosiva. Esta visão sobre o ambiente de criação aplica-se a um grande número de patógenos primários ou oportunistas em avicultura.

A reutilização da cama dos frangos de corte tem sido necessária por força das recomendações para a redução de dejetos e de tratamento aos resíduos em criações animais. Outro fator determinante para a reutilização de cama é a crescente carência e alto preço de substratos para cama (maravilha de madeira, casca de arroz). A reutilização impede a higiene ideal entre lotes. Há, desta forma, risco da transferência de problemas sanitários entre plantéis sucessivos.

À cama fermentada, poderá ser adicionada camada nova, de substrato tratado com paraformaldeído (fumigação 12g/m<sup>3</sup>). O galpão limpo trata-se por fumigação com 12g/m<sup>3</sup> de paraformaldeído (em galpão fechado) uma vez por semana, duas semanas antes da chegada do

novo lote.

## Vacinação

Tendo em vista a diversidade genética e sorológica dos rotavírus, torna-se difícil a preparação de vacina polivalente com atualização contínua, especialmente pela dificuldade de se obterem cultivos de algumas estirpes ou sorotipos, principalmente os rotavírus não-grupo A.

Em aves, estudos com vacinas experimentais contra rotavírus A aviários em reprodutores, indicaram a proteção das progênes apenas por uma semana após a eclosão.

## Outras viroses intestinais

### Enterite por coronavírus dos perus Introdução e história

A enterite por coronavírus dos perus (ECP ou TCoV - turkey coronavirus) é doença aguda e muito contagiosa. As denominações doença da crista azul, enterite coronaviral, enterite transmissível e febre do barro são sinônimas. O nome doença da crista azul (blue comb disease) deriva da semelhança clínica com a doença da crista azul das galinhas (monocitose). Em regiões produtoras de perus a ECP tem grande impacto econômico, por mortalidade aumentada, perdas em produtividade e desempenho. Nos Estados Unidos, na região de Minnesota, até o início dos anos 70, a ECP foi considerada a doença mais importante dos perus, de cuja região, a doença foi erradicada em meados da mesma década. No Brasil a infecção por TCoV em perus jovens foi descrita em criação comercial, com o diagnóstico por RT-PCR da região 3' não traduzida do genoma, histopatologia e imuno-histoquímica de seções dos intestinos (Teixeira *et al.*, 2007).

### Etiologia

A doença é causada por um vírus da família Coronaviridae, o TCoV, que está agrupado com o vírus da bronquite infecciosa das galinhas - IBV (grupo 3). As propriedades físico-químicas típicas da família incluem, presença de envelope, envelope com glicoproteínas de adsorção e fusão (S) e de montagem do vírion (M) e cerne com genoma RNA de fita simples e polaridade positiva disposto em segmento único em hélice no cerne, envolto pela nucleoproteína (N). Durante a replicação, que ocorre no citoplasma, são formados seis RNA mensageiros subgenômicos. Novos vírions brotam da membrana do retículo endoplasmático. Há poucos estudos sobre a caracterização de TCoV, pela difícil replicação *in vitro*. Não há estudo sobre a virulência das estirpes de TCoV. Estirpes adaptadas ao embrião de peru apresentaram menor patogenicidade, possivelmente pela condição experimental, que reduz fatores intervenientes oportunistas (*Escherichia coli*, etc) agravantes dos surtos naturais.

Estirpes de TCoV podem resistir a 50°C por 1 hora, mas são sensíveis aos detergentes e solventes lipídicos que destroem o envelope e, por conseguinte, a condição de adsorção celular. Ao contrário de IBV, que é rapidamente inativado no ambiente, TCoV pode manter-se ativo por vários meses desidratado nos resíduos de criação. Também em contraste com o IBV, que requer -30°C ou menos, TCoV pode ser conservado a -20°C (ou menos) por alguns anos.

### Patogenia e Epizootologia

As células alvo do TCoV são as mesmas das rotavirose, os enterócitos absorptivos apicais da vilosidade intestinal. A infecção por TCoV ocorre naturalmente em perus jovens (*Meleagris gallopavo*), mas pintinhos (*Gallus gallus domesticus*) podem ser infectados experimentalmente no primeiro dia de vida. A ECP é aguda, tipicamente dois a três dias de incubação e de disseminação horizontal rápida, por vetores mecânicos, como humanos, veículos automotores, roedores, cães, passeriformes, outras aves de vida livre, larvas e adultos de insetos, dípteros como *Musca domestica* e coleópteros, como *Alphitobius diaperinus* ou crustáceos terrestres ("tatuzinho" *Isópodes Armadillidium vulgare*). A ave que se recupera pode excretar vírus por várias semanas. A transmissão fecal-oral, por contaminação de utensílios, vetores mecânicos com material intestinal de aves infectadas, é de disseminação rápida entre lotes e pode ocorrer por contaminação de recém eclodidos no incubatório.

As estirpes de TCoV estudadas nos Estados Unidos apresentaram grande semelhança antigênica entre si e reatividade cruzada com o IBV.

Um Torovirus (*Coronaviridae*) foi descrito em peruzinhos com nanismo infeccioso semelhante aos quadros descritos para reovirose, rotavirose e TCoV.

## Sinais clínicos

Aparecimento súbito, nanismo infeccioso, desuniformidade no crescimento, diarreia, fezes aquosas, espumosas, com muco e uratos, marrom ou esverdeadas, desidratação, prostração, inapetência, mortalidade aumentada. Em perus fêmeas em postura causa declínio na produção de ovos e produção de ovos de casca branca, com aspecto de giz.

## Alterações anátomo-patológicas

### Macroscópicas

As aves doentes estão com crescimento retardado, magras e desidratadas. No intestino delgado, principalmente no duodeno e jejuno, há perda de tônus, palidez, acúmulo de gás, balonamento, conteúdo aquoso e espumoso. Na bolsa cloacal as lesões ocorrem na mucosa, mas podem resultar na atrofia bursal.

### Microscópicas

As lesões, à semelhança das rotavirose, ocorrem no epitélio cilíndrico intestinal, basicamente nos enterócitos absorptivos apicais, localizados no terço apical da vilosidade intestinal, que se altera para cubóide e perde as microvilosidades. Há diminuição das vilosidades e aumento das criptas, descolamento dos enterócitos e infiltração linfocitária e de heterófilos na lâmina própria. As células caliceiformes estão diminuídas em número. Na bolsa cloacal, há hiperplasia, degeneração e necrose do epitélio pseudo-estratificado, que é substituído por epitélio estratificado pavimentoso. A retração folicular e atrofia bursal ocorrem em consequência da perda epitelial e não por infecção dos linfócitos B.

## Diagnóstico

O diagnóstico da ECP pode ser obtido por inoculação de material intestinal ou bursal (epitélio,



conteúdo ou fezes) em embriões de perus ou galinhas SPF (maior que 15 a 16 dias de incubação) e exame dos intestinos 2 a cinco dias após a inoculação por método imunistoquímico (imunofluorescência, imunoenzimática) com conjugado específico contra o TCoV. A RT-PCR é um método rápido e sensível para o diagnóstico da ECP. A determinação de anticorpos por imunofluorescência indireta ou ELISA pode ser importante para o diagnóstico. O ELISA pode ser desenvolvido com placas sensibilizadas por IBV, por sua reatividade cruzada com TCoV, para o teste de soros de perus.

## Prevenção

A aplicação das estratégias de biossegurança na criação dos plantéis é essencial, considerando as possibilidades de transferência mecânica rápida entre lotes. As unidades de produção devem ser desenhadas para garantir o isolamento sanitário e permitir a atuação eficaz na emergência. Os núcleos de produção não devem compartilhar vias de acesso, pessoal trabalhador, equipamentos, etc., e, devem estar distantes entre si, para impedir a

transferência por vetores mecânicos animados (aves de vida livre, roedores, moscas, coleópteros). A erradicação é possível apenas com o despovoamento e vazio sanitário de 30 dias após limpeza e desinfecção. O tratamento de suporte, à semelhança com os problemas por IBV em galinhas, é a terapia antibacteriana, para reduzir o oportunismo infeccioso, principalmente por *E. coli*.

Não há até o momento vacinas comerciais para a prevenção de ECP.

## Outras viroses intestinais

Um grande número de agentes virais têm sido descrito associado a processos de depressão da digestibilidade, alterações proventriculares, duodenais e no restante do intestino delgado. Os princípios gerais de patogenia e prevenção descritos para as reovirose, rotavirose e ECP são semelhantes para algumas outras etiologias virais.

As astrovirose estão descritas em casos muito semelhantes às rotavirose e ECP em perus. Vários astrovirus ocorrem, como os rotavirus, em diversas espécies das classes Mammalia e Aves, em transtornos intestinais, com alterações na expressão das enzimas de digestão de dissacarídeos, que antecedem as alterações histológicas, mecanismo também semelhante às rotavirose.

Partículas semelhantes a enterovirus (enterovirus-like ELV) são descritas em enterites em galinhas, perus, faisões, galinhas d'Angola, perdizes, avestruzes e psitacídeos jovens, em aves de criação que, quanto mais intensificada, mais jovens em ocorrência. Um enterovirus ELV descrito em perus produziu mortalidade embrionária e foi isolado do mecônio, o que indica transmissão vertical.

As pesquisas parecem indicar que as possibilidades de etiologias virais são amplas e pouco conhecidas. As aves criadas em condições intensificadas parecem apresentar alta susceptibilidade que favorece estas emergências e que à medida que se aplicam as ações para o controle das etiologias conhecidas, emergem outras. Espécies de psitacídeos e outras ordens estão sendo reproduzidas comercialmente para companhia, em ambientes mais confinados, que têm

facilitado episódios de viroses gastro-intestinais.

## Bibliografia

Al-Afaleq AI, Savage CE, Johnson CP, Jones RC. Experimental inoculation of mice with trypsin-resistant and trypsin-sensitive avian reoviruses. *Journal Comparative Pathology* 1997;117(3):253-259.

Alfieri AF, Resende M, Alfieri AA, Resende JS. Detection and propagation of avian enteric reovirus in chickens. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 1989a; 41(6):493-501.

Alfieri AF, Resende M, Resende JS, Alfieri AA. Atypical rotavirus infections among broiler chickens in Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 1989b; 41(1):81-82.

Bergeland ME, McAdaragh JP, Stotz I. Rotaviral enteritis in turkey poults. *Proceedings of the 26th Western Poultry Disease Conference. University of California, Davis, CA; 1977. p.129-130.*

Bodelon G, Labrada L, Martinez-Costas J, Benavente J. The avian reovirus genome segment S1 is a functionally tricistronic gene that expresses one structural and two nonstructural proteins in infected cells. *Virology* 2001; 290:181-191.

Brüssow H, Nakagani O, Minamoto N, Eichhorn W. Rotavirus 993/83, isolated from calf faeces, closely resembles an avian rotavirus. *Journal of General Virology* 1992; 73:1873-1875.

Cadman HF, Kelly PJ, Zhou R, Davelaar F, Mason PR. A Serosurvey Using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Antibodies against Poultry Pathogens in Ostriches (*Struthio camelus*) from Zimbabwe. **Avian Diseases** 1994; 38:621-625.

Dalton PJ, Henry R. Tenosynovitis in poultry. *Veterinary Record* 1967; 80:638.

Day J, Spackman E, Pantin-Jackwood M. A multiplex rt-pcr test for the differential identification of turkey astrovirus type-1, turkey astrovirus type-2, chicken astrovirus, avian nephritis virus and avian rotavirus. In press 2007.

Dobson KN, Glisson JR. Economic impact of a documented case of reovirus infection in broiler breeders. **Avian Diseases** 1992; 36:788-791.

Elschner M, Prudlo J, Hotzel H, Otto P, Sachse K. Nested reverse transcriptase-polymerase chain reaction for the detection of group A rotaviruses. *Journal of Veterinary Medicine B* 2002; 49:77-81.

Elschner M, Hotzel H, Reetz J, Diller R, Otto P. Isolation, identification and characterization of group a rotavirus from a chicken: the inner capsid protein sequence shows only a distant phylogenetic relationship to most other avian group a rotaviruses. *Journal of Veterinary Medicine B* 2005; 52:211-213.

- Fahey JE, Crawley JF. Studies on chronic respiratory disease of chickens. II. Isolation of a virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 1954; 18:13-21.
- Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Monath TP, Melnick JL, Roizman B, Straus SE, editors. *Field virology*. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
- Giambone JJ, Solano W. Serologic Comparison of Avian Reovirus Isolates Using Virus Neutralization and an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Avian Diseases* 1988; 32(4):678-680.
- Gough RE, Collins MS, Wood GW, Lister SA. Isolation of a chicken embryo-lethal rotavirus from a lovebird (*Agapornis* species). *Veterinary Record* 1988; 122:363-364.
- Gouvea VS, Schnitzer TJ. Polymorphism of the migration of double-stranded RNA genome segments of avian reoviruses. *Journal of Virology* 1982; 43(2):465-471.
- Guo ZY, Giambone JJ, Wu H, Dormitorio T. Safety and efficacy of an experimental reovirus vaccine for in ovo administration. *Avian Diseases* 2003; 47(4):1423-1428.
- Guy JS. Turkey coronavirus enteritis. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE, editors. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003. p.300-307
- Hemzani E, Meroz M, Weisz A, Ayali G, Kass N, Mikhlín S, Berman E, Samberg Y. Isolation of an avian reovirus with unique antigenicity from a tenosynovitis outbreak. *Proceedings of the International Symposium on Adenovirus and Reovirus Infections in Poultry*; 1996; Rauschholzhausen, Germany. P. 269-278.
- Hoyt CC, Richardson-Burns SM, Goody RJ, Robinson BA, DeBiasi RL, Tyler KL. Nonstructural Protein 1s Is a Determinant of Reovirus Virulence and Influences the Kinetics and Severity of Apoptosis Induction in the Heart and Central Nervous System. *Journal of Virology* 2005; 79(5):2743-2753.
- Jones RC, Nwajei BN. Reovirus-induced tenosynovitis: persistence of homologous challenge virus in broiler chicks after vaccination of parents. *Research Veterinary Science* 1985; 39(1):39-41.
- Kibenge FSB, Dhillon AAS. Comparison of the pathogenicity of four avian reoviruses in chickens. *Avian Diseases* 1987; 31(1):39-42.
- Liu HJ, Giambone JJ. Amplification, cloning and sequencing of the sC-encoded gene of avian reovirus. *Journal Virological Methods* 1997; 63:203-208.
- Magee DL, Montgomery RD, Maslin WR, Wu CC, Jack SW. Reovirus Associated with Excessive Mortality in Young Bobwhite Quail. *Avian Diseases* 1993; 37(4):1130-1135.
- Marquardt J, Herrmanns W, Schulz LC, Leibold W. A persistent reovirus infection of chickens as a possible model of human rheumatoid arthritis (RA). *Zentralbl Veterinaermed* 1983; 30B:274-282.

McNulty MS, Allan GM, Todd D, McFerran JB, McKillop ER, Collins DS, McCracken RM. Isolation of rotaviruses from turkeys and chickens: Demonstration of distinct serotypes and RNA electropherotypes. **Avian Pathology** 1980; 9:363-375.

McNulty MS. Rotavirus infections. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE, editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003.

McNulty MS, Guy JS. Avian enteroviruslike viruses. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE, editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003.

McNulty MS, Todd D, Allan GM, McFerran JB, Greene JA. Epidemiology of rotavirus infection in broiler chickens: Recognition of four serogroups. *Archives of Virology* 1984; 81(1-2):113-121.

Menendez NA, Calnek BW, Cowen BS. Experimental egg-transmission of avian reovirus. **Avian Diseases** 1975; 19:104- 111.

Montgomery RD, Maslin WR. Persistence of commercial modified live reovirus vaccines in chicks. **Avian Diseases** 1988; 32(3):461-468, 1988.

Offit PA, Blavat G, Greenberg HB, Clark HF. Molecular basis of rotavirus virulence: role of gene segment 4. *Journal of Virology* 1986; 57(1):46-49.

Olson NO, Kerr KM. Some characteristics of an avian arthritis viral agent. **Avian Diseases** 1966; 10:470-476.

Olson NO, Khan MA. The effect of intranasal exposure of chickens to the Fahey-Crawley virus on the development of synovial lesions. **Avian Diseases** 1972; 16:1073-1078.

Olson NO, Solomon DP. A natural outbreak of synovitis caused by the viral arthritis agent. **Avian Diseases** 1968; 12:311-316.

Olson NO, Shelton DC, Munro DA. Infectious synovitis control by medication-effect of strain differences and pleuropneumonia-like organisms. *American Journal of Veterinary Research* 1957; 18:735-739.

Reynolds DL, Schultz-Cherry SL. Astrovirus infections. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE, editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003.

Roessler DE, Rosenberger JK. In vitro and in vivo Characterization of Avian Reoviruses. III. Host Factors Affecting Virulence and Persistence. **Avian Diseases** 1989; 33(3):555-565.

Rosenberger JK. Reovirus interference with Marek's disease vaccination. Proceedings of 32nd Western Poultry Diseases Conference; 1983; Davis, CA. USA. p. 50.51

Rubin DH, Fields BN. Molecular basis of reovirus virulence. Role of the M2 gene. *Journal Experimental Medicine* 1980; 152(4):853-68.

- Rutala WA. Disinfection and Antisepsis: Special emphasis on pediatric issues University of North Carolina (UNC) Health Care System and UNC at Chapel Hill, NC, 2005, [cited 2007 jul. 05]. Available from: <http://www.unc.edu/depts/spice/dis/APIC-disinfect-Peds2005.pdf>
- Sánchez-Cordón PJ, Hervás J, Chacón de Lara F, Jahn J, Salguero FJ, Gómez-Villamandos JC. Reovirus infection in psittacine birds (*Psittacus erithacus*): morphologic and immunohistochemical study. *Avian Diseases* 2002; 46(2):485-492.
- Savage CE, Jones RC. The survival of avian reoviruses on materials associated with the poultry house environment. *Avian Pathology* 2003; 32(4):417-423.
- Strong J, Matthew E, Coffey C, Tang D, Sabinin P, Lee PWK. The molecular basis of viral oncolysis: usurpation of the Ras signaling pathway by reovirus. *The EMBO Journal* 1998; 17:3351-3362.
- Tamehiro CY, Alfieri AF, Médici KC, Alfieri AA. Segmented double-stranded genomic RNA viruses in fecal samples from broiler chicken. *Brazilian Journal of Microbiology* 2003; 34(4):349-353.
- Teixeira MC, Luvizotto MC, Ferrari HF, Mendes AR, Silva SE, Cardoso TC. Detection of turkey coronavirus in commercial turkey poults in Brazil. *Avian Pathology* 2007; 36(1):29-33.
- Van der Heide L, Kalbac M. Infectious tenosynovitis (viral arthritis): characterization of a Connecticut viral isolant as a reovirus and evidence of viral egg transmission by reovirus-infected broiler breeders. *Avian Diseases* 1975; 19:683- 688.
- Van der Heide L, Kalbac M, Brustolon M. Development of an attenuated apathogenic reovirus vaccine against viral arthritis/ tenosynovitis. *Avian Diseases* 1983; 27:698-706.
- Van der Heide L, Page RK. Field experiments with viral arthritis/ tenosynovitis vaccination of breeder chickens. *Avian Diseases* 1980; 24:493-497.
- Wood GW, Muskett JC, Thorton DH. Observations on the ability of avian reovirus vaccination of hens to protect their progeny against the effects of challenge with homologous and heterologous strains. *Journal of Comparative Pathology* 1986; 96:125-129.
- Wu H, Williams Y, Gunn KS, Singh NK, Locy RD, Giambrone JJ. Yeast-Derived Sigma C protein-induced immunity against avian reovirus. *Avian Diseases* 2005; 49(2):281-284.

## Síndrome da queda de postura - EDS-76

<b>Introdução</b>	<b>713</b>
<b>Histórico</b>	<b>713</b>
<b>Distribuição geográfica e ocorrência</b>	<b>715</b>
<b>Etiologia</b>	<b>715</b>
<i>Morfologia, densidade e composição química</i>	715
<b>Epizootia e patogenicidade</b>	<b>716</b>
<i>Epizootia</i>	716
<i>Patogenicidade</i>	716
<b>Patogenia</b>	<b>716</b>
<b>Transmissão</b>	<b>716</b>
<b>Sinais clínicos</b>	<b>717</b>
<b>Alterações anatomopatológicas</b>	<b>717</b>
<b>Imunidade</b>	<b>718</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>718</b>
<b>Prevenção e controle</b>	<b>718</b>
<b>Tratamento</b>	<b>719</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>719</b>

## Síndrome da queda de postura - EDS-76

Inaldo Sales Patrício, Edir Nepomuceno da Silva

### Introdução

Uma nova síndrome de queda de postura, com características diferentes das habituais, começou a ser detectada em galinhas reprodutoras pesadas e leves (vermelhas) no final de 1975, nos países do norte europeu, com aumento de intensidade dos sinais clínicos no ano seguinte (Van Eck *et al.*, 1976).

Um novo vírus, classificado como Adenovirus, foi isolado e relacionado a esta nova síndrome. Por ser sorologicamente distinto dos dois anteriores já descritos, foi colocado como subgrupo III.

Rapidamente esta nova doença, com a denominação de Egg Drop Syndrome - EDS-76 proposta por MacFerran, disseminou-se por varias partes do mundo, exceto nos Estados Unidos (EUA), como uma das principais causas de perda de produção e qualidade de ovos, tanto em reprodutoras, como em poedeiras vermelhas.

### Histórico

A EDS-76 foi inicialmente descrita em 1976, na Holanda e Grã-Bretanha (GB), como uma nova doença das galinhas, que se caracterizava por apresentar queda de postura e má qualidade da casca dos ovos, tanto em poedeiras comerciais quanto em reprodutoras pesadas.

Baxendale (1976) isolou um Adenovirus de células brancas (buffer coat) sanguíneas de galinhas afetadas, denominando-o de BC-14. No ano seguinte, pesquisadores do Laboratório de Pesquisas Veterinárias de Stormot, Irlanda do Norte (McFerran *et al.*, 1977), isolaram um Adenovirus, com características semelhantes, de oviduto, trato respiratório e amostras fecais de galinhas acometidas pela síndrome, denominando-o de Adenovirus-127. Outros isolados ocorreram recebendo diferentes denominações: E-77 - isolado por Zanella em 1977; D-61 - isolado por Derbyshire em 1978.

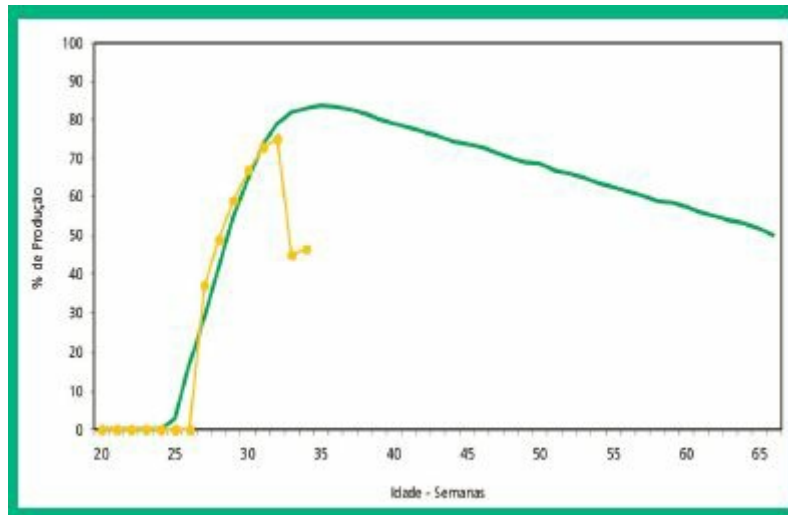
Posteriormente, demonstrou-se que eram sorologicamente idênticos e possuíam uma capacidade única e exclusiva de aglutinar hemácias de galinha (Derbyshire & Peters, 1980).

A primeira evidência sorológica (teste de Inibição da Hemaglutinação - HI) deste Adenovirus tipo III em galinhas foi reportado na Irlanda do Norte em junho de 1976 (McFerran *et al.*, 1978). Este mesmo grupo de pesquisadores concluiu que esta síndrome se originou da transmissão do vírus presente em ovos de patos usados na produção da vacina contra a doença de Marek e, posteriormente, aplicada em galinhas reprodutoras com um dia de idade.

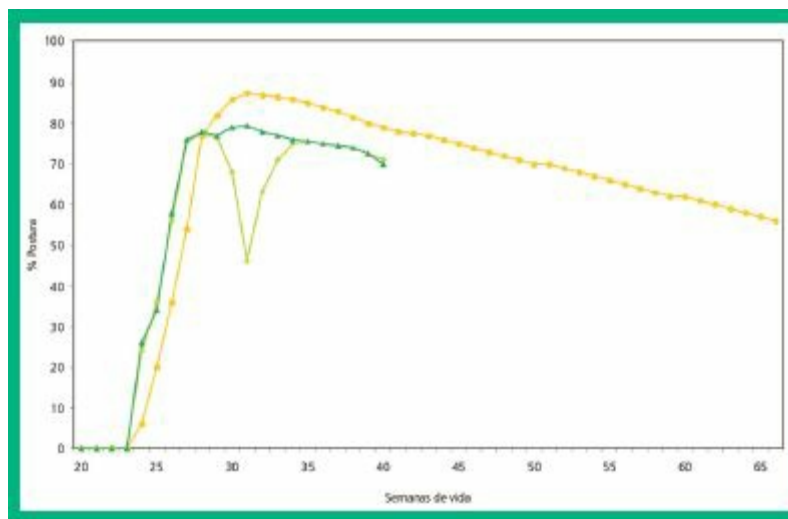
Assim, o primeiro relato oficial sobre a doença foi apresentado por McFerran e Baxendale (pesquisador do Laboratório Intervet da Grã- Bretanha), em abril de 1977, em uma sessão fechada, para membros da Associação Inglesa de Veterinários Avícolas (Harris, 1977).

A síndrome caracterizava-se pela queda de postura em poedeiras vermelhas e reprodutoras pesadas, pre- sença de ovos com cascas finas, sem casca, só com a membrana, casca descolorada e com depósito irre- gular de cálcio na sua superfície. A mortalidade era inex- pressiva, e nenhum outro sinal clínico era observado.

As [Figuras 1](#) e [2](#) ilustram bem o quadro de queda de postura provoca pela EDS.



**Figura 1** - Lote soropositivo- EDS -76.



**Figura 2** - Análise de produção Vacinação contra EDS -76.

O vírus foi isolado de pintos nos seguintes países: Austrália, África do Sul, Bélgica, China, França, Grã- Bretanha, Hungria, Índia, Israel, Itália, Japão, Irlanda do Norte, Singapura e Tailândia.

Anticorpos para este Adenovírus foram encontrados em galinhas procedentes do Brasil, da Dinamarca, do México, da Nova Zelândia e da Nigéria (McFerran *et al.*, 1977). O Adenovírus foi isolado de patos saudáveis procedentes da Europa, da Índia e dos EUA.



A primeira evidência sorológica da ocorrência da EDS no Brasil, através do teste de HI, foi feita por pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) em soros coletados no final de 1976 de poedeiras vermelhas provenientes de granjas localizadas no Rio Grande do Sul. Estes eram sorologicamente positivos para EDS, e negativos para Bronquite Infecciosa das Galinhas (BIG), a principal suspeita inicial (Hwang *et al.*, 1980). As aves haviam sido vacinadas contra Marek com vacina produzida em fibroblasto de embriões de pato. Outros quadros de queda de postura observados na mesma época em poedeiras no sul do país (Vale do Taquari, entre outros) tiveram a suspeita inicial de BIG confirmada como EDS (Lamas da Silva - informe pessoal).

Ainda no Brasil, a primeira observação clínica de EDS em reprodutoras pesadas foi realizada em 1977 em lote de avós importado da GB em julho de 1976. As aves apresentaram fezes mais aquosas que o usual entre 16 e 22 semanas de idade. Após este período, as aves mostraram-se sonolentas e apáticas, com grande queda de produção de ovos (ver Figura 1), ovos de casca fina, sem casca e despigmentados. Exames sorológicos de amostras coletadas de matrizes desta mesma linhagem alojadas em várias regiões do país (Belém do Pará, Recife, São Paulo e Rio Grande do Sul) mostraram-se positivas no teste de HI para EDS em mais de 70% das amostras. A observação de positividade sorológica para EDS seguiu-se em 1978, tanto para matrizes, como para avós desta mesma linhagem.

Evidências epidemiológicas sugerem que a EDS chegou ao Brasil, pela primeira vez, através da importação de pintos (avós pesadas) contaminados proveniente da GB. Lotes de poedeiras foram, possivelmente, contaminados inicialmente através da aplicação da vacina de Marek produzida em ovos de patos de importada da Europa.

Os primeiros e mais importantes surtos de EDS no Brasil ocorreram ao mesmo tempo em que se observavam os graves surtos iniciais da BIG, dificultando o diagnóstico diferencial, particularmente, pela falta de reagentes laboratoriais e capacitação técnica na época.

O uso de vacina inativada oleosa, aplicada em lotes na recria e fabricada com o vírus patogênico de campo tornou-se uma prática largamente difundida no controle da enfermidade em todo o mundo. Surtos esporádicos de EDS voltaram a ser observados a partir da década de 90. Nestes casos, a maior suspeita recaía sobre a própria vacina contra EDS que não tinha o agente suficientemente inativado. A melhoria tecnológica na produção da vacina contornou este problema.

## **Distribuição geográfica e ocorrência**

Evidências sugerem que a EDS originou-se na Europa por acidente vacinal, sendo que a vacina de Marek, fabricada em fibroblastos de embriões de pato, trazia concomitantemente o Adenovírus tipo III. Este Adenovírus, inócuo para patos, quando injetado às galinhas, adaptou-se causando a enfermidade. Inicialmente sua transmissão se dava, essencialmente, via vertical e sua disseminação ocorreu por meio do comércio de material genético.

Assim, a EDS espalhou-se para quase todo o mundo, incluindo América do Sul e África, exceto EUA, em razão da inexistência de comércio de material genético e produtos biológicos entre EUA e Europa, na época.

Não há relatos da transmissão natural do vírus da EDS de aves silvestres para aves industriais. Embora, marrecos de Pequim sejam soropositivos e alberguem o vírus, inclusive em países, como os EUA, onde a doença não foi descrita (Calnek, 1978; Villegas *et al.*, 1979). Nesta mesma época, outros autores relataram a presença de anticorpos contra o vírus da EDS em patos, gansos domésticos e selvagens, da Austrália, Índia, Israel e Canadá. Desta maneira, as aves aquáticas são potenciais reservatórios do vírus na natureza.

## Etiologia

O vírus EDS é um Adenovírus conforme suas características morfológicas, replicação e composição química. Em função da sua característica hemaglutinante única no gênero, foi classificado como subgrupo três (Vereecken *et al.*, 1998).

Ele difere dos 11 Adenovírus descritos em aves domésticas, e dos dois protótipos de Adenovírus descritos em perus, quando examinado pelas provas de soroneutralização e HI (Adair *et al.*, 1979).

Sua capacidade hemaglutinante é observada para hemácias de galinha, patos, gansos, perus, pombos e marrecos, mas, não para hemácias de rato, cavalo, camundongo, carneiro, vaca, cabra e porco (Villegas *et al.*, 1979; Lu *et al.*, 1985).

O vírus cresce em cultivo celular de células hepáticas e fibroblastos de embriões de pintos e patos. Melhor nesta última espécie.

## Morfologia, densidade e composição química

O vírus da EDS mede de  $76 \text{ a } 80 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ , em preparações coloridas, e de  $70 \text{ a } 75 \text{ nm}$  no núcleo de células de fígado de pinto infectado (Kraft *et al.*, 1979). Tamanho aceitável pela maioria dos pesquisadores como padrão para os Adenovírus.

No preparado de gradiente de cloreto de cério, a morfologia mostra-se típica com faces triangulares, tendo seis capsômeros na borda e uma simples fibra  $25 \text{ nm}$  projetando-se de cada vértice (Kraft *et al.*, 1979). Nesta mesma preparação, a densidade das partículas hemaglutinantes e infectantes variou de  $1,28 \text{ a } 1,33 \text{ g/mL}$  (Todd & Multy, 1978; Kraft *et al.*, 1979; Takai *et al.*, 1984; Yamaguchi *et al.*, 1981). Esta diferença na densidade depende do método de purificação e células usadas no cultivo (Zsak & Kisary, 1981).

O vírus da EDS distingue-se dos outros Adenovírus porque apresenta capsômeros bem definidos com cavidade no centro. Partículas do vírus podem ser vistas no núcleo de células epiteliais da mucosa de oviduto de galinhas (Taniguchi *et al.*, 1981).

Das 13 estruturas polipeptídicas presentes no vírus de EDS, sete correspondem aos polipeptídeos do Adenovírus tipo 1 de aves domésticas (Todd & McNulty, 1978).

O DNA do vírus da EDS tem peso molecular de  $22,6 \times 10^6$  daltons; o do Adenovírus tipo 1 de aves domésticas, é de  $28,9 \times 10^6$  daltons (Zsak & Kisary, 1981). O comprimento do genoma é de 33.213 nucleotídeos, com conteúdo de CG de somente 42,5%, refletindo a heterogeneidade deste

gênero de vírus (Hess *et al.*, 1997).

A hemaglutinina (HA) do vírus da EDS é relativamente estável. Ela se mantém ativa por longo período a 4°C (Adair *et al.*, 1979). Na temperatura de 56°C, pode haver queda inicial de quatro logs em 16 horas. Porém, o título remanescente se estabiliza por quatro dias, caindo para zero após oito dias nesta temperatura. Sua atividade é mínima a 60°C, e é totalmente destruída a 70 °C (McFerran *et al.*, 1977). Também, a HA é resistente a tripsina, 2-mercaptoethanol, ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), neuraminidase, papaína, ficina, e 0,5% de formalina por uma hora. Porém o título é reduzido na presença de periodato de potássio e 0,5% de glutaraldeído (Takai *et al.*, 1984). Entretanto, o solúvel purificado de HA pode ser destruído por tripsina (Todd & McNulty, 1978).

## Epizootia e patogenicidade

### Epizootia

Patos, gansos domésticos e selvagens são considerados os hospedeiros naturais do vírus da EDS na natureza. Estas espécies mostram o vírus e anticorpos na ausência de sintomatologia clínica da doença. Anticorpos para o vírus da EDS foram detectados em aves aquáticas do Atlântico, patos em Moscou, gansos do Canadá.

Há relato de isolamento do vírus de patos domésticos mostrando queda de postura e severa diarreia (Lu *et al.*, 1985).

A codorna (*Coturnix coturnix japonica*) mostrou-se naturalmente susceptível ao vírus da EDS, com o desenvolvimento de sinais clínicos (Das & Pradhan, 1992).

Perus e faisões podem ser infectados experimentalmente, porém não existe evidência da doença natural nestas espécies (Bartha & Mesaros, 1985; Parsons *et al.*, 1980).

A galinha de Angola pode ser infectada natural e experimentalmente e produzir ovos com casca fina, embora se mantenha clinicamente normal (Guittet *et al.*, 1981).

### Patogenicidade

A EDS foi, inicialmente, observada em reprodutoras pesadas e em linhas produtoras de ovos vermelhos; exatamente aquelas existentes na região européia de origem da doença. Estas aves são igualmente susceptíveis a infecção experimental e natural. Poedeiras de ovos brancos foram consideradas de baixa susceptibilidade.

A infecção pode ocorrer em galinhas de qualquer idade. Entretanto, não há manifestação de sintomatologia clínica até que as aves iniciam a produção de ovos, quando são ativadas, provavelmente, por efeito hormonal. Neste período anterior o vírus permanece latente nas aves.

Aparentemente, a maior adaptação do vírus da EDS às galinhas, proporcionou condições para transmissão horizontal de ave-a-ave, mesmo para as poedeiras de ovos brancos. Entretanto, todas as cepas do vírus isoladas de galinhas apresentaram mesmo grau de patogenicidade, virulência e

identidade (Bartha & Mesaros, 1985). Por outro lado, isolados de patos nos EUA não foram capazes de causar queda na produção de ovos em galinhas infectadas (Villegas *et al.*, 1979).

## Patogenia

A replicação do vírus inicia-se de tre a quatro dias pós infecção nos tecidos linfóides, especialmente do timo e do pâncreas. Também, ocorre em células do infundíbulo. Uma replicação em massa do vírus ocorre de sete a 20 dias na câmara calcígena (útero) do oviduto das galinhas. Ali, a replicação viral provoca uma reação inflamatória que é a causa principal da má formação da casca do ovo (McFerran *et al.*, 1977; Taniguchi *et al.*, 1981; Smith *et al.*, 1988).

O vírus da EDS não se replica na mucosa do intestino, mas pode ser encontrado nas fezes de aves infectadas, provavelmente, pela contaminação do mesmo pelo exudato do oviduto. Na infecção oral em galinhas adultas, o vírus limita-se à replicação na mucosa nasal e desenvolvimento de pequena viremia (Smith *et al.*, 1988).

## Transmissão

A transmissão - quando não acidental por vacina contaminada - é essencialmente vertical, da reprodutora para a progênie. A transmissão horizontal pode ocorrer de pato para pato, de pato para pinto, e de pinto para pato. Porém, é lenta de pinto para pinto (Villegas *et al.*, 1979).

Em alguns lotes infectados pela via vertical, as matrizes não desenvolvem anticorpos até o início da produção, mas excretam o vírus. O nível de transmissão do vírus via ovos declina com o tempo, até sua negatificação. Observa-se que galinhas reprodutoras positivas não transmitem o vírus após 45 semanas de idade. Este conhecimento forneceu as bases para um dos bem sucedido programa de erradicação da EDS em uma empresa de genética. Lotes de matrizes que eram positivas no primeiro ciclo de produção, não transmitiram o vírus da EDS por todo o segundo ciclo de 25 semanas de produção após muda forçada.

A transmissão horizontal, de ave a ave, é muito lenta. Em poedeiras em gaiolas, ela é menor que em aves mantidas sobre piso. Nestes galpões, o vírus necessita, às vezes, de 10 a 22 dias para passar de um extremo a outro do aviário e de 28 a trinta dias para ir de um aviário para outro numa distância de apenas 50 metros. Experimento com matrizes positivas mostrou que a transmissão horizontal pode ser barrada apenas com o uso de tela como separação. Por exemplo, galinhas SPF não adquiriram a infecção quando colocadas em contato com estas matrizes, que soroconverteram na quarta semana de vida, e foram vacinadas às 15 semanas de idade. Entretanto, tem que considerar a maior resistência das aves SPF (poedeiras brancas) à doença.

O vírus da EDS pode ser transmitido entre galinhas via excrementos do oviduto e fezes. Equipamentos, veículos, caixas, gaiolas e agulhas usadas na vacinação podem transportar o vírus de uma granja para outra.

## Sinais clínicos

Há vários sinais presentes no quadro clínico da EDS. O mais evidente e característico é a queda na produção de ovos. Em muitos casos os outros sinais clínicos podem passar despercebidos.

Em reprodutoras pesadas, a queda de postura pode variar de 10 a 30% por seis a oito semanas consecutivas, 19 a 43% para postura comercial, ou, simplesmente, os lotes deixam de apresentar um pico de postura, ficando de 15 a 25% abaixo do normal para matrizes pesadas.

As perdas em produtividade por matriz alojada são em média de 15 ovos totais, 13 ovos incubáveis e 10 pintos.

Aves afetadas apresentam fezes líquidas intensas (diarréia) durante a fase de crescimento, entre 15 e 25 semanas de idade; muitas vezes necessitando a troca da cama varias vezes na recria. As aves mostram-se sonolentas, com baixo e lento consumo de ração, e tendem a comer seus ovos.

Uma porcentagem dos ovos produzidos por lotes afetados aparecem com casca fina, sem casca, somente com a membrana da casca, com casca deformada e descolorida, redução no peso e depósito anormal de cálcio sobre as mesmas (**Figura 3**).



**Figura 3** - Ovos produzidos por galinhas acometidas pela EDS, mostrando ovos descoloridos, com casca fina, deformados, ou somente com membrana da casca (Patrício, I. 1981 - Dados pessoais).

A mortalidade é inexpressiva nos quadros de EDS; a morbidade, muitas das vezes, não é notada ou difícil de se quantificar.

## Alterações anatomopatológicas

Alterações anatomopatológicas macroscópicas são de difícil verificação em galinhas naturalmente infectadas. Atrofia de oviduto, ovário inativo e edema do útero são descritos, mas, de difícil observação.

Experimentalmente, pode-se notar espleno-megalia, flacidez do ovário e óvulos na cavidade abdominal (Taniguchi *et al.*, 1981; Smith *et al.*, 1988).

As lesões microscópicas ocorrem com frequência na glândula da cavidade formadora da casca. O vírus replica no núcleo da célula epitelial, produzindo corpúsculos de inclusão intranuclear, sete dias após uma infecção (Taniguchi *et al.*, 1981; Smith *et al.*, 1988), que desaparecem três dias após a queda de postura (Smith *et al.*, 1988). A reação inflamatória na lâmina própria do epitélio é rápida e severa (McFerran *et al.*, 1977; 1978).

## Imunidade

Aves infectadas naturalmente e experimentalmente desenvolvem altos níveis de anticorpos que podem ser medidos pelo teste de HI ( $>1:256$ ), e se tornam protegidas contra infecções subsequentes. Estes anticorpos passam através da gema de ovos de galinhas infectadas, e podem ser detectados, tanto na gema, como em soro de pintos até uma semana de vida com títulos de HI que podem chegar a 1:64, 1:128.

Títulos de HI  $>1:64$ , com coeficiente de variação amplo, são fortes indicações da ocorrência da doença em lotes não vacinados.

Enquanto que em aves infectadas na fase adulta, os anticorpos começam a ser detectados de cinco a sete dias pós-infecção, com pico entre 20 a 25 dias; a produção de anticorpos em aves jovens é rara, mesmo na transmissão vertical. Quando isto acontece, ela somente aparece nas aves a partir da quarta, quinta semana de vida (Darbyshire & Peters, 1980).

A vacinação induz uma produção homogênea de anticorpos, facilmente detectáveis pela prova de HI, mas com níveis inferiores aos causadas pela infecção ( $<1:128$ ). Alguns lotes infectados verticalmente falham na produção de anticorpos até o início da produção, embora sejam portadores e excretadores do vírus (McFerran *et al.*, 1977).

Um bom exemplo de resposta a um programa de vacinação pode ser visto neste trabalho realizado no Paquistão (Badar *et al.*, 2006).

## Diagnóstico

O diagnóstico clínico da EDS é difícil antes do período de produção de ovos por falta de sinais característicos. Nesta fase podem ser observadas apenas fezes líquidas na recria. A queda de produção com alteração na cor e qualidade da casca, com baixa morbidade, quase nenhum aumento na mortalidade, são sinais muito indicativos da doença. A positividade sorológica através do teste de HI é a maneira mais rápida e simples de confirmação do quadro.

O isolamento viral quase nunca é utilizado como ferramenta diagnóstica. Contudo, ele pode ser feito através da inoculação de espécimes em ovos embrionados de patos ou gansos, livres do vírus EDS, ou em cultivo celular destas aves. Células de fígado de embrião de pintos podem ser usadas no isolamento e são mais sensíveis que células de rins de pinto. Entretanto, são necessárias, pelo menos, duas passagens cegas antes da observação de qualquer efeito citopático. Fibroblastos de embriões de pintos não são recomendados para o isolamento primário (McFerran *et al.*, 1977). Inoculação de patinhos de 10 a 12 dias, também, constitui método para o isolamento primário do vírus.

O teste de HI é a prova sorológica mais prática e eficiente na detecção de anticorpos contra o vírus de EDS; embora, outros testes como o Elisa, soroneutralização (SN), imunodifusão tenham sido descritos e propostos (Villegas *et al.*, 1979; Vereecken *et al.*, 1998).

Os testes de HI e SN são mais específicos, enquanto as provas de Elisa, FA e DID não distinguem entre os diferentes Adenovirus que podem estar infectando o lote (Vereecken *et al.*, 1998).

O vírus hemaglutinante para a prova de HI pode ser preparado em ovos embrionados de patos, ou em cultivo celular de fígado de embrião de pinto.

A monitoria sorológica pela prova de HI é recomendável para garantir o status da doença em um lote ou granja, ou avaliação do programa de vacinação. Aves sorologicamente negativas na cria e recria não garantem o status de lotes livres.

O diagnóstico diferencial da EDS deve ser feito, principalmente, para a Bronquite Infecciosa das Galinhas.

## Prevenção e controle

Os principais procedimentos de prevenção e controle da EDS residem na compra de lotes negativos para a doença, biossegurança e no estabelecimento de um programa de vacinação.

O primeiro programa de sucesso na erradicação da doença em lotes primários infectados foi aplicado na Irlanda do Norte baseando-se no conceito que o vírus não se transmite via ovos em lotes acima de 40 semanas de idade. Contudo, é um trabalho muito laborioso, de longo prazo para obtenção dos resultados (10 anos) e de elevado custo.

A vacina inativada oleosa aplicada às aves na recria tem se constituído numa ferramenta muito eficiente na prevenção da doença, tanto em postura comercial com em matrizes. Geralmente, uma única aplicação da vacina imuniza o lote por todo seu período produtivo.

Em granjas de avós, quando estritamente necessário, os ovos de lotes positivos devem ser incubados separados dos de lotes negativos. Eles podem estar juntos quando os lotes positivos ultrapassarem 45 semanas de idade.

O uso de equipamentos de vacinação injetável atua na transmissão do vírus entre aves. Devem-se descartar agulhas após vacinação de cada divisão do galpão. Usar uma agulha para cada ave não é factível. Outras medidas sanitárias, como não visitar lotes negativos após uma visita a lotes positivos, evitar a proliferação de mosquitos e outros insetos nas granjas, não utilizar galos de lotes suspeitos no acasalamento de aves negativas, não utilizar equipamentos de lotes positivos em lotes negativos, usar formol e solução de iodo na desinfecção dos aviários, são praticas recomendáveis.

## Tratamento

Não há nenhum tratamento específico para a EDS.

## Bibliografia

- Adair BM, McFerran JB, Connor T J, McNulty MS, McKillop ER. Biological and physical properties of a virus (strain 127) associated with the egg drop syndrome, 1976. **Avian Pathology** 1979; 8:249-264.
- Badar ST, Siddique M, Ali R, Rasool MH. Serological status of egg drop syndrome in breeders and commercial layers in mansehra district Pakistan. *Veterinary Journal* 2006; 26:33-35.
- Bartha A, Mesaros J. Experimental infection of laying hens with an adenovirus isolated from ducks showing EDS symptoms. *Acta Veterinaria Hungarica* 1985; 33:125-127.
- Baxandale W. Proceedings of the 15th Symposium Cientifico; 1977; Barcelona. Spain. p.333-343.
- Calnek BW. Haemagglutination-Inhibition Antibodies against an Adenovirus (virus 127) in White Pekin Ducks in The United States. **Avian Diseases** 1978; 22:798-801.
- Darbyshire JH, Peters RW. Studies on EDS-76 Virus Infection in Laying Chickens. **Avian Pathology** 1980; 9:277-290.
- Das BB, Pradhan HK. Outbreaks of egg drop syndrome EDS-76 virus in quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Veterinary Record* 1992; 131:264-265.
- Guittet M, Picault JP, Benejean G. Experimental soft-shelled eggs diseases (EDS 76) in guinea fowl (*Numida meleagris*). Proceedings of the 7th International Congress World Veterinary Poultry Association; 1981; Oslo, Norway. p.22.
- Harris AH. Summary of paper presentation at the Veterinarians study Group for EEC. Aalborg, Denmark; 1977.
- Hess M, Blöcker H, Brandt P. The Complete Nucleotide Sequence of the Egg Drop Syndrome Virus: An Intermediate between Mastadenoviruses and Aviadenoviruses. *Virology* 1977; 238:145-156.
- Hwang MH, Lamas JM, Hipólito O, Silva EN. Egg drop syndrome 1976 a serological survey in Brazil. Proceeding of the 6th European Poultry Conference; 1980; Hamburg Germany. p.371-378.
- Kraft V, Grund S, Monreal G. Ultrastructural characterization of isolate 127 of egg drop syndrome 1976 virus as an adenovirus. *Avian Pathology* 1979; 8:353-361.
- Liu MRS. Occurrence and pathology of rough and thin shelled eggs in ducks. *Journal of the Chinese Society Veterinary Science* 1986; 12:65-76.
- Lu Y S, Lin DF, Tsai HJ, Lee HY, Lee SY, Chui SY, Lee C, Huang ST. Outbreaks of egg drop syndrome 1976 in Taiwan and isolation of the etiological agent. *Journal of the Chinese Society Veterinary Science* 1986; 11:157-165.
- McFerran JB, Rowley HM, McNulty MS, Montgomery LJ. Serological studies on flocks showing



depressed egg production. **Avian Pathology** 1977; 6:405-413.

McFerran JB, McCracken RM, McKillop ER, McNulty MS, Collins DS. Studies on depressed egg production syndrome in Northern Ireland. **Avian Pathology** 1978; 7:35-47.

McFerran JB, Adair BM. Egg drop syndrome. Saif YM editor. Diseases of poultry. Ames: Iowa State Press; 2003. p.227-237.

Parsons DG, Bracewel CD, Parsons G. Experimental infection of turkeys with egg drop syndrome 1976 virus and studies on the application of the haemagglutination inhibition test. *Research Veterinary Science* 1980; 29:89-92.

Smith JA, Platten MA, McFerran JB. A study of pathogenesis of egg drop syndrome in laying hens. **Avian Pathology** 1988; 17:653-666.

Takai S, Higashihara M, Matumoto M. Purification and hemagglutinating properties of egg drop syndrome 1976 virus. *Archives Virology* 1984; 80:59-67.

Taniguchi TS, Yamaguchi M, Maeda H, Kawamura T. Pathological changes in laying hens inoculated with the JPA-1 strain of egg drop syndrome 1976 virus. *National Institute of Animal Health* 1981; 21:83-93.

Todd D, MacNulty MS. Biochemical studies on a virus associated with Egg Drop Syndrome 1976. *Journal General Virology* 1978; 40:63-75.

Vereecken M, Herdt P, Ducatelle R. Adenovirus infections in pigeons: a review. **Avian Pathology** 1998; 27:333-338.

Villegas P, Kleven SH, Eidson CS, Arnold F. Adenovirus 127 and Egg Drop Syndrome 76: Studies in the USA. *Proceedings of the 28th Western Poultry Diseases Conference*; 1979; Davis, California. p.62-64.

Yamaguchi ST, Imada H, Kawamura T, Taniguchi TS. Pathogenicity and distribution of egg drop syndrome 1976 virus (JPA-1) in inoculated laying hens. **Avian Diseases** 1981; 25:642-649.

Zanella AA, Di Donato A, Nigrelli A, Poli G. Egg drop syndrome (EDS 76). Etiopathogenesis, epidemiology, immunology and control of the disease. *Clinical Veterinary* 1980; 103:459-469.

Zsak L, Kisary J. Some biological and physico-chemical properties of egg drop syndrome EDS avian adenovirus strain B8/ 78. *Archives of Virology* 1981; 68:211-219.

<b>Introdução</b>	<b>723</b>
<b>Histórico</b>	<b>723</b>
<b>Distribuição geográfica e ocorrência</b>	<b>723</b>
<b>Etiologia</b>	<b>723</b>
<i>Sistemas laboratoriais de cultivo</i>	724
<b>Patogenia e Epizootiologia</b>	<b>725</b>
<i>Lesões macroscópicas</i>	725
<b>Diagnóstico</b>	<b>726</b>
<i>Isolamento e identificação do vírus</i>	727
<b>Tratamento</b>	<b>727</b>
<b>Prevenção e controle</b>	<b>727</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>730</b>

**Alberto Bernardino**

## **Introdução**

Bouba Aviária é uma doença viral das aves domésticas, sendo de disseminação lenta e caracterizando-se pela formação de lesões proliferativas da pele, discretas, nodulares, nas regiões desprovidas de pena no corpo da ave (forma cutânea), ou lesões fibrino- necróticas e proliferativas na membrana mucosa do trato respiratório superior, boca e esôfago (forma diftérica). Normalmente a mortalidade é baixa, mas pode elevar-se quando na forma diftérica ou quando da complicação por infecções secundárias ou má qualidade de manejo.

Não é uma doença de interesse na saúde pública e normalmente não afeta mamíferos, porém já foi isolado um poxvírus de um rinoceronte que foi caracterizado como poxvírus de galinha (1).

## **Histórico**

Esta doença tem sido observada em várias espécies de aves. O termo Bouba Aviária, inicialmente, incluía todas as infecções por poxvírus nas aves, mas atualmente é usado para nos referirmos à doença na avicultura comercial (galinhas e perus) (2). Os característicos corpos de inclusão intracitoplasmáticos (corpos de Bollinger) e os pequenos corpos elementares em seu interior (corpos de Borrel) foram estudados pelos doutores Bollinger e Borrel em 1873 e 1904, respectivamente. Woodruff e Goodpasture (3) mostraram indícios de que as partículas de vírus (corpos de Borrel) dentro dos corpos de inclusão (corpos de Bollinger) eram o agente etiológico da doença. Ledingham e Aberd (4) demonstraram que o antissoro produzido contra o poxvírus de galinha após a imunização ou a exposição natural seguida de recuperação aglutinava uma suspensão de corpos elementares de poxvírus de galinha.

## **Distribuição e ocorrência**

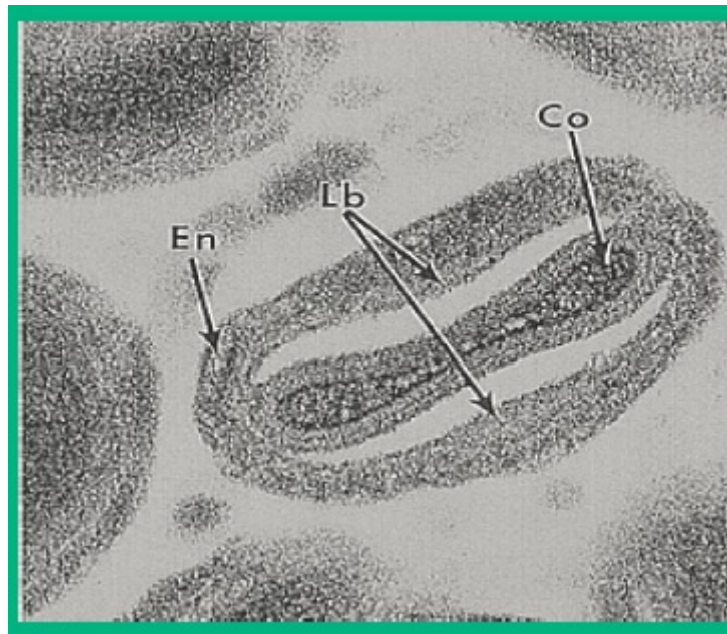
Os poxvírus avícolas infectam aves de todas as idades, sexos e raças. A infecção por poxvírus já foi relatada em aproximadamente sessenta espécies de aves silvestres, representando cerca de vinte famílias (5). A doença está distribuída mundialmente (6).

### **Etiologia**

Os poxvírus avícolas (galinha peru, pombo, codorna, canário, papagaio) são membros do gênero Avipoxvírus da família Poxviridae (7,8).

**Morfologia.** Como outros vírus da família Poxviridae, todos poxvírus avícolas mostram

morfologia idêntica. Os vírus maduros (corpos elementares) medem aproximadamente 250 x 354nm com formato ovalóide. Apresenta uma camada eletrodensa, um nucleóide bicôncavo na região central (Co), dois corpos laterais (Lb) em cada concavidade e um envelope (En) (**Figura 1**). A camada externa é composta por túbulos dispostos ao acaso (9).



**Figura 1** - Vírus da Boubá Aviária. Microscopia Eletrônica. Diseases of Poultry, ninth edition, Pox, Tripathy D. N. (Basgall).

**Composição química.** Os principais componentes do vírus são proteína, DNA e lipídeo. Hemaglutinina foi detectada em algumas cepas do poxvírus de pombo (10) e em uma cepa do poxvírus de galinha (11).

**Replicação.** A replicação dos poxvírus parece ser similar tanto no epitélio da derme ou folicular das galinhas. Células ectodérmicas da membrana cório-alantóide (CAM) e células da pele de embrião, contudo, diferenças na célula do hospedeiro e cepa viral podem refletir no tempo e na liberação de vírus. A biossíntese do poxvírus de galinha no epitélio da derme apresenta duas fases distintas: a resposta do hospedeiro caracterizada por marcante hiperplasia folicular durante as primeiras 72 horas e a síntese de vírus infeccioso de 72 a 96 horas (12,13).

A infecção de cultura de células de pele de embrião de galinha apresenta um aumento no título viral após 16 horas da infecção com evidência de efeitos citoplasmáticos. Os corpos de inclusão aparecem 72 horas pós-infecção do epitélio da derme e ao redor de 96 horas após a infecção da CAM (14).

**Resistência a agentes químicos e físicos.** Resiste à solução de 1% de fenol e formalina 1:1000 por nove dias, mas é inativado por soda cáustica a 1% quando livre no ambiente. Aquecimento por 50 °C por 30 min ou 60 °C por 8min também inativa o vírus (15). A tripsina não tem efeito sobre o DNA ou o vírus inteiro (16). Pode sobreviver em descamações de pele, secas, por meses ou até mesmo anos, dependendo das condições ambientais.

**Classificação de cepas.** Os poxvírus avícolas são antigenicamente e imunologicamente distintos um do outro, mas existem graus variáveis de relacionamento cruzado entre eles. Têm sido feitas

diferentes tentativas, por métodos imulógicos para se diferenciar as cepas, mas a caracterização genômica através da análise do DNA tem sido a mais útil para se detectar pequenas diferenças entre as cepas testadas (17).

## Sistemas laboratoriais de cultivo

**Aves.** Os poxvírus avícolas afetam uma grande variedade de aves de várias famílias, por infecção natural ou artificial. Galinhas são normalmente usadas para se determinar a patogenicidade de novos isolados de poxvírus, porém podem não ser adequados devido à provável falta de susceptibilidade.

**Ovos embrionados.** Embriões de galinha são normalmente empregados para a propagação de poxvírus na CAM, que resulta em lesões proliferativas que podem ser focais ou difusas. Ocasionalmente, isolados de aves silvestres falham no crescimento na CAM de embriões de galinha.

**Cultura celular.** Podem ser propagados em cultura de fibroblastos de embrião de galinha; cultura de células da pele e rins de embriões de galinha e fibroblastos de embriões de pato (2). Existe também uma linhagem de células, QT 35 (18), de origem de codorna, que permite o crescimento de alguns poxvírus após adaptação. Efeitos citopáticos se caracterizam na fase inicial por arredondamento das células seguida por uma fase de degeneração e necrose. Formação de placas em cultura de fibroblastos em monocamada, para alguns poxvírus, é considerado um auxiliar na diferenciação dos mesmos (19), porém só se verifica após adaptação dos vírus.

## Patogenia e Epizootiologia

**Hospedeiros naturais e experimentais.** As infecções por poxvírus de galinha e poxvírus de peru são economicamente as mais importantes. As infecções por poxvírus de canários tem especial importância para seus criadores pela possibilidade de causar grandes perdas num curto período de tempo. Também em codornas já foram relatados vários surtos.

Como infecção natural, tem sido reportada em aproximadamente 60 espécies de aves silvestres, ao redor de 20 famílias diferentes bem como em aves de gaiola (5, 20), parecendo que todas espécies aviárias são susceptíveis aos poxvírus. A infecção ocorre em aves susceptíveis em qualquer idade. A patogenia do vírus inoculado em galinhas via pele ou intra-traqueal é similar com pequenas diferenças. Aves inoculadas via pele, na membrana da asa o vírus foi detectado na pele no local de inoculação no segundo dia e nos pulmões no quarto dia pós inoculação seguido de detectável viremia no quinto dia. Em aves que receberam o vírus via intra-traqueal, o mesmo foi primeiro detectado nos pulmões no segundo dia seguido de viremia no quarto dia. O vírus foi recuperado do fígado, baço, rins e cérebro das aves de ambos os grupos.

**Transmissão.** Ocorre via mecânica:

**Insetos.** Moscas podem carregar o vírus por feridas ou injúrias da pele, ou depositá-los nos olhos, de onde o mesmo alcança a laringe, via ducto lacrimar, causando a infecção do trato respiratório superior. Mosquitos hematófagos vão infectar um número diferente de aves após terem entrado em contato com uma ave contaminada. Os mosquitos permanecem infectados por

algumas semanas e podem ser o fator determinante de uma difusão rápida da doença.

**Outros artrópodes.** O piolho, *Dermanyss gallinae*, tem sido envolvido na transmissão do vírus (21).

**Aerosóis com partículas contendo o vírus.** Descamações da pele ou folículos das penas podem gerar tanto a forma cutânea quanto a diftérica.

**Outros.** A inseminação artificial em perus fêmeas.

**Período de incubação.** Varia de 4 a 10 dias em galinhas, perus e pombos. Em canários é de quatro dias.

**Sintomas.** A doença pode ocorrer na forma cutânea, diftérica ou ambas.

**Forma cutânea.** É a apresentação mais comum nos surtos. As aves apresentam geralmente poucos sintomas como uma ligeira ou moderada redução no ganho de peso ou perdas na produção de ovos além de depressão.

**Forma diftérica.** As lesões estão na parte superior do trato respiratório ou digestivo e podem produzir dispnéia, inapetência, indução de descargas nasais e/ou oculares. A mortalidade pode ser alta. Em geral é baixa.

A gravidade dos sintomas em ambos casos vai variar de acordo com a susceptibilidade do hospedeiro, virulência do vírus, distribuição das lesões e complicações secundárias.

**Morbidade.** A taxa de morbidade varia desde poucas aves infectadas até o envolvimento de todo o lote, quando da presença de um vírus altamente agressivo e nenhuma adoção de medidas de controle. Aves afetadas com a forma cutânea podem recuperar-se mais facilmente do que aquelas afetadas pela forma diftérica com lesões no trato respiratório. Em perus a redução na taxa de crescimento tem grande importância econômica. A cegueira devido às lesões cutâneas nas pálpebras e a depressão são a causa da maioria das perdas. O curso da doença nos lotes pode variar de duas a três semanas a até seis a oito semanas para os casos mais complicados.

**Mortalidade.** A taxa de mortalidade para galinhas, perus e pombos é geralmente baixa, atingindo no máximo 50% nos casos complicados. Para canários essa taxa varia de 80 a 100%.

### **Lesões macroscópicas.**

**Forma cutânea.** As lesões variam em aparência: pápulas, vesículas, pústulas e crostas, dependendo do momento da observação. Na maioria dos surtos as crostas que variam de cor vermelho escuro ao negro se apresentam nos estágios finais da doença. Sua observação serve para estabelecer o diagnóstico. As pápulas são as primeiras lesões observadas que consistem de nódulos de cor clara na pele. As vesículas e pústulas são geralmente amarelas ocasionalmente se apresentam pequenas lesões do tipo papular. As lesões geralmente ocorrem nas regiões desprovidas de penas na cabeça e pescoço (**Figuras 2 e 3**), mas também pode ocorrer ao redor da cloaca, nas patas e nas pernas (**Figura 4**). Uma forma incomum da doença foi verificada em uma integração de frangos na região sul do Brasil, em 1991, onde as lesões se manifestaram em áreas

emplumadas do corpo das aves, sendo a grande maioria na região dorsal posterior e parte externa da coxa, sendo que só foi diagnosticada por exames histopatológico e isolamento viral. Este problema levou a muitas perdas econômicas, devido à condenação no abatedouro por processo de dermatite. A inclusão da vacina de bouba, amostra suave, junto com a vacina de Marek, no incubatório, resolveu o problema (22). Em 1996 o mesmo problema voltou a ocorrer em frangos, agora em outras integrações da região sul e foi prontamente diagnosticado e resolvido.



**Figura 2** - Bouba aviária, forma cutânea (FDAH).



**Figura 3** - Bouba aviária, forma cutânea (FDAH).



**Figura 4** - Bouba aviária - Forma cutânea (FDAH).

Forma diftérica. As lesões nas mucosas são placas sobressalentes de cor amarelada. A maioria se encontra na boca (**Figura 5**), mas podem estar presentes nos seios nasais, cavidade nasal, conjuntiva, faringe, laringe, traquéia e esôfago (**Figura 6**). Normalmente, acompanham as lesões cutâneas, mas podem estar em forma individual em algumas aves.



**Figura 5** - Bouba aviária - Forma diftérica (FDAH).

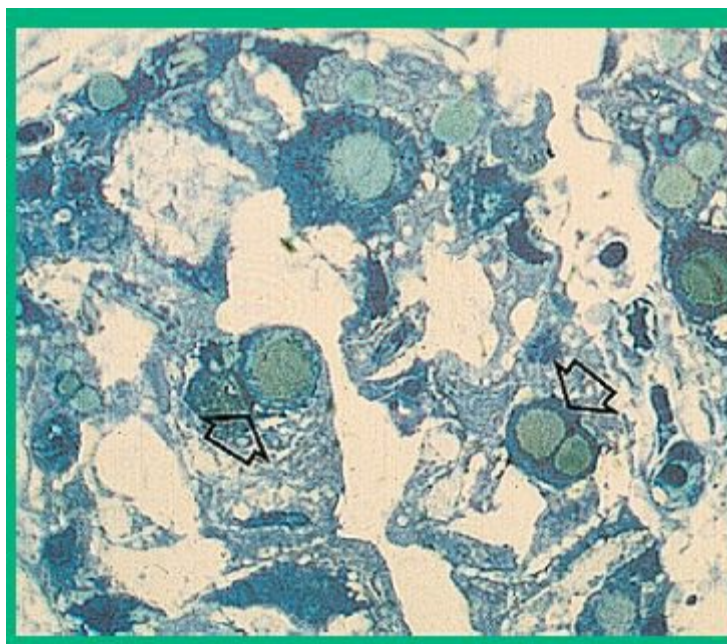




**Figura 6** - Bouba Aviária. Forma Diftérica (FDAH).

Em perus já foi observada uma forma atípica da doença em aves que já haviam recebido uma dose da vacina, apresentando lesões nas membranas dos olhos, boca e trato respiratório superior.

Lesões Microscópicas. Através de exames histopatológicos o principal quadro evidenciado é a hiperplasia do epitélio e alargamento das células associado a mudanças inflamatórias. Os característicos corpos de inclusão (corpos de Bollinger) também podem ser observados ([Figura 7](#)).



**Figura 7** - Inclusões citoplasmáticas (corpos de Bollinger). (Diseases and Disorders of the Domestic Fowl & Poultry).

Os achados na mucosa da traquéia incluem uma hipertrofia inicial e hiperplasia das células produtoras de muco com subsequente alargamento das células epiteliais (2).

Imunidade. A imunidade ativamente adquirida contra os poxvírus resulta da recuperação contra infecção natural ou da vacinação. A imunidade celular e humoral resultante da vacinação ou infecção de campo fornece proteção contra a doença (23). A imunidade celular se desenvolve antes da resposta humoral.

## Diagnóstico

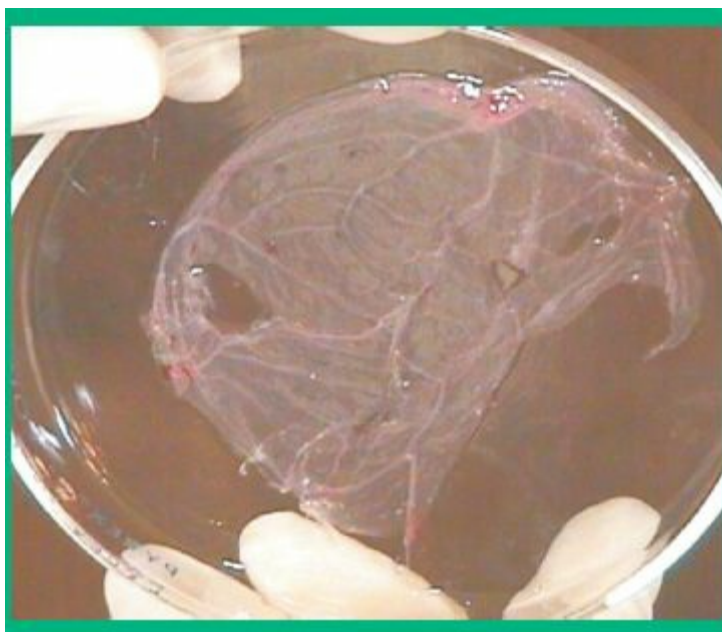
**Clínico.** Através das lesões cutâneas ou diftéricas com confirmação por exames histopatológicos (presença das inclusões citoplasmáticas) ou isolamento viral. Devem ser diferenciadas de lesões de laringotraqueíte infecciosa; deficiência de ácido pantotênico ou biotina em pintinhos (24) ou lesões de micotoxicose T-2.

**Microscópico.** Exames de cortes histopatológicos para verificação de alteração nas células do epitélio e presença dos corpos de Bollinger. No microscópio eletrônico pode-se pesquisar a presença do vírus nas lesões.

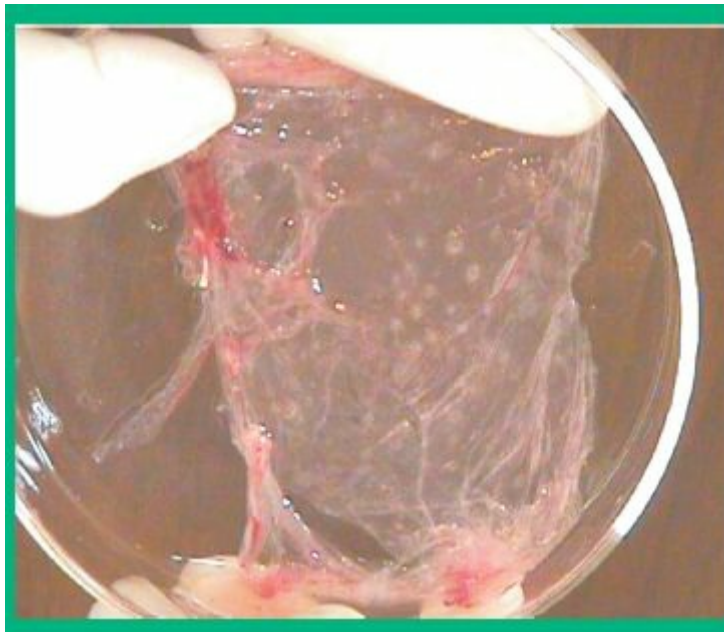
### Isolamento e identificação do vírus

**Inoculação em aves.** Através de uma suspensão preparada com lesões de aves infectadas, inoculam-se as aves susceptíveis por escarificação da crista ou punção na membrana da asa. As lesões típicas aparecerão num período de cinco a sete dias pós-inoculação.

**Inoculação em ovos embrionados.** Uma suspensão preparada a partir de lesões da derme ou diftéricas é inoculada na membrana cório-alantóide de embriões de galinhas de 9 a 12 dias de idade, provenientes de ovos SPF. Após cinco a sete dias da inoculação a membrana cório-alantóide é examinada para verificação da presença ou não de lesões (25) (**Figuras 8 e 9**).



**Figura 8** - CAM sem lesões. Controle negativo (FDSA).



**Figura 9** - CAM com lesões do vírus de bouba (FDSA).

Inoculação em cultura de células. Não é usada para isolamento inicial, pois é necessária a adaptação do vírus a esse sistema, uma vez que nem todas as cepas de poxvírus produzem efeitos citopáticos na inoculação inicial (2).

**Sorologia.** Como os "anticorpos de precipitação" são detectáveis por um curto período de tempo após a infecção, o soro deverá ser coletado geralmente ao redor de 15 a 20 dias após infecção. A prova de vírus neutralização pode ser realizada em cultura de células ou ovos embrionados, contudo não é um método prático de rotina de diagnóstico. O teste de ELISA pode ser usado para a detecção de anticorpos (26).

Outros testes que envolvem a análise do DNA do vírus já estão sendo realizados e estudados, porém, no Brasil ainda não é uma prática comum.

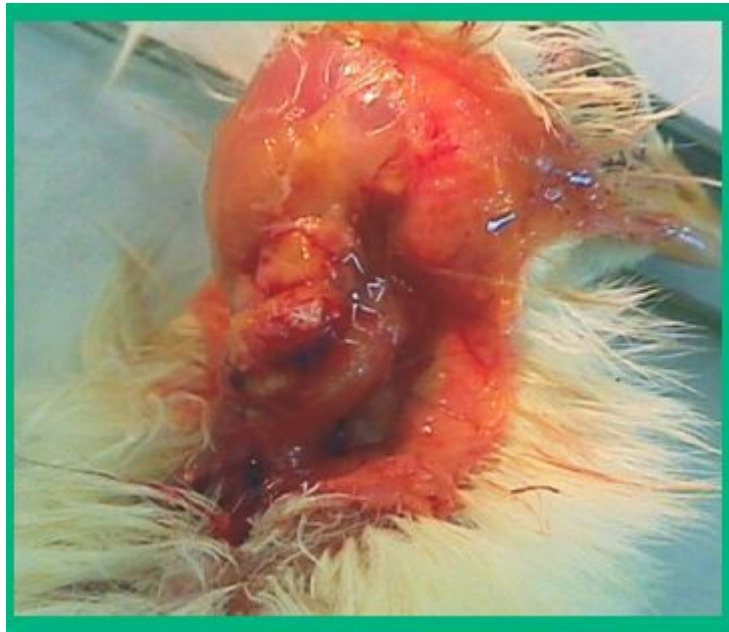
## Tratamento

Não há tratamento específico para as aves infectadas. Uma maneira de evitar problemas é adotar condições adequadas de manejo para evitar estresse ambiental.

## Prevenção e controle

Existem dois tipos de vacina de vírus vivo comumente usadas na avicultura comercial. As vacinas vírus pombo e as de vírus galinha, que atualmente são as mais usadas mundialmente. As vacinas devem apresentar um título mínimo de  $10^{2,8}$  tcid<sub>50</sub> para estimular boa imunidade e ao mesmo tempo não apresentar títulos maiores que  $10^{3,5}$  tcid<sub>50</sub> para evitar reações locais que podem contribuir para um processo de refugagem, quando utilizadas em aves de um dia de idade, que por ventura sejam os chamados "pintos de segunda categoria", ou seja, aves com menor capacidade de resistência imunológica. Com o evento da Leucose Mielóide, muitos plantéis de reprodutoras infectadas deram origem a progênes também infectadas que quando recebiam a vacina no primeiro dia de vida no incubatório, a proporção de aves com menor resistência imunológica era

maior e conseqüentemente quando submetidas à vacinação de bouba com vacinas apresentando altos títulos, apresentavam como conseqüência uma reação local mais evidente na região da vacinação, no pescoço (**Figura 10**), e isso levava a problemas de 2 a 3 % de refugagem no lote, em média.



**Figura 10** - Lesão inflamatória, por reação vacinal (altos títulos) na região cervical, envolvendo o timo e o tecido subcutâneo. Irá causar depressão e refugagem nas aves. (FDSA) (FDSA).

As vacinas podem ser preparadas em ovos embrionados ou cultura de células (fibroblastos de embrião de galinha). Hoje a grande maioria é produzida em cultivo celular.

O sucesso de um programa de vacinação depende da qualidade da vacina utilizada assim como da administração corretamente realizada, segundo as recomendações do fabricante. A vacinação produzirá, essencialmente uma "forma suave da doença" e não deverá ser realizada em lotes já infectados por outras doenças ou em más condições de saúde, onde novamente realço, a baixa resistência da ave pode levar a uma reação mais exacerbada da vacina, o quê pode ter um efeito negativo em seu organismo. Todas as aves do lote devem ser vacinadas. Caso a doença venha a ocorrer em apenas poucas aves localizadas em determinada porção do galpão, as outras aves poderão ser estrategicamente vacinadas para se evitar danos maiores (como a principal forma de transmissão se dá por mosquitos, há tempo suficiente para esta medida profilática).

O frasco de vacina deve ser aberto e preparado na hora do uso e deverá ser usado num prazo máximo de 2 horas após a diluição (este tempo varia com as condições ambientais por que passa a vacina, principalmente o calor). A vacina deverá entrar em contato com o organismo da ave apenas no local de aplicação. Todo material usado deverá ser descontaminado (descartáveis, deverão ser incinerados, preferencialmente).

A vacina produzida em embriões é aplicada via membrana da asa em aves de no mínimo quatro semanas de idade e no máximo quatro semanas antes do início da produção. A vacina produzida em cultura celular poderá ser usada em combinação com a vacina de Marek no incubatório, no 1º dia de idade, via sub-cutânea no pescoço.

A vacinação via oral com amostra suave já foi utilizada e tida como eficaz na Alemanha (27). Testes comparativos de imunogenicidade realizados com vias diferentes de aplicação (intramuscular, foliculos das penas, oral e nasal) em vários grupos com diferentes idades por Sharma e Sharma (28). Eles relataram que a via oral não forneceu proteção acima de 50% enquanto outras vias ficaram entre 80 e 100%.

Perus devem ser vacinados na membrana da asa na idade de 8 a 12 semanas. Em casos de alta infecção de campo faz-se a vacinação já no primeiro dia, no incubatório, via sub-cutânea. Para as matrizes faz-se uma revacinação quatro a oito semanas antes do início da produção. Em áreas de grande risco a revacinação é recomendada no período da produção em intervalos de três a quatro meses.

Após o processo de vacinação, ao redor de uma semana, o lote deve ser examinado para a "confirmação da vacinação", a chamada "pega" da vacina ([Figura 11](#)), que consiste na formação de pequenos nódulos na região da aplicação. Se vacina for corretamente aplicada a maioria das aves (mínimo de 90%) deve apresentar esta "pega".



**Figura 11** - A chamada "pega" (reação pós-vacinal que confirma o sucesso da vacinação ao redor de 1 semana após a mesma.

A ausência desta reação pode ser: devido a presença de imunidade na ave vacinada; uso incorreto da vacina ou vacina sem título adequado ou dose.

**Vacinas recombinantes** - Por ser um vírus que apresenta um dos mais largos genomas conhecidos, várias tentativas de se acomodar pedaços de DNA "estranhos" (de outros vírus, principalmente o de Newcastle), tem sido realizadas, no sentido de se manter a infectividade de ambos e obter-se uma vacina recombinante realmente eficaz.

**Vacinação em embriões** - Atualmente usada para Marek e Marek + Gumboro, já vem sendo utilizada também para Bouba Aviária. A grande diferença é o título utilizado, onde normalmente se trabalha ao redor de 102,0 a 102,3 tcid<sub>50</sub> /dose (29) e dependendo da vacina utilizada pode-se trabalhar com títulos ainda menores, ao redor de 101,6 a 101,8 tcid<sub>50</sub>/dose (30). A dose usada tem sido de 0,05ml, que é aplicada ao redor de 436 a 444 horas de incubação, quando o embrião

estaria mais propício a responder à mesma (pois nesse período o embrião estaria mais exposto a sofrer pequenas escoriações pela agulha, sem efeitos negativos que possam ser observados na taxa de eclosão, mas com efeitos positivos auxiliando na "pega" da vacina). As vacinas de Bouba Aviária congeladas e liofilizadas já podem ser usadas em embriões, com registro de eficácia do produto.

## Bibliografia

Andrews C, Pereira HG, Wildy P. Viruses of vertebrates. 4th ed. London: Bailliere Tindall; 1978.

Arhelger RB, Randall CC. Electron microscopic observations on the development of fowlpox virus in chorioallantoic membrane. *Virology* 1964; 22:59-66.

Avakian A, Singbeil B, Poston R, Grosse D, Klein D, Whitfill C, Tripathy D. Safety and efficacy of fowl and pigeon pox vaccines administered in ovo to SPF and broiler embryos. Embrex Technical Bulletin.

Back A, Soncini RA, Ruthes O, Madureira Jr S, Flores R. Na atypical fowlpox outbreak in broilers in southern Brazil. *Avian Diseases* 1995; 39:902-906.

Baxendale W. Immunity to fowlpox. In: Rose ME, Payne LN, Freeman BM, editors. *Avian Immunology*. Edingburgh: British **Poultry Science**; 1981. p.255-261.

Bernardino A, Inoue AY. Avaliação da eficácia de Poulvac Ovoline Pox e Chick-n-pox em pintos de corte frente ao desafio experimental com amostra patogênica de vírus de Bouba. Campinas: Fort Dodge; 2003. trabalho experimental

Carter JKY, Cheville NF. Isolation of surface tubules of fowlpox viruses. *Avian Diseases* 1981; 25:454-462.

Cheevers WP, O'Callaghan DJ, Randall CC. Biosynthesis of host and viral deoxyribonucleic acid during hiperplastic fowlpox infection in vivo. *Journal of Virology* 1968; 2:421-429.

Cheevers WP, Randall CC. Viral and cellular growth and sequential increase of protein and DNA during fowlpox infection in vivo. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1968; 127:401-405.

Chi MS, Mirocha CJ. Necrotic oral lesions in chickens fed diacetoxyscirpenol, T-2 toxin and crotoxin. *Poultry Science* 1978; 57:807-808.

Garg SK, Sethi MS, Negi SK. Hemagglutinating property of pigeonpox virus strains. *Indian Journal of Microbiology* 1967; 7:101-102.

Karstad L. Pox. In: Davis JW, Anderson RC, Karstad L, Trainer DO editors. *Infectious and parasitic diseases of wild birds*. Ames: Iowa State University Press; 1971. p.34-41.

Kirmse P. Host specificity and pathogenicity of pox viruses from wild birds. *Bulletin of the*

Wildlife Disease Association 1969; 5:376-386.

Ledingham JCG, Aberd MB. The aetiological importance of the elementary bodies in vaccinia and fowlpox. *Lancet* 1931; 221:525-526.

Matthews REF. Classification and nomenclature of viruses. *Intervirology* 1982; 17:42-46.

Mayr A, Danner K. Oral immunization against pox. Studies on fowlpox as a model. *Developments in Biological Standardization* 1976; 33:249-259.

Mayr A, Mahnel H. Charakterisierung eines Vom Rhinoceros isolierten Hühnerpockenvirus. *Arch Gesamt Virusforsch* 1970; 31:51-60.

Mockett APA, Southee DJ, Tomley FM, Deuter A. Fowlpox virus: Its structural proteins and immunogens and the detection of viral-specific antibodies by ELISA. *Avian Pathology* 1987; 16:493-504.

Morita C. Studies on fowlpox viruses. I. Plaque formation of fowlpox viruses on chick embryo cell culture. *Avian Diseases* 1973; 17:87-92.

Moscovici C, Moscovici MG, Jimenez H, Lai MMC, Hayman MJ, Vogt PK. Continuous tissue culture cell lines derived from chemically induced tumours of Japanese quail. *Cell* 1977; 11:95-103.

Odend'hal S. *The geographical distribution of animal viral diseases*. New York: Academic Press; 1983.

Petrak ML. *Diseases of cage and aviary birds*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1982.

Randall CC, Gafford LG, Soehner RL, Hyde JM. Physicochemical properties of fowlpox virus deoxyribonucleic acid and its anomalous infectious behavior. *Journal of Bacteriology* 1966; 91:95-100.

Schnitzlein WM, Ghildyal N, Tripathy DN. Genomic and antigenic characterization of avipox viruses. *Virus Research* 1988; 10:65-76.

Sharma DK, Sharma SN. Comparative immunity of fowlpox virus vaccines. *Journal Veterinary Medicine B* 1988; 35:19-23.

Shirinov FB, Ibragimova AI, Misirov ZF. Spread of fowlpox virus by the mite *Dermanyssus gallinae*. *Veterinariya* 1972; 4:48-49.

Tripathy DN, Hanson LE, Crandell RA. Poxviruses of veterinary importance; diagnosis of infections. In: Kurstak E, Kurstak C, editors. *Comparative diagnosis of viral diseases*. New York: Academic Press; 1981. v.3, p.267-346.

Tripathy DN. Pox. In: Calnek BW, editor *Diseases of poultry*. 9th ed. Ames: Iowa State University Press; 1991. p.583-596.

Uppal PK, Nilakantan PR. Hemagglutination by fowlpox, sheep pox and vaccinia viruses. *Indian Veterinary Journal* 1974; 51:451-456.

Woodruff AM, Goodpasture EW. The susceptibility of the chorio-allantoic membrane of chick embryo to infection with the fowlpox virus. *American Journal of Pathology* 1931; 7:209-222.



## Anemia infecciosa das galinhas

<b>Introdução</b>	<b>735</b>
<b>Histórico</b>	<b>735</b>
<i>Isolamento do vírus da anemia infecciosa das galinhas no Brasil</i>	736
<b>Distribuição e ocorrência</b>	<b>736</b>
<i>Prevalência da anemia das galinhas no Brasil</i>	736
<b>Etiologia</b>	<b>737</b>
<i>Classificação do vírus</i>	737
<i>Resistência química e física à inativação</i>	737
<i>Replicação viral e estrutura do genoma do CAV</i>	737
<i>Proteínas virais</i>	738
<b>Patogenicidade</b>	<b>739</b>
<i>Título viral</i>	739
<i>A idade das aves</i>	740
<i>Imunidade</i>	740
<i>Fatores de ambiente, stress e outros agentes imunossupressores</i>	740
<i>A via de infecção viral</i>	740

<i>Amostras do CAV</i>	740
<i>Análises do genoma: variabilidade biológica entre amostras do CAV</i>	741
<b>Patogenia e epizootia</b>	<b>742</b>
<i>Espécies susceptíveis</i>	742
<i>Transmissão do vírus</i>	742
<i>Período de incubação</i>	743
<i>Morbidade e mortalidade</i>	743
<i>Patogenia associada a células alvo da infecção pelo CAV</i>	743
<i>Imunossupressão</i>	744
<i>Efeito citopático do CAV em cultivos celulares in vitro</i>	744
<i>Resistência de idade à doença</i>	745
<i>Infecção subclínica pelo CAV</i>	745
<i>Latência viral</i>	746
<i>Sinais clínicos</i>	746
<b>Alterações anatomopatológicas</b>	<b>746</b>
<i>Lesões macroscópicas</i>	746
<i>Lesões microscópicas</i>	747
<b>Imunidade</b>	<b>748</b>

<i>Antigenicidade do CAV</i>	748
<i>Anticorpos para o CAV</i>	748
<i>Importância de anticorpos no controle de surtos da doença</i>	749
<b>Impacto econômico</b>	<b>749</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>750</b>
<i>Diagnóstico sorológico</i>	750
<i>Isolamento viral</i>	750
<i>Isolamento viral in vivo em aves SPF</i>	750
<i>Cultivo celular</i>	750
<i>Ovos embrionados</i>	751
<i>Imunohistoquímica</i>	751
<i>PCR</i>	751
<i>Hibridização in situ</i>	752
<i>Coleta de material para diagnóstico</i>	752
<i>Diagnóstico diferencial</i>	752
<b>Prevenção e controle</b>	<b>753</b>
<i>Controle em plantéis de aves SPF</i>	753
<b>Tratamento</b>	<b>753</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>754</b>

**Liana Brentano**

## Introdução

A anemia infecciosa das galinhas é uma doença de aves jovens, caracterizada por marcada anemia, aplasia de medula óssea, mortalidade variável, atrofia generalizada de órgãos linfóides, retardo no crescimento e imunossupressão. Surtos da doença são observados principalmente em entre as duas a cinco semanas de idade, causando significativo impacto na produção, especialmente em frangos de corte. Aves maiores de duas semanas de idade são susceptíveis à infecção, mas não desenvolvem a doença clínica. A anemia infecciosa das galinhas foi identificada pela primeira vez no Japão por Yuasa, ao isolar um agente filtrável, transmissível, o qual denominou chicken anemia agent – CAA (agente da anemia das galinhas). Este agente foi caracterizado como um pequeno vírus de DNA circular, pertencente à família Circoviridae, gênero Gyrovírus. E a denominação de agente foi substituída por vírus da anemia infecciosa das galinhas, CAV (Chicken Anemia Vírus) ou também CIAV. O efeito imunossupressor do CAV se deve à depleção de linfócitos T e alteração na expressão de mediadores químicos da resposta imune. Como consequência, surtos da doença são muitas vezes acompanhados de infecções bacterianas secundárias, no aumento da patogenia de outras doenças e em falhas de proteção vacinal a outras doenças tais como Newcastle e Marek. Também há destruição de células da medula óssea, tais como eritroblastos e hemocitoblastos, resulta em severa anemia, que pode ser acompanhada de hemorragias musculares, subcutâneas e no pró- ventrículo, implicando a infecção pelo CAV nas doenças multifatoriais associadas à síndrome hemorrágica, anemia aplástica e dermatite gangrenosa, tais como a blue wing disease ou doença da asa azul.

As galinhas são o único hospedeiro natural do vírus, que se encontra distribuído mundialmente. A anemia infecciosa das galinhas é considerada uma das viroses do complexo de doenças imunossupresoras economicamente importantes em aves.

## Histórico

O vírus da anemia infecciosa das galinhas - CAV foi inicialmente denominado CAA chicken anemia agent (agente da anemia das galinhas) pelo seu descobridor, o pesquisador Noburu Yuasa ao isolar, em 1979 no Japão, um agente filtrável, transmissível, identificado como o causador de marcada anemia com aplasia de medula óssea e generalizada atrofia de órgãos linfóides em galinhas (Yuasa et al., 1979). A marcada lesão de tecidos linfóides sugeria a importância deste agente como causa de uma doença imunossupressora em aves.

A investigação de Yuasa e colaboradores identificou que este agente não poderia ser cultivado na maioria das culturas celulares, a não ser em células linfóides MDCC-MSB-1 derivadas de tumor de Marek (Yuasa, 1982), desenvolvendo um sistema in vitro para isolamento e diagnóstico

sorológico do agente em células MSB-1 infectadas pelo agente da anemia (Yuasa et al., 1980, Yuasa, 1982). Apenas alguns anos depois, em 1983, o agente da anemia foi isolado na Alemanha por van Bülow e colaboradores (Schat, 2003), chamando a atenção para esta nova doença das aves, identificada mais tarde, em 1988 na Suécia, em 1989 nos Estados Unidos e Irlanda do Norte e em 1990 na Austrália e no Brasil. A partir de então inúmeros relatos do diagnóstico do CAV foram feitos em diversos países e atualmente é reconhecido como um vírus imunossupressor distribuído mundialmente (Schat, 2003; McNulty et al., 1989; McNulty, 1992; Yuasa e Tezuka, 1985) e economicamente importante em países com avicultura intensiva (McIlroy et al., 1992; McNulty et al., 1991).

Um levantamento sorológico para o CAV em amostras de soros colhidas entre os anos de 1959 e 1975 nos Estados Unidos detectou anticorpos na maior parte dos soros sugerindo que a ocorrência do vírus é bem anterior ao seu primeiro isolamento em 1989 (Toro et al., 2006).

Por muitos anos persistiu a denominação agente da anemia - CAA, contudo, as evidências obtidas por microscopia eletrônica de tratar-se de uma partícula viral icosaédrica de 20 a 25nm e os avanços na caracterização molecular do CAA permitiram classificá-lo como um vírus DNA, adotando-se atualmente a nomenclatura de vírus da anemia das galinhas - CAV ou também, vírus da anemia infecciosa das galinhas - CIAV (chicken infectious anemia virus). Ambas denominações, CAV e CIAV são encontradas na literatura.

### Isolamento do vírus da anemia infecciosa das galinhas no Brasil

Até o ano de 1989 a anemia infecciosa das galinhas havia sido identificada, além do Japão, também em países da Europa e nos Estados Unidos, alertando para a investigação de sua presença no Brasil. O vírus foi identificado pela primeira vez no Brasil em 1990, em frangos de corte de três a seis semanas de idade, nas regiões sul e sudeste do Brasil. Os lotes apresentavam quadros clínicos compatíveis com anemia, tais como histórico de grande desuniformidade, palidez das carcaças, medula óssea rósea a amarelada (aplasia de medula), variados graus de atrofia de timo e em alguns casos, perdas econômicas significativas também devido a condenações de carcaças por hemorragias musculares associadas ou não à dermatite, em quadros conhecidos como síndrome anemia e dermatite. Foi possível isolar e confirmar a presença do CAV utilizando-se a metodologia de isolamento e identificação do agente da anemia baseada na reprodução da doença em aves SPF, seguida da identificação do vírus nos tecidos de aves inoculadas com amostras suspeitas de anemia por teste de imunofluorescência com anticorpo monoclonal específico contra o CAV. Também foram realizados testes de imunofluorescência em culturas de células MDCC-MSB-1 infectadas com uma amostra de referência do CAV (Cux-1) para diagnóstico da presença de anticorpos em amostras de soros de matrizes e frangos de corte, identificando-se vários lotes sorologicamente positivos. Os testes realizados nos anos de 1990 e 1991 resultaram no isolamento de 14 amostras do vírus e, portanto, na evidência da anemia infecciosa das galinhas também no Brasil (Brentano et al., 1991).

### Distribuição e ocorrência

O CAV está presente praticamente em todos os países com produção avícola intensiva (Schat, 2003). Levantamentos soro-epidemiológicos demonstram que a infecção pelo CAV é altamente

disseminada na população de galinhas de diferentes países (Schat, 2003; McNulty et al., 1988; Lucio et al., 1990; McNulty, 1991; Yuasa e Tezuka, 1985), sendo a presença de anticorpos em matrizes mais freqüentemente detectada em lotes de mais de 20 a 25 semanas de idade (McNulty, 1991).

## Prevalência da anemia das galinhas no Brasil

No Brasil, levantamento realizado em 1999 em matrizes de corte de diferentes idades, de estados de produção comercial intensiva (RS, SC, PR, SP, MG, PE, PB e CE) indicou que 92% das matrizes de linhas de corte testadas apresentavam anticorpos contra o CAV e, portanto, que o vírus é altamente prevalente e amplamente distribuído também no Brasil. Os resultados individuais de cada um dos lotes testados demonstraram que as aves negativas se encontram principalmente em lotes mais jovens, de

10 a 16 semanas de idade. Comparativamente a lotes com mais de 25 a 30 semanas de idade, onde praticamente 100% das aves foram positivas com altos níveis de anticorpos, lotes de 18 a 24 semanas apresentaram maior desuniformidade no número de aves positivas e negativas e variações maiores nos níveis de anticorpos. Estes dados sugerem uma progressiva e lenta disseminação do vírus, apontando casos da ocorrência de lotes de matrizes ainda não adequadamente imunes contra o CAV no período anterior ou início do período de postura (Brentano et al., 2000).

## Etiologia

### Classificação do vírus

O vírus da anemia das galinhas, CAV (Chicken Anemia Virus), é um vírus de apenas 25 nanômetros de tamanho, com partícula de morfologia icosaédrica, sem envelope, que pode ser purificado em gradientes de cloreto de céσιο a uma densidade de 1.35 a 1.36 g/cm<sup>3</sup> (Gelderblom et al., 1989). É classificado como membro da família Circoviridae, gênero Gyrovirus. Possui um genoma de DNA circular de fita simples (Noteborn et al., 1992; Todd et al., 1990). O genoma possui três fases de leitura (ORF – Open Reading Frame), que são parcialmente justapostas e de orientação antisenso. O CAV havia sido previamente classificado juntamente ao gênero Circovírus, do qual fazem parte o Circovírus suíno e o vírus das penas dos psitacídeos, mas foi posteriormente classificado como Gyrovírus uma vez que, diferentemente do CAV, os Circovírus possuem um genoma ambisenso e o CAV não possui uma alça (Stem Loop) de nanonucleotídeos localizada no sítio de origem de replicação dos Circovírus. O CAV tem também uma estrutura de partícula viral bastante diferente, formada por unidades penta- méricas salientes e em forma de trombeta, enquanto que nos circovírus estas estruturas são planas (Crowther et al., 2003).

### Resistência química e física à inativação

O vírus da anemia das galinhas é altamente resistente à inativação química e ao calor, o que lhe confere a capacidade de persistir e disseminar-se no ambiente. O vírus resiste ao éter, clorofórmio, acetona, fenol 5%, a desinfetantes a base de ortodichlorobenzeno, amônia quaternária 5% e a pH igual a 3,0 por 3 horas. Resiste também à fumigação por 24 horas com formaldeído ou óxido de etileno e ao calor de 56o ou 70o C por 1 hora (Schat, 2003). O vírus é parcialmente

resistente a 80o C por 30 minutos, mas completamente inativado por calor de 100o C por 15 minutos. Conforme análises realizadas por Welch et al. (2006) a infectividade do CAV é reduzida aproximadamente 1,6 a 1,4log por pasteurização e 0,75 a 1,25log por tratamento de calor seco, sendo quase completamente resistente ao calor seco a 120 graus por 30 minutos, porém mais efetivamente inativado sob calor úmido a 80 graus. O CAV não resiste a fenol 50% por 5 minutos. É inativado por iodo e por hipoclorito de sódio em concentrações superiores à pelo menos 10% por 2 horas a 37oC, mas não nas concentrações usuais de 2%. Para segurança no laboratório, a autoclavagem de todo material contaminado (como órgãos, vidrarias) por 35 minutos, ou altas concentrações de hipoclorito de sódio em estufa, podem ser utilizadas para inativar o CAV. Contudo, a inativação e completa eliminação do vírus no ambiente em granjas é considerado difícil e também caro devido às altas concentrações necessárias de agentes químicos para uma mais efetiva inativação do vírus.

## Replicação viral e estrutura do genoma do CAV

A infecção pelo CAV é considerada altamente específica a células do timo e medula óssea, mas a detecção da presença de antígeno viral e isolamento do vírus são possíveis a partir de diversos órgãos das galinhas. Até hoje, foi detectada a replicação do CAV em linfócitos T precursores no córtex do timo, células T maduras no baço e células precursoras na medula óssea. A patogenia da doença, que resulta em anemia e hemorragias, está associada á infecção de várias células na medula óssea, tais como eritroblastos, hemocitoblastos e trombocitoblastos. Na medula óssea, a maioria das células infectadas possui antígenos do tipo II do complexo maior de histocompatibilidade, mas não contem características de linfócitos. O receptor celular para a infecção pelo CAV ainda não é conhecido (Miller e Schat, 2004; Schat, 2003).

Após a fase de adsorção e penetração na célula, o vírus, cujo genoma consiste de DNA de fita simples (ssDNA) de polaridade negativa, inicia uma fase replicativa onde é transcrita a fita de DNA de polaridade positiva, que é complementar ao DNA do genoma viral, formando um DNA replicativo intermediário de fita dupla que determina a transcrição do RNA (para subsequente síntese de proteínas), e a síntese do novo DNA de fita simples que comporá o genoma de novas partículas virais maduras (Noterborn et al., 1991; Noteborn et al., 1992, Phenix et al., 1994). O DNA replicativo intermediário possui 2298 ou 2319 nucleotídeos conforme a presença de quatro ou de cinco seqüências repetitivas de 21 nucleotídeos respectivamente. Estas seqüências repetitivas, juntamente com uma “TATA Box” na posição do nucleotídeo 324 e outras seqüências importantes para ligação de fatores de transcrição - proteínas celulares que atuam na ativação ou repressão da transcrição de DNA, formam parte da região denominada promotor, que sinaliza no DNA a localização de início da transcrição e os níveis de transcrição do RNA (Noteborn e Koch, 1991; Phenix et al., 1994). A região do promotor e seqüências conhecidas como facilitadoras (enhancer), compreendidas entre os nucleotídeos 1 a 324, funcionam como elementos regulatórios da replicação viral e constituem assim a porção não transcrita do genoma do CAV. O CAV é transcrito a partir de um único mRNA não clivado (unspliced), correspondente a quase a seqüência completa do genoma viral, ou seja, o DNA replicativo interme-diário é transcrito em um mRNA policistrônico, pelo qual uma mesma fita de RNA de cerca de 2.1kb é traduzida em diferentes proteínas (Schat, 2003).

No DNA replicativo intermediário, a fita de DNA de polaridade positiva é a que contém o código

para síntese de proteínas (Noteborn et al., 1992; Noteborn e Koch, 1991), contendo três moldes de leitura, ou seja, ORF (Open Reading Frame) (Kato et al., 1995) que se sobrepõe uma a outra, cada uma codificando uma das três proteínas do vírus (**Diagrama 1**): VP1, com peso molecular de 51.6 Kd, VP2, de 24kd e a menor, VP3 de apenas 13.6kd (Kato et al., 1995; Noteborn et al., 1992a). A estrutura do genoma viral e a presença de diferentes fragmentos de DNA de fita dupla e de fita simples circulares e lineares durante o processo de replicação viral na célula sugerem que o CAV utilize o mecanismo de replicação conhecido como círculo rolante (rolling circle) (Meehan et al., 1992).

## Proteínas virais

Uma das primeiras caracterizações das proteínas do CAV foi feita por Chandratilleke et al. (1991), que identificaram três proteínas com pesos moleculares de cerca de 45, 30 e 16kda. Análises da composição de proteínas presentes em partículas virais purificadas, realizadas por meio de testes de imunoprecipitação e eletroforese de proteínas, detectaram apenas a proteína maior VP1, com peso molecular estimado entre 50 a 52kda, indicando que VP1 constitui a única proteína estrutural. VP1 compõe o capsídeo do vírus e tem na sua região C- terminal motivos que são associados com o mecanismo de replicação do DNA viral por círculo rolante.

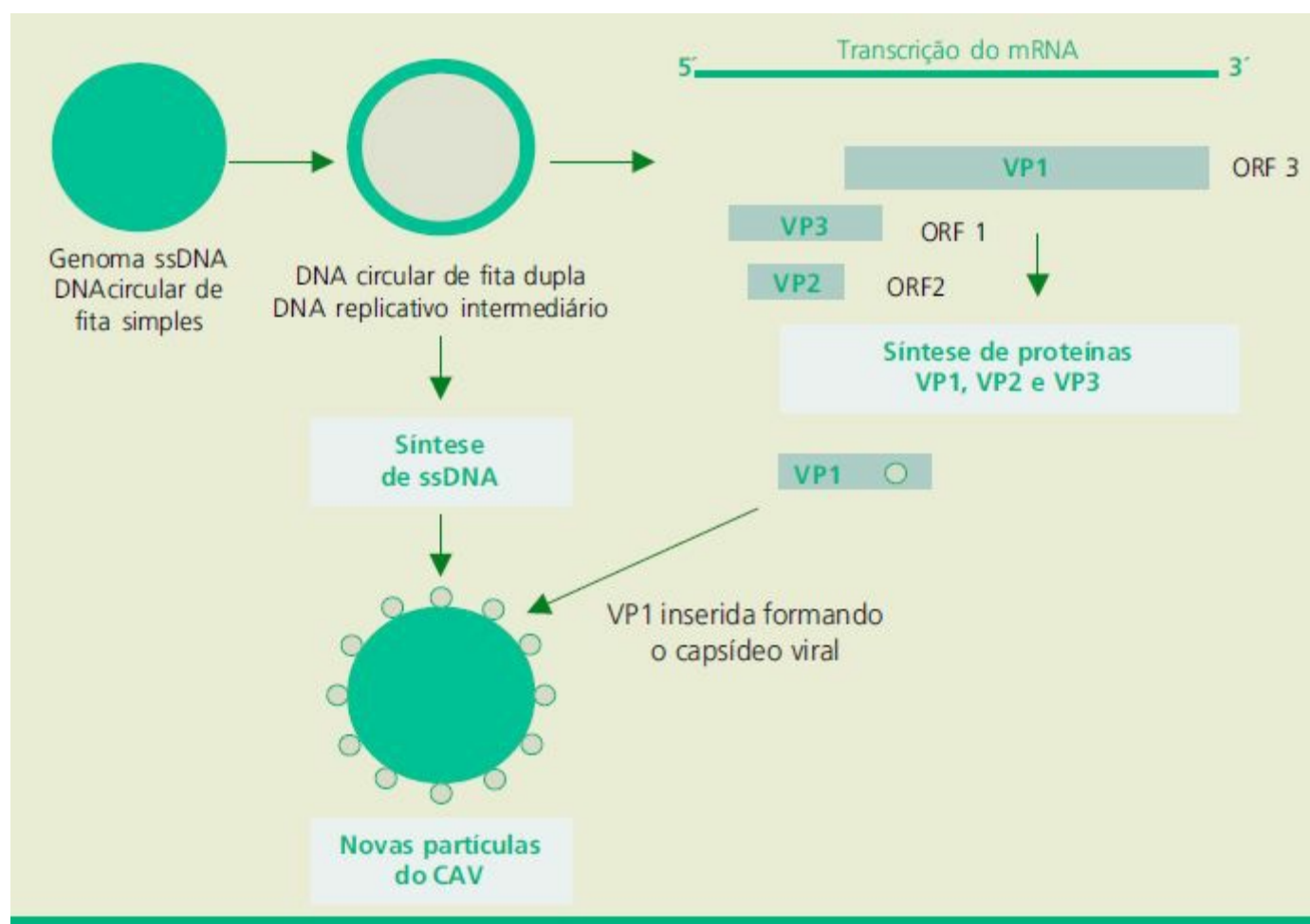
As proteínas VP2 e VP3 são detectadas apenas em células infectadas, mas não na partícula viral purificada, devendo ser sintetizadas durante o curso de replicação do vírus na célula, mas não são incorporadas nas novas partículas virais maduras, constituindo assim em proteínas não estruturais do vírus.

A proteína VP3 pode ser detectada na célula já nas primeiras seis horas após a infecção, enquanto VP1 demora pelo menos 30 horas. Em experimentos de isolamento e identificação do CAV no Brasil, foram realizadas as inoculações de galinhas SPF com amostras de campo do CAV, seguidos de testes de imunofluorescência com anticorpo monoclonal específico contra o CAV, desenvolvidos por Schat e colaboradores na Universidade de Cornell (EUA) (Chandratilleke et al., 1992), para detecção específica do vírus nas aves inoculadas. Órgãos destas aves, coletados entre os 10 e 18 dias após inoculação apresentavam mais intensa fluorescência entre os 10 a 12 dias após a infecção, enquanto que os sintomas e lesões se tornavam evidentes entre 14 a 18 dias após inoculação e a detecção de antígeno viral por imunofluorescência era então praticamente negativa, sugerindo que a síntese viral é mais intensa no período que precede o aparecimento dos sintomas.

A proteína VP2 é uma proteína-fosfatase de dupla especificidade (DSP – dual-specificity) (Peters et al., 2002). VP2 é expressa em baixas quantidades na célula, uma característica de muitas proteínas virais não estruturais com funções regulatórias do ciclo de infecção e replicação viral. VP2 possui um motivo com assinatura característica para atividade de serina, treonina e tirosina fosfatase, exercendo influência na capacidade de replicação do vírus, na citopatogenicidade assim como tendo papel na redução da expressão do Complexo Maior de Histocompatibilidade da classe I (MHCI) nas células infectadas (Peters et al., 2002). Análises subsequentes com amostras do CAV nas quais foram introduzidas diferentes combinações de mutações em VP2 demonstraram que diferentes mutações em VP2 (aminoácidos C86 → R, R101 → G, H103 → Y, R129 → G, Q131 → P, R/K/K150 → A, 151/152G → A/A, D/E161 → G, D/E162 → G e E186 → G) mantiveram os vírus infecciosos para pintos, mas reduziram significativamente a



capacidade de induzirem lesões e retardo no crescimento das aves. Estes achados demonstram que a introdução de mutações em VP2 pode reduzir a virulência do CAV e que a geração de novos vírus com mutações em VP2 pode ser usada como estratégia de desenvolvimento de vacinas atenuadas (Peters et al., 2007).



**Diagrama 1** - Replicação do CAV.

Em experimentos de expressão *in vitro* das proteínas VP1 e VP2, Noteborn et al. (1998b) verificaram que a produção de anticorpos neutralizantes contra o CAV requer uma interação entre estas duas proteínas e que por ensaios de imunoprecipitação ambas proteínas interagem diretamente uma com a outra, sugerindo que a proteína não estrutural VP2 deve funcionar também como um molde para a formação da partícula viral madura.

*In vitro*, a proteína VP3 induz apoptose (Noteborn, 1999), ou seja, morte celular programada, em células transformadas, mas não em células normais. VP3 é rapidamente compartimentalizada no núcleo de células transformadas, porém no caso de células normais, não transformadas, permanece localizada no citoplasma (Danen Van Oorschot et al., 1997). VP3 possui um sinal de transporte nuclear, que permite o seu transporte ao núcleo da célula e a indução de apoptose em células transformadas. Este transporte de VP3 ao núcleo depende do seu estado de fosforilação, que parece ser regulado pela proteína VP2 do CAV. Desta forma, VP2 exerce também papel na regulação da apoptose celular. Peters et al. (2006) formularam a hipótese de que, uma vez que replicação do CAV ocorre no núcleo da célula, seja possível que a compartimentalização de VP3 no citoplasma resulte em prolongamento do período latente da infecção pelo CAV na célula.

# Patogenicidade

A severidade da anemia infecciosa das galinhas pode ser bastante variável, estando diretamente vinculada a diferentes fatores.

## Título viral

A severidade da doença está associada ao título viral a que se expõem as aves (McNulty et al., 1990). Quanto maior a quantidade de vírus, mais marcados são os sintomas e lesões. Tan e Tannock (2005) também identificaram que quanto maior a quantidade de DNA viral detectada nos tecidos das aves maior é a extensão de sinais clínicos observados. As maiores concentrações de vírus foram detectadas no timo, sangue coagulado e no pâncreas, enquanto que a quantidade de vírus presente nos embriões foi muito menor do que o detectado nas galinhas.

## A idade das aves

Normalmente o desenvolvimento dos sintomas e das lesões se manifesta com maior evidência em aves infectadas nos primeiros dias de vida. Portanto, quanto maior o número de aves infectadas verticalmente, maior o número de aves infectadas já no primeiro dia de vida. Maior será também a imediata disseminação horizontal do vírus já nos primeiros dias de vida do lote pela excreção viral pelas fezes de galinhas infectadas e maior a morbidade da doença. Aves infectadas verticalmente ou com um dia de idade podem desenvolver severa atrofia do timo e medula óssea, retardo no crescimento e imunossupressão que acarreta em diversas complicações decorrentes de infecções secundárias e aumento de patogenicidade de outros agentes.

Um estudo com aves infectadas entre três a seis semanas de idade pela via oral, buscando reproduzir a transmissão horizontal do vírus a campo em aves sem anticorpos passivos, detectou a presença de antígeno do CAV e alterações histopatológicas nos timos das aves infectadas com três e seis semanas de idade, indicando que o CAV é capaz de infectar tímócitos e causar sua depleção também em aves mais velhas. Contudo, diferentemente do que é observado nas infecções de pintinhos de um dia de idade, antígeno do CAV foi raramente detectado em outros tecidos, foram encontradas muito poucas células infectadas na medula óssea e as aves não desenvolveram anemia tampouco atrofia de medula óssea (Smyth et al., 2006). Outro trabalho comparou os resultados de carga viral e pesos dos órgãos em grupos de aves infectadas pela via intra-ocular com um dia e seis semanas de idade. O pico de presença de vírus, analisada por PCR quantitativo, foi aos 18 dias após a inoculação nas aves mais jovens e aos 20 dias nas aves infectadas com seis semanas de idade, sugerindo que a infecção de aves mais velhas resulta em níveis de replicação viral ativa similares à observada em aves de um dia e pode resultar em infecções sub-clínicas com o potencial de aumento da suscetibilidade a outras infecções (Kaffashi et al., 2006).

## Imunidade

O nível de anticorpos maternos neutralizantes transferidos à progênie, número de aves na progênie com anticorpos passivos e a persistência destes anticorpos passivos protetores no lote, que duram em média três semanas (McNulty et al., 1988; Otaki et al., 1988b), determinam a susceptibilidade à doença. A ausência ou níveis baixos, de anticorpos neutralizantes nos primeiros dias de vida acarretam na infecção clínica com o desenvolvimento de sintomas e lesões.

## Fatores de ambiente, stress e outros agentes imunossupressores

Contaminações por micotoxinas, ou infecções virais imunossupressoras concomitantes tais como as causadas por reovírus, gumboro, leucose aviária e Marek (Otaki et al., 1988) sinergisticamente agravam os quadros de anemia (Schat, 2003).

## A via de infecção viral

Em vários experimentos de inoculação experimental do CAV tem ficado evidente que a via parenteral (intramuscular ou intraperitoneal) é mais efetiva para induzir a doença. Em aves infectadas pela via intramuscular os sintomas clínicos aparecem mais cedo do que nas aves infectadas pela via oral. As vias oral, nasal e ocular são menos efetivas em induzir anemia e como consistem das vias normais de disseminação horizontal do vírus a campo, os sintomas e lesões em certos lotes podem vir a ser relativamente brandos, dependendo da associação dos outros fatores determinantes da severidade da doença (Tan e Tannock, 2005).

## Amostras do CAV

Há um relato no Japão de uma amostra do CAV, a TK 5583, identificada como sendo mais patogênica que outras amostras Japonesas do vírus (Goryo et al., 1989). Em outro trabalho, a amostra CAV- 10343 foi caracterizada como sendo particularmente virulenta uma vez que foi capaz de induzir atrofia do timo e lesões histológicas na bursa, baço e fígado de galinhas infectadas às 10 semanas de idade, o que é uma característica não observada anteriormente no CAV (Toro et al., 1997). Devem-se interpretar com cautela os resultados de estudos de patogenicidade do CAV face as grandes variações de condições experimentais utilizadas em diferentes trabalhos publicados, especialmente tomando-se em conta as evidências de que diversos outros fatores além da amostra viral determinam também a gravidade da doença e das lesões induzidas pelo CAV.

A atenuação de uma amostra de CAV foi obtida através de 50 a 173 passagens em células MSB-1, e a análise de restrição do genoma desta amostra atenuada também indicou diferença no perfil molecular quando comparada a amostras patogênicas, indicando que o vírus atenuado tornara-se geneticamente distinto. Entretanto, a patogenicidade foi restabelecida após 10 passagens da amostra atenuada em pintos (Todd et al., 1995). Todd et al. (1998) observou que após 320 passagens do CAV em culturas de células MDCC-MSB-1 houve grande redução da patogenicidade, redução do crescimento do vírus nas células e reduzido efeito citopático, indicando que a adaptação do vírus após alto número de passagens afeta o crescimento do vírus em células linfóides.

Análises subseqüentes realizadas em pintos de um dia com as amostras atenuadas derivadas do vírus Cux-1 não produziram anemia tampouco lesões no timo e medula óssea, causando apenas moderada depleção de células T, demonstrando que, ao contrário de amostras patogênicas do CAV, as amostras atenuadas têm reduzida capacidade de infectar e destruir linfócitos T precursores no córtex do timo. Estes resultados sugerem que nas infecções pelo CAV a redução da patogenicidade para pintos de um dia está relacionada com a menor severidade da depleção de linfócitos T no timo e com redução da severidade das lesões no timo e medula óssea (McKenna et al., 2003).

Scott et al. (1999) realizou 310 passagens do CAV em células e correlacionou as diferenças de crescimento do vírus em cultivo celular como sendo determinada pela substituição do aminoácido treonina → alanina na posição 89 da proteína VP1. O seqüenciamento de 12 amostras brasileiras do CAV não adaptadas a células também encontrou a conservação do aminoácido treonina na posição 89, confirmando que esta substituição é resultado de passagem do vírus em células (Nogueira et al., 2007), mas não é possível afirmar se de fato apenas esta substituição resulta em alguma alteração da proteína e seja suficiente para o estabelecimento de efetiva replicação viral *in vitro*.

### Analises do genoma: variabilidade bio- lógica entre amostras do CAV

O CAV, assim como muitos vírus com genoma de DNA, é um vírus cujo genoma se mantém relativamente conservado. O seqüenciamento do DNA da amostra padrão Cux-1 do CAV, originalmente isolada na Alemanha, assim como de diferentes amostras isoladas em diferentes países têm demonstrado grande similaridade nas seqüências de DNA e um alto grau de conservação das seqüências de aminoácidos codificadas pelo genoma do CAV. Análises baseadas na amplificação por PCR da região que codifica a proteína estrutural VP1 e a subsequente análise do DNA amplificado com enzimas de restrição para definir perfis moleculares indicou algumas variações no genoma quando foram comparados vírus isolados de diferentes países (Todd et al., 1992). Mas, estas discretas diferenças moleculares entre diferentes amostras do CAV não resultam em variações antigênicas do vírus. O alinhamento de seqüências de DNA dos genes VP2, VP3 e parte de VP1 de 12 amostras brasileiras do CAV diagnosticadas em surtos da doença ocorridos entre os anos de 1990 a 2003 e não propagas em cultivo celular, demonstrou haver 96% a 100% de homologia dos nucleotídeos entre os vírus analisados. Quando comparados com a amostra padrão Cux-1 adaptada a cultivos celulares esta homologia variou entre 89% a 92%. Outra análise de seqüências de parte do gene VP1 (539 nucleotídeos) de 44 amostras brasileiras do CAV obtidas de aves com e sem evidencia clinica a campo da doença encontrou 10 grupos de seqüências de vírus, não tendo sido encontrada, porém relação entre as seqüências e patologia dos vírus ou sua distribuição geográfica. Uma das amostras obtidas de um lote de aves com sintomas severos apresentou uma substituição do aminoácido na posição 65 de VP1 (Q65 → R65) (Simionatto et al., 2006). Contudo, não é possível inferir qualquer correlação desta substituição com patogenicidade uma vez que o seqüenciamento de outras amostras brasileiras do CAV demonstrou a conservação do aminoácido Q65 em amostras isoladas de surtos graves da doença e que foram confirmadas como altamente patogênicas por inoculação experimental em pintos SPF e não julgadas como altamente patogênicas apenas por diagnóstico clínico à campo. Ambos trabalhos de análises de seqüenciamento de amostras brasileiras do CAV verificaram a ocorrência de vírus com a substituição de Y98 → F98 não observada anteriormente (Simionatto et al., 2006; Nogueira et al., 2007).

Apesar da relativa alta conservação do genoma do CAV, já foram identificadas algumas diferenças biológicas e moleculares entre determinadas amostras do vírus. Uma quarta ORF foi identificada na amostra CAA-82-2 por Kato, no Japão (21) e na amostra CIA-1 isolada nos Estados Unidos foram encontrados quatro repetições (Direct Repeats) na região do promotor (seqüência de DNA que sinaliza e determina a transcrição do genoma), em contraste a cinco repetições presentes no promotor da amostra Cux-1 (Phenix et al., 1994).

Há diferenças biológicas na capacidade de diferentes amostras do CAV em replicarem-se em diferentes células MSB-1, a exemplo da amostra americana CIA-1 (Lucio et al., 1990), que causa apenas moderado efeito citopático dependendo da sublinha de células MSB-1 (Renshaw et al., 1996) e amostras isoladas no Brasil (Nogueira et al., 2007). Tentativas de adaptar amostras brasileiras do CAV a células MDCC-MSB-1 de baixa passagem ou a sublinha MSB-1-NTC, consideradas mais indicadas ao isolamento do CAV, tem resultado negativas. Estas diferenças na permissividade celular ao CAV foram estudadas por meio de seqüenciamento e alinhamentos das seqüências de DNA de amostras distintas quanto à capacidade de cultivo em sublinhas de células MSB-1. Renshaw et al. (1996) investigaram o comportamento de diferentes amostras do CAV assim como quimeras virais construídas pela combinação de diferentes partes do genoma da amostra Cux-1 propagável em diferentes sublinhagens de células MSB-1 com partes do genoma da amostra CIA-1 que tem limitado tropismo a células. Foi identificado que a porção N-teminal da proteína VP1 contém uma região hipervariável e que esta região exerce papel como determinante do tropismo do vírus a células, sendo que determinadas substituições de aminoácidos em VP1 (K139 Q e D144 → Q), uma substituição em VP2 (A153 → V153) e uma em VP3 (R118 → C118) influenciam o tropismo e os níveis de crescimento do vírus em cultivo celular. Apesar destes resultados sugerirem que amostras não adaptáveis a culturas de células MSB-1, tais como amostras do CAV isoladas no Brasil, pudessem ser todas mais diretamente relacionadas a amostras não adaptadas a células, análises das seqüências dos genes VP2 e VP3 e parte de VP1 (845 nucleotídeos) demonstraram que nem todos os vírus brasileiros seqüenciados, assim como seqüências de amostras isoladas em outros países depositadas no banco de genomas, possuem um padrão de seqüências de aminoácidos únicos de amostras de vírus não adaptáveis a células, sugerindo que deve ser mais investigada a combinação de substituições nestes genes com a análise de regiões regulatórias no genoma, que possam também influenciar o tropismo do vírus (Nogueira et al., 2007). Foi, por exemplo, demonstrado que amostras do CAV com mutações na região do promotor-facilitador do genoma do CAV apresentam reduzida capacidade de disseminação e de citopogenicidade, mas mantém a capacidade de se replicarem e formarem partículas virais capazes de induzir adequada resposta imune de anticorpos. Estas amostras virais mutantes foram consideradas pelos investigadores como potenciais candidatas ao desenvolvimento de novas vacinas atenuadas contra a anemia infecciosa das galinhas (Noteborn et al., 1998). Foi desenvolvida na Universidade Cornell, nos Estados Unidos uma nova linhagem de células linfoblastóides derivada de tumores da doença de Marek, denominada MDCC- CU147, muito mais permissiva ao isolamento do CAV do que diferentes sublinhagens de células MDCC-MSB-1. Esta linhagem de células foi demonstrada por van Santen et al., (2007) como capaz de permitir a propagação de uma amostra do CAV que replica pobremente *in vitro*, resultando em efeito citopático e completa destruição das células CU-147 após nove dias em cultura, enquanto o vírus não foi capaz de destruir as células MSB-1 mesmo após passagens por oito semanas (van Santen et al., 2007). Estes resultados indicam a necessidade de se buscar adaptar as amostras brasileiras do CAV a esta nova linhagem de células associando-se a novas investigações mais compreensivas do genoma destes vírus.

Yamaguchi et al. (2001) relataram que o aminoácido na posição 394 da proteína VP1 possa ser um importante determinante genético de virulência do CAV. A presença de glutamina nesta posição foi associada a amostras altamente patogênicas, enquanto os vírus menos patogênicos teriam uma substituição por histidina nesta posição. Uma análise de quatro amostras do CAV isoladas na Índia, identificadas como patogênicas para aves SPF de um dia de idade também apresentavam

glutamina na posição 394, reforçando a hipótese de que este aminoácido possa ser um marcador de patogenicidade (Natesan et al., 2006).

Há evidências, portanto, de diferenças no tropismo celular de diferentes amostras do CAV e possivelmente possa haver potenciais diferenças também na patogenicidade, que são também determinadas pelo hospedeiro.

## Patogenia e epizootia

### Espécies susceptíveis

A galinha é a única espécie conhecida como sendo susceptível à infecção e desenvolvimento da doença. Testes sorológicos em perus e patos não detectaram anticorpos contra o CAV e perus infectados não desenvolvem anticorpos nem doença. Não há evidência de que o vírus infecte e cause doença na espécie humana, não consistindo o CAV em riscos à saúde pública e alimentar (Schat, 2003).

### Transmissão do vírus

O vírus da anemia das galinhas é transmitido verticalmente pela matriz ao embrião, infectando sua progênie, ou horizontalmente através do contato com pintos infectados verticalmente, ou por camas contaminadas, onde a disseminação do vírus é favorecida pela alta resistência do CAV à inativação. Na transmissão horizontal, a principal via de infecção é oral, principalmente a partir do vírus excretado nas fezes de aves infectadas. Os galos podem transmitir o vírus através do sêmen até que venham a desenvolver anticorpos (Hoop, 1993).

Após a infecção inicial da ave com o CAV, a excreção pelas fezes pode durar até cinco semanas, período em que matrizes infectadas transmitirão o vírus horizontalmente ao restante do lote (Hoop, 1992). O período estimado como sendo o tempo necessário para que o vírus se dissemine horizontalmente e infecte a maioria das aves no plantel, ocorrendo também à transmissão do vírus a progênie, é de cerca de três a seis semanas após a infecção inicial do lote de matrizes. Após este período as matrizes desenvolvem uma resposta imune ativa, com produção de anticorpos maternos neutralizantes considerados protetores contra a transmissão vertical do vírus (Yuasa et al., 1980). As matrizes não imunes, enquanto transmitirem o vírus verticalmente ao embrião, causarão a ocorrência da doença na sua progênie e, portanto são consideradas como a mais importante causa de surtos da anemia infecciosa das galinhas a campo.

Há um estudo em que foi identificado que, quando da reinfecção de matrizes sorologicamente positivas, a excreção do CAV se mantém por apenas quatro dias nas fezes e não foi possível isolar o vírus dos embriões, sugerindo uma limitada capacidade de transmissão viral tanto horizontal como vertical por matrizes imunes. A reinfecção das aves resulta no desenvolvimento de anticorpos que persistem pelo menos seis ou mais meses (Shat, 2003).

### Período de incubação

O período de incubação, compreendido entre a infecção inicial e manifestação de sintomas e lesões, pode variar de 10 a 21 dias, dependendo da carga viral infectante, condições de manejo ou

outras doenças concomitantes e da amostra viral circulante. Uma vez que galinhas infectadas com mais de duas a três semanas mais raramente desenvolvem a doença clínica, este período de incubação determina que surtos da anemia das aves a campo sejam mais comumente observados em lotes de aves de duas a cinco semanas de idade (Schat, 2003).

## Morbidade e mortalidade

A mortalidade e morbidade em surtos da doença podem variar muito. A mortalidade varia desde apenas 2% a 20% dependendo da severidade da doença, sendo mais comum uma mortalidade em volta de 1% a 5%. A morbidade chega freqüentemente a 100% (Schat, 2003).

## Patogenia associada a células alvo da infecção pelo CAV

As lesões e efeito imunossupressor do CAV estão diretamente relacionados às células infectadas pelo vírus. O CAV precisa de células em divisão para replicar, infectando células mielóides progenitoras na medula óssea, linfócitos T precursores e também timócitos mais maduros no córtex do timo, células T imaturas e células mononucleares do baço, No baço o CAV pode infectar também células com características de linfócitos T citotóxicos (“CTL - Cytotoxic T Cells”) que expressam os receptores CD8 e TCRab. O CAV não infecta macrófagos, mas a doença acarreta em alteração na função de macrófagos possivelmente em decorrência de a infecção de outras células resultar na alteração da expressão de diversas citocinas (Miller e Schat, 2004; Schat, 2003). Não é bem compreendido o fato de o CAV não infectar células B precursoras uma vez que tem a capacidade de replicar in vitro em cultivos celulares linfóides de linhagens de células B de galinhas. Calnek et al. (2000) encontraram diferenças na susceptibilidade de diferentes linhagens de células T à infecção pelo CAV, mas não foi possível detectar diferenças quanto à presença de determinados receptores destas células (CD4, CD8, TCRab1 ou TCRab2) que identificassem algum marcador da diferença de susceptibilidade ao vírus entre as diferentes linhagens de células.

O CAV causa apoptose de timócitos e hemocitoblastos, células importantes ao desenvolvimento de imunidade. A perda de hemocitoblastos, que são células precursoras, acarreta na redução de eritrócitos necessários à produção de hemácias, de trombócitos necessários a geração de células do sistema de coagulação e de granulócitos precursores de células de respostas inflamatórias, causando aplasia de medula óssea, anemia, hemorragias e baixa resposta contra infecções secundárias. Os trombócitos são essenciais não apenas para coagulação, mas também para a fagocitose em aves, assim como secretam diversas citocinas e enzimas necessárias para a iniciação de respostas inflamatórias. A redução de trombócitos deve assim também ter efeito importante como causa de infecções secundárias. Hemocitoblastos e timócitos são importantes tanto para imunidade inata (resposta imune primária) como para imunidade adquirida e sua redução acarreta também em importantes conseqüências na capacidade de resposta imune das aves (Miller e Schat, 2004).

## Imunossupressão

A característica marcante e importante da infecção pelo CAV é a depressão da função do sistema imunológico das aves. O impacto da infecção e destruição de células T pelo CAV no funcionamento do sistema imune ainda requer mais estudos. Foi demonstrado que há redução na resposta de linfócitos e macrófagos a partir dos oito dias após a infecção, resultando em níveis

reduzidos de transformação de linfócitos e de produção de linfocinas, em alteração na função de macrófagos e na produção de interferon e interleukina-2 por esplenócitos (McConnel et al., 1993b). O decréscimo no número de células T citotóxicas foi observado principalmente entre os 11 e 15 dias após a infecção, podendo iniciar também a partir sétimo dia após a infecção. Markowski-Grimsrud e Schat (2003) demonstraram que a replicação conjunta do CAV e do vírus da reticuloendoteliose (REV) resulta na ausência de desenvolvimento de resposta por linfócitos T citotóxicos, ou CTLs (“Cytotoxic T Lymphocytes”) contra o REV aos sete dias após a infecção, mesmo quando as aves foram infectadas com ambos vírus tardiamente, aos 30 ou 45 dias de idade. A ausência de resposta por CTLs contra o REV foi associada à infecção pelo CAV e mais provavelmente causada pela replicação do CAV em CTLs imaturos, resultando em apoptose destas células. Em contraste ao efeito nos linfócitos T citotóxicos, a replicação do CAV não resultou em alteração da atividade de células T matadoras, conhecidas como células NK (Natural Killer). De acordo com Miller e Schat (2004), a evidência de que o desenvolvimento de resposta de CTL contra outros patógenos possa ser comprometido pela replicação do CAV em células T precursoras pode ter conseqüências práticas no controle de outras doenças, especialmente naquelas em que a proteção depende da geração de CTLs patógeno-específicos. Um exemplo seria a possibilidade de que infecções pelo CAV sejam responsáveis pela ocorrência de casos de doença de Marek tardia, a qual poderia ocorrer como conseqüência da infecção pelo CAV uma vez que o vírus afeta a capacidade de reativação da resposta de CTLs contra o vírus da doença de Marek.

Também a expressão do complexo Maior de Histocompatibilidade da classe I (MHCI) fica reduzida em células infectadas pelo CAV, e é mediada pela proteína VP2. A redução da expressão do MHCI sugere a interação do CAV com vias de mensagens celulares nos linfócitos T pode constituir, portanto, em um possível mecanismo viral para a supressão das respostas por linfócitos T citotóxicos (Peters et al., 2006).

O comprometimento da função do sistema imune aumenta a predisposição a infecções oportunistas ou secundárias por bactérias e fungos. A infecção pelo CAV já foi associada à ocorrência de dermatite gangrenosa, edema maligno, colibacilose e aspergilose pulmonar. O efeito imunossupressor do vírus está vinculado a inadequados níveis de respostas imunes vacinais e aumento da patogenia de outras infecções (Adair et al., 1993), tais como quebra de resposta a vacinações contra a doença de Marek devido à severa redução da resposta imune celular, mediada por linfócitos T contra o vírus vacinal HVT, resultando em uma síndrome de alta mortalidade similar à causada por cepas variantes muito virulentas do vírus de Marek (Otaki et al., 1988). São relatadas também reduzidas respostas imunes humorais à vacinação ao vírus de Newcastle (Box et al., 1988), agravamento de problemas respiratórios nas aves mesmo por cepas vacinais atenuadas do vírus de Newcastle (Cloud et al., 1992), exacerbação da patogenia do vírus da bronquite infecciosa e efeito sinérgico no agravamento da patogenia de outros vírus imunossupressores como vírus da doença de gumboro e do reovírus (Schat, 2003). Um trabalho avaliando a associação do CAV e vírus da doença de gumboro com casos de bronquite infecciosa verificou que o isolamento do IBV foi consistente- mente maior em frangos de 27 a 43 dias de idade, coincidindo com depleção de linfócitos na bursa, fornecendo evidência circunstancial de que a imunodeficiência e incidência de IBV estão relacionadas (Toro et al., 2006b).

**Efeito citopático do CAV em cultivos celulares *in vitro***



O CAV pode ser propagado em cultivos de células linfoblastóides, tais como a linhagem MDCC-MSB-1, que consistem de culturas de linhagem de linfócitos derivadas de tumor do vírus da doença de Marek e que crescem na forma de suspensão, não formando monocamadas aderentes. Quando cultivado nestas células, o CAV causa um efeito citopático, ou seja, alteração na morfologia das células, caracterizado pelo aumento do tamanho e refratibilidade das células, formação de grumos de células e morte celular. Experimentos de clonagem dos diferentes genes que codificam as proteínas do CAV, a transfecção de clones destes genes e sua expressão *in vitro* em cultivos celulares foram utilizados para caracterizar a estrutura e funções moleculares das proteínas do vírus. Foi assim identificado que a proteína VP3 está associada à indução de apoptose, ou seja, morte celular, que é específica para as células linfóides, sendo este o mecanismo responsável pelo efeito citopático do vírus (Noteborn e Koch, 1995; Noteborn et al., 1998; Zhuang et al., 1995). A apoptose é normalmente um mecanismo fisiológico de regulação de crescimento celular, também conhecido como morte celular programada, mas que também pode ser induzida na célula por outros fatores, como determinadas infecções virais. Por exemplo, a apoptose é considerada um dos mecanismos básicos da morte celular causada pelo vírus da AIDS (HIV) e responsável, em parte, pela imunossupressão causada pelo vírus da doença de gumboro, devido à ativação da apoptose em linfócitos. A proteína VP3 do CAV, através da indução de apoptose, exerce importante função na patogenia do CAV (Noteborn et al., 1998).

### Resistência de idade à doença

Uma importante característica da infecção pelo CAV é a resistência de idade da ave ao desenvolvimento da doença. Apenas pintinhos infectados nos primeiros dias de vida desenvolvem a doença clínica, enquanto que aves infectadas após as duas ou três semanas de idade não apresentarão sintomas ou lesões. Portanto, a via de transmissão vertical é considerada a importante forma de indução da doença clínica a campo. Mas, deve-se observar também que a alta resistência do CAV à desinfecção permite que o vírus persista no ambiente e assim, lotes de pintos de um dia alojados, caso não possuam adequados níveis de anticorpos maternos passivos contra o CAV, são infectados horizontalmente já nos primeiros dias de vida, podendo desenvolver sintomas da doença.

A resistência de idade ao desenvolvimento de sintomas e lesões da anemia infecciosa das galinhas foi demonstrada através de experimentos de inoculação experimental do CAV. A inoculação parenteral do vírus em aves SPF, livres de anticorpos contra o CAV, demonstrou que o vírus é patogênico especialmente em pintos de um dia de idade, com incidência de anemia em até 100% de aves quando inoculadas dos um aos quatro dias de idade, enquanto as aves inoculadas com mais de duas semanas de idade se infectam com o vírus, mas desenvolvem uma infecção sub-clínica, caracterizada pela ausência de lesões e acompanhada de sor conversão, ou seja, desenvolvimento de anticorpos em resposta a infecção. O mecanismo da resistência de idade à doença clínica está relacionado à proteção conferida por anticorpos bursa dependentes (Yuasa et al., 1980; Yuasa et al., 1988). Por exemplo, embriões em que a bursa é removida desenvolvem lesões mesmo quando infectados após 21 ou 38 dias de idade (Hu et al., 1993; Yuasa e Nakamura, 1988), observação experimental que demonstra as importantes implicações de infecções concomitantes com outros agentes imunossupressores amplamente distribuídos, tais como o vírus da doença de gumboro (Cloud et al., 1992). Estes vírus ou outros agentes imunossupressores, ao comprometerem a bursa deprimem a resposta de anticorpos das aves, podendo assim induzir a

quadros de anemia também em aves infectadas após as duas ou três semanas de idade, retardando o período normalmente observado em surtos da doença, demonstrando a importância do sinergismo decorrente de infecções mistas, imunossupressoras, nos quadros da anemia infecciosa das galinhas a campo.

### Infecção subclínica pelo CAV

Também o curso subclínico da doença, onde não há evidência de sintomas e lesões e que se estabelece em aves infectadas após as três semanas de idade, via transmissão horizontal, resulta em efeitos adversos na função de macrófagos através da redução na expressão de receptores Fc, reduzindo a sua capacidade de fagocitose para eliminação de microorganismos e alterando a apresentação de antígenos, função necessária para indução de resposta imune. Foi demonstrado também que infecções subclínicas pelo CAV interferem na transcrição de interferon-alfa de galinha (ChIFN- $\alpha$ ) e de interferon gama (ChIFN- $\gamma$ ), reduzindo a capacidade de resposta imune contra o CAV e os autores propõe que esta redução de expressão de interferon possa ser usada como método para avaliar o estado imune das aves infectas pelo CAV (Ragland et al., 2002).

Há ainda uma redução na produção de interleucina-1 por ambos linfócitos e macrófagos, citocina que é essencial no desenvolvimento e regulação da resposta imune e na maturação de linfócitos (McConnel et al., 1993a). Portanto, infecções sub-clínicas também resultam em alteração na função de células do sistema imune. Apesar de não haver outros trabalhos que comprovem na prática esta potencial imunossupressão demonstrada in vitro, uma análise econômica de lotes com infecção subclínica revelou um lucro líquido 13% inferior em frangos de corte com infecção subclínica, diagnosticada pela presença de anticorpos contra o CAV na idade de abate das aves, quando comparados a lotes sorologicamente negativos para o CAV, sugerido portanto um impacto econômico negativo que pode estar associado também a infecções subclínicas pelo CAV (McIlroy et al., 1992).

### Latência viral

Foi demonstrado que a presença de anticorpos por até 12 meses não elimina a presença de DNA do CAV nos tecidos reprodutivos de aves SPF (Cardona et al., 2000), assim como nos órgãos dos embriões com maior incidência de detecção do DNA no baço e tecidos reprodutivos embrionários (Miller et al., 2003). Também em galinhas comerciais, apesar de apresentarem altos títulos de anticorpos neutralizantes, foi detectada a presença de DNA do CAV nas gônadas (ovário e infundíbulo) e nos seus embriões aos 21 dias de incubação (Brentano et al., 2005). Devido às evidências de que seja comum a ocorrência de soroconversão no período de maturação sexual das aves SPF, a presença de DNA viral nas gônadas de machos e fêmeas e em ovos férteis, Schat e colaboradores na Universidade Cornell, Estados Unidos, tem investigado a hipótese de que o CAV possa permanecer latente, ou seja, com presença de DNA viral nos tecidos. Miller et al. (2005) investigaram se o CAV pode vir a ser induzido a expressar proteínas e formar partículas virais e se a regulação da expressão gênica viral pode ser influenciada por mecanismos de regulação do sistema reprodutivo das aves. No genoma do CAV a sequência 5' na região não transcrita do genoma funciona como promotor e facilitador para a transcrição do genoma, sendo que esta sequência pode variar, contendo quatro ou cinco regiões de repetições diretas (DR – Direct Repeat) de 21 pares de base com insertos de 12 pares de base entre algumas destas regiões, dependendo da amostra do CAV. Estes DR são necessárias para a eficiente transcrição e

replicação do CAV. Em análises do provável envolvimento de Receptores de Estrogênio (ER – Estrogen Receptors) e outros receptores nucleares na regulação do CAV ao nível de transcrição do genoma viral foi observado que seqüências próximas ou no sítio de iniciação de transcrição do genoma do CAV funcionam como repressores de transcrição, identificando que a expressão do CAV pode ser modulada por proteínas da superfamília de receptores nucleares. Sem transcrição, ou seja, sem a cópia de RNA mensageiro, não ocorre a síntese de proteínas e não há formação de novas partículas virais. A repressão da expressão gênica viral é uma estratégia utilizada por muitos vírus latentes para limitar a produção de suas proteínas e evadir o sistema imune. A presença do CAV nos tecidos reprodutivos e as interações entre receptores nucleares com a região do promotor/facilitador no genoma do CAV podem, portanto, ser responsáveis pelo estabelecimento de latência e aumento localizado de expressão do vírus, acarretando em passagem do vírus ao embrião e, desta forma, para a próxima geração. Há a hipótese de que seja possível que o vírus possa se replicar no embrião nos tecidos reprodutivos em desenvolvimento, depois ficar latente até ser reativado na maturidade sexual – o que explicaria a freqüente ocorrência de soro-conversão tardia geralmente por volta da maturidade sexual em aves SPF.

A região promotora no genoma do CAV tem fortes níveis de expressão basal, ou seja, tem capacidade de continuada expressão que funciona como um mecanismo de controle importante quando as aves são expostas a altos títulos virais – o que é a situação mais comum no caso de infecções verticais ou horizontal a campo, onde as aves são normalmente expostas a altas quantidades de vírus. Segundo Miller e colaboradores (2005) a presença de altas doses de vírus parece ficar bem acima do limiar necessário de disponibilidade de fatores repressores da célula para que ocorra um controle repressivo de expressão do vírus e para que se mantenha um estado de latência nestes casos. O estabelecimento de latência deve, portanto, mais provavelmente ocorrer em produções de aves SPF, onde o mais comum pode ser uma baixa contaminação viral, ou em aves comerciais com baixo desafio pelo vírus.

## Sinais clínicos

Os sinais clínicos não são únicos ao CAV, não sendo portanto muito claros ou específicos. Pode ser observada depressão das aves, retardo no crescimento e grande desuniformidade do lote especialmente em frangos. O mais sugestivo é a presença de anemia, evidenciada por graus variados de palidez da musculatura, cristas e barbelas. Podem ser observadas hemorragias musculares e dermatites secundárias (Schat, 2003).

## Alterações anatomopatológicas

### Lesões macroscópicas

Em surtos da doença a severidade das lesões pode ser bastante variável. As lesões de timo e medula óssea são as mais consistentes e sempre presentes na anemia infecciosa das galinhas se apresentando, contudo, em diferentes graus de severidade, variando de discreta a marcada atrofia do timo e medula óssea. A aplasia de medula óssea varia de uma cor mais rósea ou amarelada pela deposição de gordura nos casos mais graves, mas pode se apresentar também com coloração vermelha escura, caso em que as lesões de medula óssea são identificadas apenas histologicamente. A atrofia de bursa e de baço podem ser bem menos óbvias que a atrofia de timo

e as lesões de medula óssea. A presença de hemorragias subcutâneas ou musculares e no pró-ventrículo pode ser ou não evidentes, dependendo da severidade da anemia induzida nas aves. A destruição de hemocitoblastos na medula óssea, a qual pode ser evidente a partir dos 8 dias após a infecção, determina a ocorrência de anemia e também resulta em hemorragias, uma vez que os hemocitoblastos dão origem aos trombócitos e sua redução implica em maior susceptibilidade a hemorragias. (Adair, 2000).

A maior severidade de alguns quadros de hemorragias tem sido atribuídos também à infecção concomitante do CAV com certas cepas de reovírus e associadas como causa de surtos de anemia infecciosa das galinhas descritos na literatura como blue wing disease e outras condições relacionadas à síndrome hemorrágica e dermatites (Schat, 2003). Os adenovírus foram inicialmente implicados como causa de hemorragias em galinhas, mas esta observação foi feita em apenas um trabalho. Diferentes experimentos de inoculação experimental do CAV em diferentes laboratórios comprovaram que CAV pode também causar por si só hemorragias, sugerindo que as amostras de adenovírus testadas na época, estivessem contaminadas com o CAV.

A caracterização da patogenia do CAV tem sido demonstrada principalmente por meio de experimentos de inoculação experimental de pintos SPF de um dia de idade, livres de anticorpos para o vírus da anemia, com suspensões de órgãos como timo, medula óssea ou fígado de galinhas de lotes suspeitos, ou com amostras de referência do vírus propagadas em células MSB-1. A infecção resulta geralmente no desenvolvimento de sintomas e lesões entre 10 a 21 dias após inoculação. Em experimentos com amostras do CAV isoladas no Brasil, as lesões macroscópicas foram usualmente mais evidentes entre os 14 até os 18 dias após inoculação. A infecção resulta no retardamento do crescimento, depressão, a medula óssea apresenta-se rósea a amarelada, há marcada atrofia do timo e anemia. Valores de hematócritos normais nas aves variam em média de 30 a 35%, sendo que valores inferiores a 27% caracterizam anemia. Dependendo da severidade da doença induzida experimentalmente nas aves, os hematócritos podem atingir valores inferiores a 10% e nestes casos mais severos é mais marcada ainda a depressão e retardo do crescimento das aves infectadas. A atrofia do timo pode ser tão intensa a ponto do timo ser quase imperceptível na necrópsia. Pode ocorrer mortalidade variável, dependendo do título de agressão do vírus, assim como hemorragias musculares causadas pela alteração no tempo de coagulação do sangue. Durante a caracterização de amostras do vírus da anemia no Brasil, o desenvolvimento destas lesões foi confirmado como sendo unicamente causado pelo CAV através de experimentos de inoculação em pintos SPF com amostras positivas para o CAV filtradas em filtros de 50 nanômetros, que permitem filtrar o CAV por ter apenas 25 nanômetros, excluindo a contaminação por vírus maiores como reovírus, adenovírus e gumboro. As amostras filtradas e testadas como comprovadamente livres destes outros vírus, reproduziram as mesmas lesões de anemia, aplasia de medula óssea, marcada atrofia do timo e também hemorragias musculares (Brentano et al., 1991).

Outra característica da infecção pelo CAV é a subsequente recuperação destas aves a partir dos 21 a 28 dias após a infecção, com o completo desaparecimento das lesões por volta das quatro semanas. Apesar da recuperação das lesões demonstrada experimentalmente, na doença a campo há seqüelas já estabelecidas em decorrência da imunossupressão e perdas na produção devido a desuniformidade dos lotes, menor rendimento ou condenação das carcaças e outros custos como terapias antibióticas contra infecções secundárias, dependendo da severidade apresentada pela

doença a campo.

## Lesões microscópicas

Histologicamente, entre 11 a 18 dias após inoculação as principais lesões observadas são: no timo, marcada depleção de linfócitos no córtex e hiperplasia de células reticulares resultando em completa perda da arquitetura do timo; na medula óssea há o desaparecimento de células hematopoiéticas da medula óssea, das séries eritrocíticas e granulocíticas, com proliferação de tecido conjuntivo nos cones de cartilagem da metafise óssea; no baço há redução de centros germinativos, decréscimo do número de linfócitos, proliferação de células reticulares e ocasional presença de focos necróticos; na bursa de Fabrício há redução no tamanho dos folículos, com poucos linfócitos e aumento de tecido

interfolicular e células linfóides com núcleos picnóticos e vacúolos no citoplasma podem ser freqüentemente observados; no fígado pode ser observado edema intersticial, necrose focal e mudanças degenerativas nos hepatócitos e às vezes infiltração de macrófagos (Brentano et al., 1991; Smyth et al., 1993). A partir dos 18 a 21 dias inicia-se um processo de recuperação das lesões, podendo ser observadas alta atividade mitótica no córtex do timo e progressivo aumento do número de linfócitos. Na medula óssea há evidência de aumento de atividade granulopoiética e eritropoiética focal, atividade hemopoiética e muitos eritrócitos imaturos. No baço a aparência histológica pode já parecer normal. Aos 26 a 28 dias pode haver completa recuperação das lesões (Smyth et al., 1993).

## Imunidade

### Antigenicidade do CAV

Resultados de testes de soroneutralização cruzada com diferentes amostras do vírus demonstraram não haver diferentes sorotipos do vírus (Schat, 2003; McNulty et al., 1990; Yuasa e Imai, 1986). Há apenas um relato do isolamento de um vírus antigênicamente distinto do CAV, mas com as mesmas características físico-químicas quanto a resistência a inativação térmica, a pH e ao clorofórmio e capaz de induzir doença clínica e lesões macro e microscópicas similares, porém menos severas que as causadas comparativamente a uma amostra de referência americana do CAV (Del-Ross). Quatro testes sorológicos diferentes (ELISA, soroneutralização imunofluorescência e western blot) resultaram na ausência de reação sorológica cruzada entre este novo vírus, identificado como CIAV-7, e a amostra Del-Ross do CAV e os autores sugerem que o CIAV-7 possa representar a ocorrência de um novo sorotipo do CAV nos Estados Unidos. (Spackman et al., 2002a; 2002b).

A ocorrência de apenas um sorotipo implica em que, independentemente da amostra circulante, são induzidos anticorpos neutralizantes contra os diferentes vírus. O estudo da antigenicidade das três proteínas do vírus, VP1, VP2 e VP3, expressas cada uma independentemente em baculovírus demonstrou que, quando inoculadas separadamente em matrizes, não induzem níveis significativos de anticorpos neutralizantes contra o CAV e que a progênie destas matrizes não fica protegida contra agressão pelo vírus. A imunização de matrizes com a associação das proteínas VP1 e VP2 é necessária para indução de níveis adequados de anticorpos maternos neutralizantes

contra o CAV e obtenção de nível suficiente de proteção contra o desenvolvimento de doença na progênie (Koch et al., 1995). VP1 é a proteína do capsídeo viral e é importante à indução de anticorpos neutralizantes protetores. A interação entre as proteínas VP1 e VP2 é condição necessária ao desenvolvimento de anticorpos neutralizantes, mais provavelmente sendo que VP2 se associa a VP1 no processo de maturação do vírus na célula infectada, determinando a conformação de VP1 ou participando na apresentação de epítomos para indução de anticorpos neutralizantes (Koch et al., 1995).

Resultados da produção de anticorpos monoclonais contra o CAV demonstraram também que das três proteínas virais, VP3 é a mais imunogênica no caso da indução de anticorpos precipitantes, reativos em testes de imunofluorescência (Chandratilleke et al., 1992).

## Anticorpos para o CAV

Estudos com a expressão de proteínas recombinantes do CAV demonstraram que resposta por anticorpos neutralizantes e proteção passiva da progênie contra a doença requer a apresentação de pelo menos ambas as proteínas VP1 e VP2 do CAV. Aves imunizadas apenas com cada uma das proteínas, VP1, VP2 ou VP3 separadamente não desenvolvem altos títulos de anticorpos neutralizantes e não conferem adequada proteção passiva (Koch et al., 1995).

Em experimentos de inoculação em pintos SPF de um dia de idade, foi demonstrado que anticorpos neutralizantes são detectados apenas a partir dos 21 dias após inoculação intramuscular do vírus. Em contraste, quando as aves são inoculadas entre duas a cinco semanas de idade, período este em que são suscetíveis à infecção, mas não ao desenvolvimento da doença, a resposta imune é mais rápida, com o aparecimento de altos títulos de anticorpos aos sete a oito dias após inoculação. Esta diferença no período de aparecimento de anticorpos parece estar vinculada a imunossupressão em consequência do desenvolvimento de doença, a qual se estabelece caso a infecção ocorra na fase de idade susceptível, significativamente comprometendo a capacidade de resposta imune para o desenvolvimento de anticorpos. A habilidade de produzir anticorpos neutralizantes ou a presença de anticorpos neutralizantes passivos são um fator importante para reduzir a replicação do vírus e previnem o desenvolvimento de doença clínica. Contudo, apesar de reduzir a replicação do vírus, os anticorpos não eliminam completamente o vírus na ave, podendo também se estabelecer uma infecção latente nos tecidos reprodutivos. Cardona et al. (2000), detectaram o genoma do CAV mais frequentemente nos ovários de galinhas e nos vasos deferentes de galos e em alguns casos nos baços de aves SPF. Brentano et al. (2005) demonstraram a ocorrência de lotes de matrizes comerciais que, mesmo com altos títulos de anticorpos neutralizantes, podem ser positivas para DNA do CAV nas gônadas assim como em seus embriões, sugerindo que as aves podem permanecer latentemente infectadas e transmitir o CAV verticalmente para a progênie.

## Importância de anticorpos no controle de surtos da doença

Em lotes de matrizes tem sido observado que estas desenvolvem anticorpos gradualmente, por um período que varia de três a seis semanas após a infecção inicial. Neste período entre a infecção e desenvolvimento de anticorpos, as aves podem ainda excretar vírus, que se dissemina mais rápida ou lentamente no lote dependendo das condições do ambiente e sistema de alojamento das aves. Após este período passam a manter uma imunidade relativamente duradoura contra o CAV. Uma

vez adequadamente imunes e desta forma com capacidade de transmitirem níveis suficientes de anticorpos passivos, estas matrizes passam a conferir completa proteção passiva contra o desenvolvimento da doença clínica na sua progênie (Schat, 2003; Goryo et al., 1987b; Yuasa et al., 1980). Devido à sua alta resistência à inativação, o CAV tem a capacidade de persistir no ambiente e desta forma muitos lotes de matrizes se infectam na fase de recria via transmissão horizontal do vírus, desenvolvendo imunidade e transmitindo assim anticorpos maternos à progênie já no início da postura e, portanto, surtos de anemia clínica podem ser menos comuns na progênie destes lotes matrizes.

A proteção conferida à progênie pela imunidade passiva depende do título de anticorpos neutralizantes presentes no soro das matrizes. Títulos de anticorpos neutralizantes pelo menos maiores que 8 ( $\log_2$ ) tem sido indicados como os títulos mínimos necessários para controlar a excreção do vírus pelas fezes e evitar a transmissão vertical à progênie (Hoop, 1992). Os anticorpos passivos transferidos se mantêm na progênie por em média até três semanas. A queda de anticorpos maternos inicia um período susceptível em que as aves podem vir a se infectar horizontalmente, desenvolvendo, porém uma infecção sub-clínica e subsequente imunidade ativa contra o vírus. Portanto, a presença de anticorpos ao CAV em frangos de corte em idade de abate, mesmo que nunca tenham desenvolvido a doença, é um diagnóstico da infecção sub-clínica no lote.

Um levantamento de níveis de anticorpos contra o CAV em plantéis de matrizes e avós correlacionou a prevalência de anticorpos com proteção. A ocorrência de surtos de blue wing disease foi observada na progênie de aves que soro- converteram tardiamente e que estavam negativas no início da postura, mas não em lotes de aves vacinadas (Engström, 1999).

Portanto, a distribuição do vírus na população de aves, o período compreendido entre a infecção inicial e transmissão do vírus, a uniformidade quanto à totalidade de aves imunes no lote e os níveis de anticorpos passivos transferidos à progênie são fatores que determinam a distribuição e incidência de surtos de anemia, que é considerada uma doença importante, especialmente sob o ponto de vista de seu impacto imediato nos níveis de produção de frangos de corte.

## Impacto econômico

O impacto econômico do CAV não foi ainda estimado no Brasil, mas como ilustração às potenciais perdas econômicas causadas por surtos da doença, um estudo abrangendo a análise do impacto econômico dos efeitos da anemia clínica demonstrou que quando os custos, associados ao tratamento antibiótico das infecções bacterianas secundárias, foi levado em conta, em surtos envolvendo a síndrome anemia e dermatite devido à infecção pelo CAV em frangos de corte, os lotes afetados tiveram um lucro líquido de 17,3 a 19,6% inferiores do que em lotes normais. E ainda, as médias de ganho de peso foram de até 3,5% inferiores e a média de mortalidade (com pico por volta das três semanas) foi de 2,0 a 2,3% maiores nos lotes infectados pelo vírus da anemia quando comparados a lotes normais (McIlroy et al., 1992). Foi verificada uma correlação significativa entre a presença de anticorpos contra o CAV, indicativo de que houve infecção prévia pelo vírus, e taxas de condenações pós morte sugerindo haver ligação entre infecção pelo CAV e complicações secundárias e seu impacto econômico na produção (de Herdt et al., 2001). Um estudo realizado por Hagood et al. (2000) concluiu que o CAV foi mais frequentemente detectado em lotes doentes do que normais e este achado foi associado com atrofia de bursa e timo,

acompanhado de aumento de mortalidade e das taxas de condenações de carcaças das aves.

## Diagnóstico

### Diagnóstico sorológico

O diagnóstico sorológico indica a exposição das aves ao CAV via detecção de anticorpos produzidos em resposta à infecção. Os testes utilizados incluem a imunofluorescência indireta (IFA), imunoperoxidase (IP), testes de soroneutralização (SN) em cultivo celular (Jorgensen et al., 1995; Yuasa e Tezuka, 1985) ou ELISA (Todd et al., 1990). Os testes de IFA, IP e SN são bastante demorados, exigem adequada estrutura laboratorial de cultivo celular e experiência para interpretar corretamente os resultados e tem sido menos utilizados do que testes de ELISA. Os testes de ELISA, por permitirem um resultado bastante rápido de um grande número de amostras e também quantificarem os níveis de anticorpos no soro, têm sido mais amplamente aplicados para o monitoramento sorológico de plantéis de matrizes, que é necessário para estabelecer o status imune dos lotes e com base nos resultados, estabelecer a necessidade de adotar e delinear estratégias de controle baseadas na imunização das aves. A sorologia é um método de diagnóstico mais indicado na monitoria da presença e níveis de imunidade nos lotes e mais dificilmente tem valor diagnóstico de doença atualmente, com vistas à longa duração da imunidade em resposta à infecção e evidências de alta soroprevalência do vírus em plantéis de galinhas comerciais.

### Isolamento viral

O diagnóstico da presença de infecção ativa pelo CAV é feito pelo isolamento do vírus em células ou *in vivo* em pintos SPF de um dia de idade (Brentano et al., 1991; McNulty et al., 1990; Yuasa e Imai, 1986). O CAV não cresce em células de cultivo primário de aves ou em outras células de linhagem normalmente utilizadas para cultivos de vírus e uma das poucas células permissivas para o cultivo do CAV, são células de linhagem linfoblastóide, sendo as células MDCC-MSB-1 e MDCC-CU147 as mais frequentemente utilizadas. Porém, conforme já abordado nas características biológicas do vírus, diferentes amostras do CAV podem variar quanto a permissividade de células MSB-1 para o isolamento e cultivo do vírus.

### Isolamento viral *in vivo* em aves SPF

O isolamento do CAV *in vivo* em aves SPF é um método baseado na reprodução dos mesmos sintomas clínicos, bem como lesões macro e microscópicas, (Brentano et al., 1991; Yuasa et al., 1979). No laboratório de virologia da Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves, o isolamento viral é feito através da inoculação intramuscular ou intraperitoneal, em pintos SPF de um dia de idade, livres de anticorpos para o CAV, com 0,1 mL de suspensões a 10% de órgãos como timo, medula óssea ou fígado coletados de aves de lotes suspeitos. Estas suspensões são previamente tratadas com clorofórmio para eliminar vírus envelopados contaminantes, tais como o vírus da doença de Marek. As aves são mantidas em isoladores com ar filtrado e pressão positiva durante 14 a 17 dias após a inoculação. As aves são sacrificadas para coleta de órgãos e sangue com anticoagulante (EDTA sódico) para determinação dos hematócritos. Hematócritos de aves controles não inoculadas variam de 30 a 35% e hematócritos inferiores a 27% são considerados positivos para anemia. O diagnóstico de anemia, associado a lesões macroscópicas de atrofia do



timo, medulas ósseas róseas a amareladas, acompanhadas ou não de hemorragias musculares indicam o isolamento do CAV in vivo. O isolamento in vivo é bastante demorado, levando no mínimo duas a três semanas e na análise dos resultados não pode ser descartada a possibilidade de contaminação do material de campo por outros vírus bastante freqüentes como reovírus, vírus da doença de gumboro e adenovírus, que apesar de não induzirem anemia e atrofia do timo, podem exacerbar as lesões e induzir a uma incerta interpretação de maior ou menor patogenicidade da amostra de CAV isolada in vivo. O isolamento viral in vivo pode ser apoiado pelas lesões histológicas compatíveis com a anemia infecciosa das galinhas e confirmado por diagnóstico por PCR, por soro-conversão das aves ao CAV após três a quatro semanas da inoculação ou ainda por testes como imunofluorescência com anticorpo monoclonal para o CAV em cortes congelados dos órgãos como timo, fígado e baço coletados. Mas comparativamente ao PCR, estes últimos testes tem demonstrado relativa baixa sensibilidade. Como alternativa ao isolamento viral, muitos laboratórios vem usando o diagnóstico por PCR, conforme descrito a seguir, por ser uma técnica mais rápida e mais específica tanto para a confirmação do isolamento do vírus in vivo, assim como, principalmente, para o mais rápido diagnóstico diretamente em amostras de campo.

## Cultivo celular

O CAV não cresce em células de cultivo primário de aves, tampouco em diferentes células de linhagem comuns ao diagnóstico virológico. As únicas células permissivas ao CAV são células T linfoblásticas MDCC-MSB-1, as mais utilizadas para isolamento e propagação do vírus, assim como células T linfoblásticas MDCC-JP2, a linhagem de célula B linfoblástica LSCC-1104B1.

Células MSB-1 de diferentes sublinhas variam na permissividade ao vírus, e devem ser preferencialmente utilizadas células MSB-1 de baixa passagem. Foi desenvolvida uma nova linhagem de células linfóides, MDCC-CU147 que tem se mostrado muito mais sensível ao isolamento do vírus (Calneck et al., 2000). Após a inoculação das células com suspensões de órgãos, são normalmente necessárias pelo menos cinco a oito passagens do vírus nas células em intervalos de dois a três dias até que possa ser claramente observado o efeito citopático do vírus, o que torna o diagnóstico também bastante demorado. Segundo preconizado por Yusa e colaboradores, ao desenvolverem o método para o isolamento do CAV, após este número mínimo de passagens as células não infectadas se mantêm crescendo rapidamente, acidificando o meio de cultura, que se torna amarelado. Células onde seja isolado o CAV passam a crescer mais lentamente e após algumas passagens fica mais evidente a morte das células, conseqüentemente não acidificando o meio de cultura, que se mantêm em sua cor rósea ou avermelhada. Esta coloração vermelha, do meio de cultura das células e mortalidade celular, são consideradas evidência definitiva do isolamento do vírus, que pode ser confirmada através de imunofluorescência ou imunoperoxidase com anticorpos contra o CAV.

## Ovos embrionados

O vírus pode ser propagado em ovos embrionados com cinco dias de incubação, inoculados no saco da gema, mas pode haver variação na produção de lesões e mortalidade do embrião, dependendo das amostras virais. As cepas padrão Cux-1 e Gifu, isoladas no Japão não causam lesões, enquanto que outras amostras podem causar mortalidade entre 16 a 20 dias, às vezes hemorragias, edemas e redução no tamanho do embrião. Os títulos virais podem ser baixos, com maiores títulos virais encontrados no embrião aos 14 dias de incubação e não na membrana

alantóide ou na gema. Os pintos eclodidos parecem normais, mas desenvolvem anemia sete dias após a eclosão e mortalidade aos 10 a 15 dias de idade, sugerindo que a indução da doença pode ser mais severa através da inoculação in ovo do que a inoculação parenteral em pintos de um dia de idade (Lamichane et al., 1991). Devido a inespecificidade das lesões e baixos títulos virais a inoculação in ovo não tem sido considerada um método mais adequado ao isolamento do vírus do que o isolamento in vivo ou em células MDCC-MSB-1.

## Imunohistoquímica

A detecção do CAV pode ser feita também por exame imunohistoquímico (técnica de imunoperoxidase), diretamente em cortes de tecidos congelados, ou também em órgãos em soluções de fixação. Mas problemas associados com coloração inespecífica, falta de imunoreatividade em tecidos processados com determinados reagentes de fixação de tecidos ou devido ao tempo de fixação foram relatados. Também, a sensibilidade do diagnóstico do vírus em tecidos pode ser bastante variável, uma vez que depende do momento da coleta do material, que deve ser feita preferencialmente entre 6 a 10 dias após a infecção para detecção de antígeno viral nas células. Uma vez que a quantidade de antígeno viral pode passar a ser reduzido após o evidente aparecimento das lesões, devem ser testadas diferentes aves e preferencialmente com níveis variados de lesões indicativas da anemia infecciosa das galinhas, para assegurar uma amostragem de diferentes fases de infecção.

## PCR

O diagnóstico por PCR (teste de polimerase em cadeia), com a utilização de primers específicos a seqüências de DNA conhecidas do genoma de amostras padrão do CAV, permite a detecção de forma mais rápida e específica por meio da amplificação do genoma do vírus presente em órgãos de aves infectadas, ou do genoma do vírus isolado em cultivos celulares, (Brentano et al., 2000; Nogueira et al., 2005; Soiné et al., 1993, Tham e Stanislawek, 1992, Todd et al., 1992). O DNA pode ser extraído das células e tecidos por diferentes metodologias, entre as quais a lise celular com detergente SDS e proteinase K e fenol-clorofórmio e amplificado em temperaturas e ciclos determinados em conformidade às seqüências de iniciadores (primers) utilizados e graus de especificidade que se quer do teste. No laboratório de virologia da Embrapa Suínos e Aves em Concórdia, foi implantado um PCR baseado na amplificação de 695 nucleotídeos que codificam a porção amino terminal da proteína VP1, conforme primers utilizados por Todd et al. (1992), assim como foi desenvolvido um PCR com base em primers que foram especificamente delineados para amplificação de 714 nucleotídeos abrangendo o gene para VP3 e parte de VP1. Ambos os PCR, permitem a detecção do CAV em órgãos como timo, fígado, baço ou bursas de material de campo assim como em aves experimentalmente inoculadas com amostras de campo positivas, apresentando correlação com a sensibilidade dos resultados positivos de isolamento viral in vivo (Brentano et al., 2000; Nogueira et al., 2005). Também o nested PCR pela sua maior sensibilidade é recomendado para o diagnóstico do CAV (Cardona et al., 2000; Brentano et al., 2005), mas requer a observação de maior risco de resultados falso positivos quando não adotados critérios rígidos de controle da contaminação laboratorial das amostras. O CAV pode também ser identificado por PCR em amostras fixadas em formalina (Imai et al., 1998). Markowski-Grimsrud et al. (2002) desenvolveram um PCR em tempo real quantitativo com sensibilidade comparável ao PCR, detectando até mesmo apenas 5 a 14 cópias do DNA viral por célula infectada, assim

como um teste de RT-PCR quantitativo para quantificação de RNA transcrito na célula, gerando uma ferramenta essencial tanto para diagnóstico como para estudos de latência e reativação do CAV em aves assintomáticas, carreadoras do vírus. (Markowski-Grimsrud et al., 2002).

## Hibridização *in situ*

A hibridização *in situ* consiste da ligação de sondas de DNA do vírus da anemia em tecidos positivos para o CAV. Uma destas metodologias consiste no uso de sondas de DNA marcadas com diferentes marcadores como biotina ou digoxigenina. A reação é revelada através de antisoros contra o marcador presente na sonda de DNA, conjugados com a enzima peroxidase ou fosfatase alcalina, onde similarmente a testes de ELISA a reação é revelada com substratos para a enzima do conjugado. A hibridização *in situ* é descrita para o diagnóstico diretamente em órgãos de aves suspeitas (Noteborn et al., 1992b; Allan et al., 1993; Nielsen et al., 1995), mas é uma técnica mais cara e trabalhosa do que o PCR, apesar das vantagens na sensibilidade do diagnóstico.

## Coleta de material para diagnóstico

Apesar de células infectadas pelo CAV poderem ser encontradas em virtualmente a maioria dos órgãos das aves, as maiores concentrações virais são relatadas como presentes no timo, medula óssea, baço e pró-ventrículo (Schat, 2003; Yuasa et al., 1983). No Brasil, no laboratório de virologia da Embrapa Suínos e Aves, ótimos resultados de isolamento viral assim como de PCR para diagnóstico de infecção tem sido obtidos a partir de amostras de fígado e timo. Para isolamento viral e PCR devem ser enviadas amostras de timo, fígado, ou também baço, bursa e fêmur. Amostras de soros para diagnóstico de anticorpos por testes sorológicos e amostras de órgãos coletados para isolamento viral ou PCR devem ser preferencialmente congeladas e enviadas resfriadas ao laboratório. Podem também ser coletados timo, baço, medula óssea (fêmur), bursa e fígado e fixados em formol para exame histológico complementar para o diagnóstico, observando-se que a histopatologia apenas não permite um diagnóstico conclusivo de anemia infecciosa das galinhas uma vez que as lesões não são únicas à infecções pelo CAV.

## Diagnóstico diferencial

As lesões macro e microscópicas não são patognomônicas do CAV. Devido à ampla distribuição do CAV o diagnóstico sorológico também não pode ser atribuído como diagnóstico de doença ativa. Para associar o CAV ao quadro clínico é necessário demonstrar a presença do vírus por isolamento viral ou presença do DNA e preferencialmente num número significativo de aves. Para se determinar a ocorrência de um surto da doença o diagnóstico virológico deve ser associado aos sinais clínicos e presença de lesões como palidez, hemorragias, anemia, atrofia de órgãos linfóides ou ainda infecções secundárias como dermatites, pododermatites, colibacilose, entre outras. Além disso, deve ser levado em consideração que o CAV pode não ser o único agente responsável pela doença, conforme abordado anteriormente, uma vez que outros fatores ou agentes imunossupressores podem agir sinergisticamente no agravamento da anemia infecciosa das galinhas. Bons exemplos são o vírus da doença de Marek, gumboro, reovírus, micotoxinas, stress. No diagnóstico diferencial deve se observar, por exemplo, que apesar de causar atrofia de tecidos linfóides o vírus da doença de Marek causa lesões histológicas típicas e não causa anemia. O vírus de gumboro causa também atrofia linfóide, que é mais acentuada na bursa e não parece induzir anemia. Adenovírus e reovírus, genericamente associados à síndrome hemorrágica ou

síndrome de má absorção também não causam anemia ou marcada atrofia de timo. Intoxicações por sulfonamidas ou micotoxinas podem causar anemia e hemorragias, mas normalmente não apresentam quadros tão agudos como a anemia decorrente da infecção pelo CAV e em contraste a anemia infecciosa das galinhas, atingem aves de diferentes idades. Estas intoxicações raramente afetam aves jovens como o faz o CAV e sua importância em surtos de anemia se deve principalmente a intoxicações subclínicas que agem sinergisticamente na patogenia do CAV (Schat, 2003).

## Prevenção e controle

O controle da anemia infecciosa das galinhas é baseado na transferência de imunidade passiva das matrizes à progênie, principalmente devido à doença se manifestar principalmente em aves infectadas nas primeiras semanas de vida. As aves adultas são suscetíveis à infecção e, a não ser que estejam comprometidas com outras infecções ou outros agentes imunossupressores, não desenvolvem a doença e desenvolvem anticorpos neutralizantes. A anemia infecciosa das galinhas pode ser controlada desde que seja assegurado que as matrizes desenvolvam adequada imunidade mediada por anticorpos neutralizantes antes do início do período de postura, para transferência via ovo de anticorpos maternos passivos em níveis suficientes, como forma de prevenir a transmissão vertical do vírus à progênie, reduzindo assim a ocorrência de surtos da doença a campo.

Devido à proteção conferida pela imunidade materna (Schat, 2003; Hoop, 1992; Yuasa et al., 1980) fica evidente a importância do monitoramento de matrizes para avaliar o status imune dos lotes, como forma de prever riscos de surtos da anemia e determinar a necessidade da adoção de estratégias para imunização de matrizes antes do período de postura para garantir a uniformidade imunológica no lote e obtenção de níveis adequados de anticorpos maternos para proteção da progênie. Vem sendo rotineiramente utilizados em vários países a avaliação sorológica de lotes de matrizes entre as 10 e 18 semanas de idade para determinar se 100% das aves no lote são imunes e verificar se apresentam ou não níveis altos de anticorpos para a decisão da adoção de estratégias de imunização das aves antes do início do período de postura. O teste de soroneutralização é considerado indicado para determinar mais precisamente os níveis de anticorpos neutralizantes, mas é um teste muito demorado e requer laboratórios com estrutura para cultivo celular. Na monitoria de grande número de lotes, são mais comumente utilizados testes de ELISA comerciais, que contem software de análise dos dados obtidos nos testes, emitindo resultados dos níveis de anticorpos no soro das aves. Para imunização de matrizes, há disponíveis vacinas atenuadas do CAV licenciadas no Brasil. As vacinas atenuadas não são totalmente não patogênicas, restringindo sua aplicação em aves jovens, podendo ser dadas em uma a mais aplicações, entre as 5 e 18 semanas de idade, dependendo dos resultados dos níveis de anticorpos presentes no lote. Tem sido recomendado que as aves recebam a última dose da vacina no máximo até quatro a seis semanas antes do início da postura para evitar riscos de transmissão vertical do vírus vacinal à progênie. Há também recomendações de alimentação de matrizes com camas de aviário contaminadas com o CAV para imunização, mas esta prática impõe sérios riscos de contaminação e disseminação de outros agentes patogênicos, com conseqüências que podem ser desastrosas à saúde e produção das aves ou mesmo sob o ponto de vista de segurança da saúde alimentar.

O controle da anemia envolve também o controle de outros agentes imunossupressores, uma vez que sinergisticamente aumentam a severidade de surtos da doença. Entre estes, os mais comuns são principalmente o efetivo controle vacinal da doença de Marek e controle da doença de gumboro e uso de rações e subprodutos livres de micotoxinas.

## Controle em plantéis de aves SPF

Plantéis de aves SPF devem permanecer livres do CAV para que os ovos e aves possam ser usados na produção de vacinas, tanto humanas como muitas vacinas animais. Muitos produtores de aves SPF no mundo tem enfrentado um grande desafio em manter os plantéis livres do CAV, pois conforme abordado anteriormente há evidências de que o CAV estabelece um estado de latência viral, principalmente em aves SPF onde o desafio pelo vírus é baixo, o que favorece o provável mecanismo de estabelecimento de latência do vírus e desta forma um grande desafio para a eliminação dos lotes (Miller et al., 2005). Miller et al., (2003) detectaram um número significativamente maior de positividade para a presença de DNA do CAV nas membranas das cascas de ovos do que em pools de órgãos linfóides dos embriões e sugerem que uma combinação de testes periódicos dos resíduos de membranas dos ovos ao eclodirem e testes periódicos de sangue por PCR pode ser usada para identificar aves SPF positivas carreadoras do CAV e erradicar as aves portadoras.

## Tratamento

Não há tratamento específico contra o vírus. Tratamento antibiótico pode ser aplicado para reduzir o impacto de infecções bacterianas secundárias tais como as dermatites, colibaciloses, entre outras. Pode ser aplicada a desinfecção de aviários com hipoclorito de sódio ou iodo em concentrações de 10%, ou também vassouras de fogo para buscar reduzir a carga infectiva, mas as desinfecções não garantem eliminar CAV do ambiente.

## Bibliografia

- Adair BM, McNeilly F, McConnel CD, McNulty MS. Characterization of surface markers present on cells infected by chicken anemia virus in experimentally infected chickens. *Avian Diseases* 1993; 37:943-950.
- Adair BM. Immunopathogenesis of chicken anemia virus infection. *Developmental and Comparative Immunology* 2000; 24:247-255.
- Allan GM, Smyth JA, Todd D, McNulty MS. In situ hybridization for the detection of chicken anemia virus in formalin-fixed, paraffin-embedded sections. *Avian Diseases* 1993; 37:177-182.
- Box PG, Holmes HC, Bushal AC, Finney PM. Impaired response to killed Newcastle disease vaccine in chickens possessing circulating antibody to chicken anemia agent. *Avian Pathology* 1998; 17:713-723.
- Brentano L, Mores N, Wentz I, Chandratilleke D, Schat K. Isolation and identification of chicken infectious anemia virus in Brazil. *Avian Diseases* 1991; 35:793-800.

Brentano L, Lazzarin S, Klein TAP, Schat KA. Detection of chicken anemia virus in the gonads and in the progeny of broiler breeder hens with high neutralizing antibody titer. *Veterinary Microbiology* 2005; 105:65-72.

Brentano L, Nogueira EO, Ferreira AJP. Application of a PCR assay for detection of chicken anemia virus (CAV) in organ samples and comparison with viral isolation diagnosis. *Virus Review and Research* 2000; 5(1):14-21.

Calnek BW, Lucio-Martinez B, Cardona C, Harris RW, Schat KA, Buscaglia C. Comparative susceptibility of Marek's disease cell lines to chicken infectious anemia virus. *Avian Diseases* 2000; 44:114-24.

Cardona C, Oswald JWB, Schat KA. Distribution of chicken anaemia virus in the reproductive tissues of specific-pathogen- free chickens. *Journal General Virology* 2000; 81:2067-2075.

Chandratilleke D, O'Connell P, Schat KA. Characterization of proteins of chicken infectious anemia virus with monoclonal antibodies. *Avian Diseases* 1992; 35:854-852.

Cloud SS, Rosenberger JK, Lilleho J. Immune dysfunction following infection with chicken anemia agent and infectious bursal disease virus. II. Alterations of in vitro lymphoproliferation and in vivo immune responses. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1992; 34:335-366.

Crowther RA, Berriman JA, Curran WL, Allan GM, Todd D. Comparison of the structures of three circoviruses: chicken anemia virus, porcine circovirus type 2, and beak and feather disease virus. *Journal Virology* 2003; 77(24):13036-41.

Danen-Van Oorschot AA, Fischer DF, Grimbergen JM. Apoptin induces apoptosis in human transformed and malignant cells but not in normal cells. *Proceedings National Academy Science* 1997; 94:5843-5847.

De Boer GF, Van Roozelaar DJ, Moormann RJ, Jeurissen SHM, Van Den Wingaard JC, Hilbink F, Koch G. Interaction between chicken anemia virus and live Newcastle disease virus vaccine. *Avian Pathology* 1994; 23:263-275.

De Herdt P, Van den Bosch G, Ducatelle R, Uyttebroek E, Schrier C. Epidemiology and significance of chicken infectious anemia virus infections in broilers and broiler parents under nonvaccinated European circumstances. *Avian Diseases* 2001; 45(3):706-8.

Engström BE. Prevalence of antibody to chicken anaemia virus (CAV) in Swedish chicken breeding flocks correlated to outbreaks of blue wing disease (BWD) in their progeny. *Acta Veterinaria Scandinavica* 1999; 40(2):97-107.

Gelderblom H, Kling S, Tischer IE, Bulow V. Morphological characterization of chicken anemia agent. *Archives Virology* 1989; 109:115-120.

Goryo M, Shibata Y, Suwa T, Umemura T, Itakura C. Outbreak of anemia associated with chicken anemia agent in young chicks. *Japanese Journal Veterinary Science* 1987a; 49:867-873.

- Goryo M, Suwa T, Matsumoto S, Umemura T, Itakura C. Serial propagation and purification of chicken anemia agent in MDCC-MSB1 cell line. *Avian Pathology* 1987; 16:149-163.
- Goryo M, Suwa T, Umemura T, Itakura C, Yamashiro S. Histopathology of chicks inoculated with chicken anaemia agent (MSB1-TK5803 strain). *Avian Pathology* 1989; 18:73-89.
- Hagood LT, Kelly TF, Wright JC, Hoer FJ. Evaluation of chicken infectious anemia virus and associated risk factors with disease and production losses in broilers. *Avian Diseases* 2000; 44:803-808.
- Hoop RK. Transmission of chicken anaemia virus with semen. *Veterinary Record* 1993; 133:551-552.
- Hoop RK. Persistence and vertical transmission of chicken anemia agent in experimentally infected laying hens. *Avian Pathology* 1992; 21:493-501.
- Hu L, Lucio B, Schat K. Abrogation of age related resistance to chicken infectious anemia virus by embryonal bursectomy. *Avian Diseases* 1993; 37:157-169.
- Hu L, Lucio B, Schat K. Depletion of CD4 and CD8 T lymphocyte subpopulations by CIA-1, a chicken infectious anemia virus. *Avian Diseases* 1993; 37:492-500.
- Imai K, Mase M, Yamaguchi SY, Yuasa N. Detection of chicken anaemia virus DNA from formalin-fixed tissues by polymerase chain reaction. *Research in Veterinary Science* 1998; 64:205-208.
- Imai K, Yuasa N. Development of a microtest method for serological and virological examination of chicken anemia agent. *Japanese Journal Veterinary Science* 1990; 52(4):873-875.
- Jorgensen PH, Otte L, Nielsen OL, Bisgaard M. Influence of subclinical virus infections and other factors on broiler flock performance. *British Poultry Science* 1995; 36:455-463.
- Jorgensen PH. A microscale serum neutralization test for the detection and titration of antibodies to chicken anemia agent - prevalence of antibodies in Danish chickens. *Avian Pathology* 1990; 19:583-593.
- Jorgensen PH. Mortality during an outbreak of blue wing disease in broilers. *Veterinary Record* 1991; 129:490-491.
- Kaffashi A, Noomohammadi AH, Allot ML, Browning GF. Viral load in 1-day-old and 6-week-old chickens infected with chicken anaemia virus by the intraocular route. *Avian Pathology* 2006; 35(6):471-4.
- Kato A, Fujino M, Nakamura T, Ishiama A, Otaki Y. Gene organization of chicken anemia virus. *Virology* 1995; 209(2):480-488.
- Koch G, Roozelaar DJ, Verschueren CAJ, Van der Eb AJ, Noteborn MHM. Immunogenic and protective properties of chicken anemia virus proteins expressed by baculovirus. *Vaccine* 1995;

Lamichane CM, Snyder DB, Goodwin MA, Mengel SA, Brown J, Dickson TG. Pathogenicity of CL-1 chicken anemia agent. *Avian Diseases* 1991; 35:515-522.

Lucio BA, Schat KA, Shivaprasad HL. Identification of the chicken anemia agent, reproduction of the disease, and serological survey in the United States. *Avian Diseases* 1990; 34:146-153.

Markowski-Grimsrud CJ, Miller MM, Schat KA. Development of strain-specific real-time PCR and RT-PCR assays for quantitation of chicken anemia virus. *Journal of Virological Methods* 2002; 101(1-2):135-47.

Markowski-Grimsrud CJ, Schat KA. Infection with chicken anaemia virus impairs the generation of pathogen-specific cytotoxic T lymphocytes. *Immunology* 2003; 109:283–294.

McConnel CDG, Adair BM, McNulty S. Effects of chicken anemia virus on macrophage function in chickens. *Avian Diseases* 1993b; 37:358-365.

McConnel CDG, Adair BM, McNulty MS. Effects of chicken anemia virus on cell mediated immune function in chickens exposed by a natural route. *Avian Diseases* 1993a; 37:367-374.

McIlroy SG, McNulty MS, Bruce DW, Smyth JA, Goodall EA, Alcorn MJ. Economic effects of clinical chicken anemia agent infection on profitable broiler production. *Avian Diseases* 1992; 36:566-575.

McKenna GF, Todd D, Borghmans BJ, Welsh MD, Adair BM. Immunopathologic Investigations with an Attenuated Chicken Anemia Virus in Day-Old Chickens. *Avian Diseases* 2003; 47:1339-1345.

McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F, Kirkpatrick KS, McFerran JB. A serological survey of domestic poultry in the United Kingdom for antibodies to chicken anemia agent. *Avian Pathology* 1988; 17:315-324.

McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F, McLoughlin MF, Kirkpatrick KS. Preliminary characterization of chicken anemia agent from the United Kingdom. *Avian Pathology* 1990; 19:67-73.

McNulty MS, Connor TJ, McNeilly F. Influence of virus dose on experimental anemia due to chicken anemia agent. *Avian Pathology* 1990b; 19:167-171.

McNulty MS. Chicken anemia agent: a review. *Avian Pathology* 1991; 20:187-203.

Meehan BM, Todd D, Creelan JL, Earle JAP, Hoey EM, McNulty MS. Characterization of viral DNAs from cells infected with chicken anemia agent: sequence analysis of the cloned replicative form and transfection capabilities of cloned genome fragments. *Archives of Virology* 1992; 124:301-319.

Miller MM, Jarosinski KW, Schat KA. Positive and negative regulation of chicken anemia virus



transcription. *Journal of Virology* 2005; 79(5):2859-68.

Miller MM, Schat KA. Chicken infectious anemia virus: An example of the ultimate host-parasite relationship. *Avian Diseases* 2004; 48:734-745.

Miller MM, Ealey KA, Oswald WB, Schat KA. Detection of chicken anemia virus DNA in embryonal tissues and eggshell membranes. *Avian Diseases* 2003; 47:662-671.

Natesan S, Kataria JM, Dhama K, Rahul S, Baradhwaj N. Biological and molecular characterization of chicken anaemia virus isolates of Indian origin. *Virus Research* 2006; 118:78-86.

Nielsen OL, Jorgensen PH, Bisgaard M, Alexandersen S. In situ hybridization for the detection of chicken anemia virus in experimentally-induced infection and field outbreaks. *Avian Pathology* 1995; 24:149-155.

Nogueira EO, Brentano L, Ferreira AJP. A VP3 / VP1 gene polymerase chain reaction assay for detection of chicken anemia virus (CAV) in field organ samples. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2005; 57 supl. 2:131-140.

Nogueira EO, Ferreira AJP, Soares RM, Durigon EL, Lazzarion S, Brentano L. Genome sequencing analysis of Brazilian chicken anemia virus isolates that lack MSB-1 cell culture tropism. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 2007; 30(2007):81-96.

Noteborn M, Krannenburg O, Zantema A, Koch G, Boer GF, van der Eb AJ. Transcription of the chicken anemia virus (CAV) genome and synthesis of its 52 Kd protein. *Gene* 1992; 118:267-271.

Noteborn MH, Koch G. Chicken anemia virus infection: molecular basis of pathogenicity. *Avian Pathology* 1995; 24:11-31.

Noteborn MH, Verschueren CA, Koch G, van Der Eb AJ. Simultaneous expression of recombinant baculovirus-encoded chicken anaemia virus (CAV) proteins VP1 and VP2 is required for formation of the CAV-specific neutralizing epitope. *Journal of General Virology* 1998b; 79(12):3073-7.

Noteborn MHH, Oorschot AA, van Der Eb AJ. Chicken anemia virus: Induction of apoptosis by a single protein of a single- stranded DNA virus. *Seminars in Virology* 1998; 8:497-504.

Noteborn MHM, De Boer GF, Roozelaar DJ van, Karreman C, Kranenburg O, Vos J, Jeurissen SHM, Hoeben RC, Zantema A, Koch G, Ormond H van, Van Der Eb AJ. Characterization of cloned chicken anemia virus DNA that contains all elements for the infectious replication cycle. *Journal of Virology* 1991; 65(6):3131-3139.

Noteborn MHM, Verschueren AJ, Roozelaar DJ, Veldkemp S, van Der Eb AJ, De Boer GF. Detection of chicken anemia virus by DNA hybridization and polymerase chain reaction. *Avian Pathology* 1992; 21:107-118.

Noteborn MHM, Verschueren CAJ, Van Ormond H, Van der Eb AJ. Chicken anemia virus strains

with a mutated promotor/ enhancer region share reduced virus spread and citopathogenicity. *Gene* 1998; 223(1-6):165-172.

Noteborn MHM. Apoptin (R)-induced apoptosis: a review. *Apoptosis* 1999; 4(5):317-319.

Otaki Y, Tajima M, Saito K, Nomura Y. Immune response of chicks inoculated with chicken anemia agent alone or in combination with Marek's disease virus or turkey herpesvirus. *Japanese Journal Veterinary Science* 1988b; 50:1040-1047.

Otaki Y, Tajima M, Kato A, Nomura Y. Depression of vaccinal immunity to Marek's disease by infection with chicken anemia agent. *Avian Pathology* 1988; 17:333-347.

Peters MA, Crabb BS, Tivendale KA, Browning GF. Attenuation of chicken anemia virus by site-directed mutagenesis of VP2. *Journal General Virology* 2007; 88(8):2168-75.

Peters MA, Crabb BS, Washington EA, Browning GF. Site-directed mutagenesis of the VP2 gene of Chicken anemia virus affects virus replication, cytopathology and host-cell MHC class I expression. *Journal General Virology* 2006; 87:823-831.

Peters MA, Jackson DC, Crabb BS, Browning GF. Chicken anemia virus VP2 is a novel dual specificity protein phosphatase. *Journal Biology Chemistry* 2002; 277:39566-39573.

Phenix KV, Meehan BM, Todd D, McNulty MS. Transcriptional analysis and genome expression of chicken anemia virus. *Journal General Virology* 1994; 75:905-909.

Ragland WL, Novak R, El-Attrache J, Saviæ V, Ester K. Chicken Anemia Virus and Infectious Bursal Disease Virus Interfere with Transcription of Chicken IFN- $\alpha$  and IFN- $\alpha$  mRNA. *Journal Interferon & Cytokine Research* 2002; 22(4):437-441.

Renshaw RW, Soiné C, Weinkle T, O'Connell PH, Ohashi K, Watson S, Lucio B, Harrington S, Schat K. A hypervariable region in VP1 of chicken infectious anemia virus mediates rate of spread and cell tropism in tissue culture. *Journal of Virology* 1996; 70(12):8872-8878.

Schat KA. Infectious anemia. In: .Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE, editors. *Diseases of poultry*. 11rd ed. Ames: Iowa State Press. p.182-202.

Scott ANJ, Connor TJ, Creelan JL, McNulty MS, Todd D. Antigenicity and pathogenicity characteristics of molecularly cloned chicken anemia virus isolates obtained after multiple cell culture passages. *Archives of Virology* 1999; 144:1961-1975.

Simionatto S, Lima-Rosa CAV, Binneck E, Ravazzolo AP, Canal CW. Characterization and phylogenetic analysis of Brazilian chicken anaemia virus. *Virus Genes* 2006; 33:5-10.

Smyth JA, Moffet DA, Connor TJ, McNulty MS. Chicken anaemia virus inoculated by the oral route causes lymphocyte depletion in the thymus in 3-week-old and 6-week-old chickens. *Avian Pathology* 2006; 35(3):254-9.

Smyth JA, Moffet DA, McNulty MS, Todd D, Mackie DP. A sequential histopathologic and

immunocytochemical study of chicken anemia infection at one day of age. *Avian Diseases* 1993; 37:324-338.

Soiné C, Watson SK, Ribycki E, Lucio B, Nordgreen RM, Parrish CR, Schat KA. Determination of the detection limit of the polymerase chain reaction for chicken infectious anemia virus. *Avian Diseases* 1993; 37:467-476.

Spackman E, Cloud SS, Pope CR, Rosenberger JK. Comparison of a putative second serotype of chicken infectious anemia virus with a prototypical isolate. *Pathogenesis. Avian Diseases* 2002a, 46:945-955.

Spackman E, Cloud SS, Rosenberger JK. Comparison of a putative second serotype of chicken infectious anemia virus with a prototypical Isolate II. Antigenic and physicochemical characteristics. *Avian Diseases* 2002b; 46:956-963.

Tan J, Tannock GA. Role of viral load in the pathogenesis of chicken anemia virus. *Journal General Virology* 2005; 86(5): 1327-33.

Tham KM, Stanislawek WD. Detection of chicken infectious anemia agent DNA sequences by the polymerase chain reaction. *Archives of Virology* 1992b; 127:245-255.

Tham KM, Stanislawek WD. Polymerase chain reaction amplification for the detection of chicken anemia virus DNA in tissues and sera. *Avian Diseases* 1992a; 36:1000-1006.

Todd D, Connor TJ, Calvert VM, Creelan JL, Meehan BM, McNulty MS. Molecular cloning of an attenuated chicken anemia virus isolate following repeated cell culture passage. *Avian Pathology* 1995; 24:171-187.

Todd D, Mackie DP, Mawhinney KA, Connor TJ, McNeilly F, McNulty MS. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect serum antibody to chicken anemia agent. *Avian Diseases* 1990; 34:359-363.

Todd D, Mawhinney KA, McNulty S. Detection and differentiation of chicken anemia virus isolates by using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 1992; 30(7):1661-1666.

Toro H, Ewald S, Hoerr FJ. Serological Evidence of Chicken Infectious Anemia Virus in the United States at Least Since 1959. *Avian Diseases* 2006; 50:124-126.

Toro H van, Santen VL, Li L, Lockaby SB van, Santen E, Hoerr FJ. Epidemiological and experimental evidence for immunodeficiency affecting avian infectious bronchitis. *Avian Pathology* 2006b; 35(6):455-64.

Toro H, Ramirez AM, Larenas J. Pathogenicity of chicken anaemia virus (isolate 10343) for young and older chickens. *Avian Pathology* 1977; 26:485-499.

Van Santen VL, Toro HE, Hoerr FJ. Biological characteristics of chicken anemia virus regenerated from clinical specimen by PCR. *Avian Diseases* 2007; 51(1):66-77.

- Welch J, Bienek C, Gomperts E, Simmonds P. Resistance of porcine circovirus and chicken anemia virus to virus inactivation procedures used for blood products. *Transfusion* 2006; 46(11):1951-8.
- Yamaguchi S, Imada T, Kaji N, Mase M, Tsukamoto K, Tanimura N, Yuasa N. Identification of a genetic determinant of pathogenicity in chicken anaemia virus. *Journal General Virology* 2001; 82:1233-1238.
- Yuasa N, Imai K, Nakamura K. Pathogenicity of chicken anemia agent in bursectomised chickens. *Avian Pathology* 1988; 17:363-369.
- Yuasa N, Imai K. Pathogenicity and antigenicity of eleven isolates of chicken anemia agent. *Avian Pathology* 1986; 15: 639-645.
- Yuasa N, Noguchi T, Furuta K, Yoshida I. Maternal antibody and its effects on the susceptibility of chicks to chicken anemia agent. *Avian Diseases* 1980; 24:197-201.
- Yuasa N, Taniguchi T, Imada T, Hihara T. Distribution of chicken anemia agent (CAA) and detection of neutralizing antibody in chicks experimentally infected with CAA. *National Institute Animal Health Quartely* 1982; 23:78-81.
- Yuasa N, Taniguchi T, Yoshida I. Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. *Avian Diseases* 1979; 23:366-385.
- Yuasa N, Tezuka H. Survey of antibodies against chicken anemia agent (CAA) by an indirect immunofluorescent antibody technique in breeder flocks in Japan. *Avian Pathology* 1985; 14:521-530.
- Yuasa N. Propagation and infectivity titration of the Gifu-1 strain of chicken infectious anemia agent in a cell line (MDCC- MSB-1) derived from Marek's disease lymphoma. *National Institute Animal Health Quartely* 1982; 23:13-20.
- Zhuang SM, Shvarts A, Ormond H, Jochemsen AG, Van der Eb, AJ, Noteborn MH. Apoptinin, a protein derived from chicken anemia virus induces p53-independent apoptosis in human sarcoma cells. *Cancer Research* 1995; 55:486-489.

## Lesões em pintos SPF inoculados com CAV

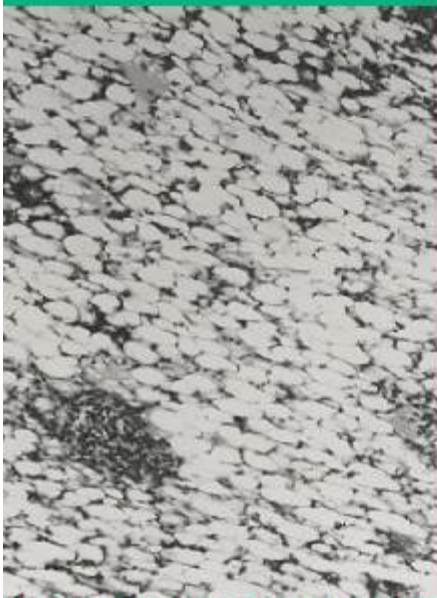


Controle: Não inoculado

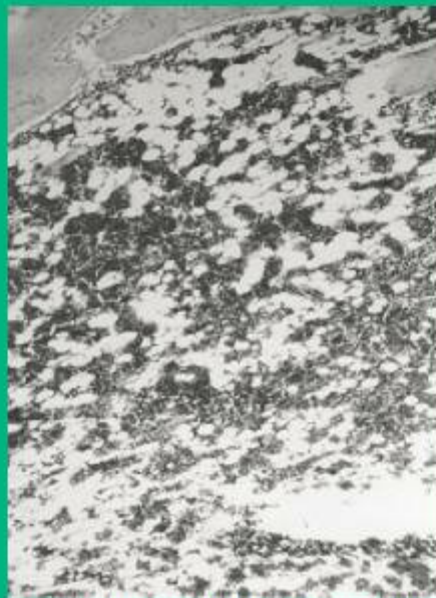
Inoculado com CAV  
Retardo no crescimento



Inoculado com CAV: hemorragias musculares



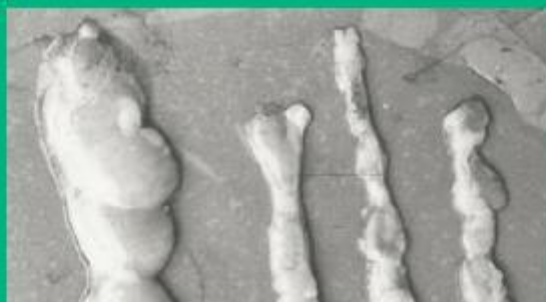
Inoculado com CAV: aplasia de  
médula óssea óssea



Controle não inoculado: médula  
óssea



Timo de pintos inoculados com CAV:  
Redução de linfócitos, hiperplasia de  
células reticulares, completa perda de  
arquitetura do timo





Controle  
Não inoculado

Inoculados com CAV  
Atrofia de timo

Fotos: Liana Brentano, Nelson Mores. Embrapa Suínos e Aves

<b>Introdução</b>	<b>763</b>
<b>Histórico</b>	<b>763</b>
<b>Distribuição geográfica e ocorrência</b>	<b>764</b>
<b>Etiologia</b>	<b>764</b>
<i>Característica do vírus</i>	764
<i>Propriedades biológicas</i>	765
<i>Meios de cultivo laboratoriais</i>	765
<b>Patogenia e epizootiologia</b>	<b>766</b>
<i>Patogenicidade</i>	766
<i>Transmissão</i>	766
<i>Vias de inoculação</i>	766
<i>Período de incubação</i>	767
<i>Resistência com a idade</i>	767
<i>Sinais clínicos</i>	767
<i>Morbidade e mortalidade</i>	768

<i>Patogenia</i>	768
<i>Patogenia das cepas não adaptadas em ovos</i>	768
<i>Patogenia das cepas adaptadas em ovos</i>	768
<b>Alterações anatomopatológicas</b>	<b>769</b>
<i>Lesões macroscópicas</i>	769
<i>Lesões histopatológicas</i>	769
<b>Imunidade</b>	<b>770</b>
<i>O papel dos anticorpos na resistência à infecção</i>	770
<i>Imunidade ativa</i>	770
<i>Imunidade passiva</i>	770
<b>Diagnóstico e provas correlatadas</b>	<b>770</b>
<i>Isolamento e identificação do agente</i>	770
<i>Provas sorológicas</i>	770
<i>Prova de vírus neutralização</i>	770
<i>ELISA</i>	771
<i>Monitoria da imunidade através do embrião</i>	771
<i>Prova de suscetibilidade embrionária</i>	771
<i>Diagnóstico diferencial</i>	771
<b>Prevenção e controle</b>	<b>772</b>



<i>Tratamento</i>	772
<i>Vacinação</i>	772
<i>Vacinas vivas</i>	772
<i>Vacinas inativadas</i>	773
<i>Acidentes e falhas de vacinação</i>	773
<b>Conclusões</b>	<b>773</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>773</b>

## Anemia infecciosa das galinhas

Paulo César Martins, Paulo Lourenço da Silva

### Introdução

encefalomielite aviária (EA), também conhecida por tremor epidêmico, é uma doença infecciosa causada por um picornavírus que acomete primariamente pintinhos nas primeiras quatro semanas de idade, caracterizada por ataxia (perda de equilíbrio), paralisias e tremores, especialmente da cabeça e pescoço, distrofia muscular e mortalidade. Em aves adultas, não imunizadas, a infecção pode causar uma queda temporária na produção de ovos, entre 5 e 10%, acompanhada de diminuição da eclodibilidade devido a mortalidade embrionária, sem o desenvolvimento de sinais nervosos.

A EA foi uma doença de grande importância econômica para a indústria avícola antes do desenvolvimento e uso da vacina comercial, no início da década de 60. Atualmente, a vacinação tem sido altamente eficiente para controlar a doença, e é a principal responsável pela baixa incidência de casos reportados de EA clínica em frangos de corte, devido à redução da transmissão do vírus através do ovo.

No entanto, ainda hoje, mesmo com a eficácia das vacinas comerciais, tem-se observado problemas associados com a doença por queda de produtividade de ovos em plantéis comerciais, particularmente decorrentes de falhas de vacinação.

O diagnóstico se revela de importância para se diferenciar de outras encefalites aviárias de maior significado econômico e mesmo de algumas zoonoses.

### Histórico

O primeiro relato da doença foi referente a casos de tremores de cabeça observados em pintos de duas semanas de idade ocorridos em 1930 na Nova Inglaterra, nos Estados Unidos (Jones, 1932).

A partir de material obtido de aves que apresentavam sinais clínicos à campo de tremores da cabeça e pescoço, Jones (1934) reproduziu experimentalmente a doença em aves, por inoculação intracerebral de cérebro macerado e filtrado. Por suas observações, o autor propôs o nome da doença de tremor epidêmico.

Van Roekel *et al.* (1938) consideraram que o termo tremor epidêmico não era apropriado, uma vez que não enfatizava a natureza infecciosa da doença, nem o tropismo do agente pelo sistema nervoso central (SNC). Desta forma propuseram uma nova denominação de “encefalomielite infecciosa aviária” que posteriormente foi abreviada para “encefalomielite aviária”.

Feibel *et al.* (1952) descreveram a primeira revisão abrangendo a prevalência, a patogenicidade e a suscetibilidade de reprodutores à EA.

Shaaf e Lamoreaux (1955) relataram o sucesso da tentativa de vacinação usando a via punção na asa, mas não quando administrada oralmente.

Sumner (1957) relatou a adaptabilidade do vírus ao ovo.

Zander e Peckham (1957) trabalharam independentemente e relataram a opacidade da córnea associada à infecção por EA.

Sumner *et al.* (1957) relataram o uso do teste de suscetibilidade do embrião.

Shaaf (1959) relatou o uso de vacina inativada para o controle da EA.

Van Roekel (1961) recomendou o uso de vírus não adaptado à embrião para a vacinação contra EA por via oral.

Calnek *et al.* (1961) desenvolveram uma vacina oral para o controle da EA, que foi licenciada em 1962, e que até hoje é utilizada na imunização de plantéis de aves reprodutoras e de postura comercial.

Van Der Heide (1970) descreveu os procedimentos do uso do teste de anticorpos fluorescentes para o diagnóstico de EA.

Polewacyzk *et al.* (1975) descreveram um método para liofilizar a vacina contra EA.

Girschick *et al.* (1982) desenvolveram o primeiro antígeno disponível comercialmente para o teste de precipitação em gel de ágar.

A partir de 1992, kits comerciais se tornaram disponíveis para os testes sorológicos de ELISA.

## **Distribuição geográfica e ocorrência**

A EA tem sido reportada virtualmente em todas as áreas de produção avícola comercial em todo o mundo. Em condições de campo, os lotes normalmente se infectam com o vírus de campo durante a fase de recria, mas a incidência de doença clínica é muito baixa.

Na avicultura industrial, os programas de vacinação são regulares e a ocorrência de sintomas clínicos (queda transitória da postura e eclosão) é baixa, a menos que um lote de reprodutoras não seja vacinado, ou mal imunizado, e se torne infectado após o início da produção de ovos. Quando isto acontece em aves reprodutoras, a transmissão vertical neste período (três a quatro semanas), resultará em infecção da progênie e os pintos nascidos podem apresentar sintomas nervosos tais como paralisia, ataxia e tremores da cabeça e pescoço (Tannock e Shafren 1994; Calnek *et al.*, 1997).

EA clínica tem sido relatada em lotes de recria vacinados, tanto em reprodutoras pesadas quanto leves, aproximadamente duas semanas após a vacinação, com incidência variando entre 1 a 4%

dos lotes afetados. As aves não têm os sinais clássicos de EA, mas mostram vários sinais de uma doença do sistema nervoso. A EA pós-vacinal é um problema esporádico.

## Etiologia

### Características do vírus

Jones (1934) demonstrou que o agente da EA era filtrável. Butterfield *et al.* (1975) baseado em estudos de filtração reportaram um diâmetro das partículas entre 16 a 25nm. Trabalhos realizados por Tannock e Shafren (1994), através da microscopia eletrônica, determinaram um diâmetro médio das partículas de  $26,1 \pm 0,4$ nm. O vírus da encefalomielite aviária (VEA) não possui envelope lipídico (Tannock e Shafren, 1985) e apresenta simetria pentagonal com 32 ou 42 capsômeros (Gosting *et al.*, 1980).

O VEA é um vírus RNA fita simples de polaridade positiva pertencente à família Picornaviridae, e é um importante patógeno de galinhas causando redução nos nascimentos e desordens neurológicas características tais como tremores e ataxia em pintos mais jovens (Calnek *et al.*, 1997). O genoma completo do VEA com o comprimento total de 7058 bases tem um single open reading frame (ORF) codificando uma grande poliproteína de 2143 aminoácidos o qual é processado por proteases virais para gerar proteínas maduras (Marvil *et al.*, 1999). Similar para outros picornavirus, a região P1 do genoma do VEA codifica quatro proteínas estruturais: VP4-VP2-VP3-VP1 (Marvil *et al.*, 1999). VP4 e VP2 são organizadas dentro da partícula na forma de proteína precursora VP0. Recentemente, a proteína estrutural VP3 (Liu *et al.*, 2002) e a proteína não estrutural 2C (Liu *et al.*, 2004) foram demonstradas induzindo apoptose em cultura de células cerebrais de embrião de pintos.

O VEA possui uma densidade buoyant de 1,31 a 1,33g/mL (Gosting *et al.*, 1980; Tannock e Shafren, 1985) e um coeficiente de sedimentação de 148 S (Gosting *et al.*, 1980). Sua infectividade não é afetada pelo clorofórmio, baixo pH (2,8), pepsina, tripsina e desoxirribonuclease (Butterfield *et al.*, 1969; Gosting *et al.*, 1980). Baseado nas características físicas e resistência do VEA, Butterfield *et al.* (1969) propuseram que o vírus fosse classificado como um enterovírus pertencente a família Picornaviridae.

Tannock e Shafren (1985) inicialmente descrevem quatro polipeptídeos virais que apresentavam pesos moleculares de 43, 35, 33 e 14kdalton. Posteriormente, Shafren e Tannock (1991), utilizando outras técnicas de purificação, verificam que o polipeptídeo de maior peso molecular era na realidade uma contaminação de ovoalbumina do meio de cultivo e que três polipeptídeos de peso molecular de 35, 30 e 26kdalton eram similares em tamanho ao dos poliovírus.

### Propriedades biológicas

Embora nenhuma diferença sorológica tenha sido detectada entre os vários isolados do VEA, algumas distinções devem ser feitas entre as amostras de campo e aquelas que tenham sido adaptadas em embriões (amostra Van Roekel). Portanto, as cepas do VEA parecem ser antigenicamente uniformes, mas existe variação no seu tropismo e virulência.

A patogenicidade dos isolados de campo varia. As cepas de campo são enterotrópicas e

transmitidas horizontalmente, infectam pintinhos por via oral e são eliminadas e disseminadas pelas fezes. Apresentam baixa patogenicidade, no entanto, algumas cepas tendem a ser mais neurotrópicas do que outras, e em pintos suscetíveis infectados por transmissão vertical, ou mais raramente por transmissão horizontal precoce ocasionam severas lesões no sistema nervoso central (SNC), produzindo sinais clínicos em pintinhos. Geralmente, os isolados de campo não são letais para embriões até que ocorra a adaptação através de passagens contínuas. Em ambos os casos, a cepa geralmente produz sintomatologia nervosa após a eclosão. Estes sintomas também são observados na inoculação experimental intracerebral em pintos suscetíveis ou ainda por inoculação no saco da gema de embriões suscetíveis aos seis a sete dias de incubação (Calnek et al., 1997; Jordan e Pattison, 1996; Tannock e Shafren, 1994). Este tipo de vírus é relativamente apatogênico para pintos com mais de três ou quatro semanas de idade.

As cepas adaptadas em embriões, tais como a cepa Van Roekel, são provavelmente vírus mutantes das cepas de campo que foram selecionados como vírus dominantes durante as passagens embrionárias. A cepa Van Roekel é altamente neurotrópica e causa sinais de doença em aves de todas as idades, pela inoculação parenteral. Esta cepa é altamente patogênica para embriões de lotes não imunes e causam lesões macroscópicas nos embriões caracterizadas por nanismo, hemorragias, distrofia muscular, diminuição dos movimentos (letargia) e desvio dos membros inferiores (Tannock e Shafren, 1994). As alterações histopatológicas consistem de necrose e perda das estrias das fibras musculares, tumefação dos eosinófilos e, mais raramente, infiltrados heterofílicos são observados. As lesões neurais são caracterizadas por edema, gliose, proliferação vascular e picnose (Calnek et al., 1997). Em inoculações de pintos via intramuscular ou subcutânea, a incidência de sintomas nervosos é variável. Estas cepas não infectam por via oral, exceto com doses muito altas, e não se difundem de ave para ave, ou seja, parecem ter baixa capacidade de multiplicação no trato intestinal de aves suscetíveis (Schafren e Tannhock, 1991).

## Meios de cultivo laboratoriais

O VEA pode ser replicado em pintos ou embriões de lotes suscetíveis e numa grande variedade de cultivos celulares. O que varia nestes casos é o título viral final obtido. Pintos e embriões devem ser de lotes suscetíveis, exceto no caso de inoculações intracerebrais. A inoculação do embrião via saco da gema é a mais utilizada, embora outras vias de inoculação sejam possíveis.

Tannock e Shafren (1994) revisaram vários trabalhos referentes ao cultivo celular de cepas de campo e das cepas adaptadas em embriões. Mancini e Yates (1967) demonstraram a possibilidade de replicação da cepa Van Roekel em cultivo de células de cérebro de embriões de galinha (CEG), utilizando a inoculação de embriões suscetíveis para detectar a presença do vírus cultivado. Títulos de  $10^{5.0}$  EID<sub>50</sub>/mL foram obtidos, 15 dias após a inoculação, sem o aparecimento de efeito citopático (ECP), corpúsculos de inclusão, ou formação de placas. Devido às dificuldades na obtenção de monocamadas de CEG pela contaminação por fibroblastos, além dos 12 dias de incubação necessários para a confluência da cultura, cultivos celulares alternativos continuaram a ser pesquisados.

Cultivos de fibroblastos de embrião de galinha (FEG) e células de rim de embrião de galinha produziram títulos aproximados de  $10^{2.0}$  EID<sub>50</sub>/mL do vírus adaptado em ovos sem o aparecimento de ECP ou formação de placas nas camadas celulares. Várias outras tentativas de replicação de cepas adaptadas em ovos foram com CEG e células pancreáticas, mas títulos acima de  $10^{3.0}$

EID50/mL foram raramente alcançados. Nestes casos o antígeno não pôde ser detectado por imunofluorescência (Tannock e Shafren, 1994).

Nicholas *et al.* (1987) sugeriram que as células da neuroglia de embriões de galinha constituem em excelente substrato para a produção do antígeno do VEA para as testes sorológicos, tais como, imunodifusão e ELISA.

## Patogenia e epizootiologia

### Patogenicidade

Apenas um limitado número de espécies aviárias são naturalmente suscetíveis ao VEA, quais sejam, galinhas, perus, codornas japonesas e faisões. Galinhas de Angola, patos e pombos são suscetíveis à infecção experimental. Camundongos, cobaias, coelhos e macacos são refratários ao vírus em inoculações via intracerebral (Calnek *et al.*, 1997).

### Transmissão

A forma mais comum de disseminação da doença é através das fezes de aves com a infecção ativa. A replicação do vírus provavelmente ocorre nas células epiteliais do intestino delgado. Deste ponto o vírus provavelmente entra na corrente sanguínea via placas de Peyer e vasos linfáticos, atingindo outros órgãos e o sistema nervoso central (SNC) (Tannock e Shafren, 1994).

O VEA é eliminado pelas fezes por vários dias. Devido a sua relativa resistência às condições naturais ele permanece infectivo por longos períodos de tempo no meio ambiente. O período de excreção do vírus varia principalmente de acordo com a idade das aves. Os pintos podem eliminar vírus por duas a três semanas após a infecção. Aves com mais de três semanas de idade, quando contaminadas, eliminam os vírus nas fezes por até cinco dias (Calnek *et al.*, 1960).

O VEA é carregado entre granjas, principalmente através do homem e de fômites. Alimentos, água, cama, calçados e equipamentos contendo fezes contaminadas constituem as principais fontes de infecção de lotes adultos na transmissão horizontal do VEA. A infecção se espalha rapidamente de ave para ave numa mesma divisão, entre boxes e entre galpões de um mesmo núcleo quando medidas de biosseguridade não são adotadas. Em aves criadas em gaiola, como no caso das poedeiras comerciais, a transmissão horizontal também ocorre, porém de maneira mais lenta. Embora a via oral - fecal seja o modo mais fundamentado na transmissão do vírus da EA a infecção pela via ocular foi sugerida por Calnek *et al.* (1960). A transmissão horizontal precoce poderá ocorrer no incubatório por contato em caixas de pintos durante o transporte, durante o nascimento, ou na própria granja. Nestes casos o aparecimento dos sinais nervosos nos pintos contaminados irá se manifestar mais tardiamente entre a segunda e terceira semana de vida.

A forma primária de disseminação do VEA é através dos ovos produzidos por galinhas infectadas. A transmissão do VEA pelo ovo é um fenômeno que tem sido bem fundamentado. A infecção da reprodutora durante o período de produção pode resultar em pintos infectados. Ainda que não se saiba bem o tempo exato para que as galinhas transmitam o VEA através do ovo – uma vez que tenham se infectado -, semelhante a outras enfermidades, provavelmente este tempo é variável. Experimentalmente, tem sido demonstrado que o vírus dissemina-se através do ovo entre 5 e 13

dias depois da infecção da galinha. Os sinais clínicos de EA em um lote de pintos infectados por meio de transmissão pelo ovo geralmente ocorre em duas fases. As aves mostrarão a doença durante a primeira semana de vida, e alguns pintos mostrarão sinais da doença no momento do nascimento. Estes pintos infectados irão espalhar o VEA nas fezes, atuando como uma fonte de infecção para aves saudáveis, que se infectam por via oral, ao bicar as fezes e a cama contaminada (Calnek *et al.*, 1960).

## Vias de inoculação

A via de inoculação intracerebral produz os resultados mais consistentes na reprodução do quadro de EA nas galinhas. Outras vias não naturais já testadas experimentalmente são: intraperitoneal, subcutânea, intradermal, intravenosa e intramuscular. As vias naturais de inoculação mais utilizadas são a oral, a ocular e a nasal (Calnek *et al.*, 1960). A via ocular é um eficiente modo de aplicação da vacina contra a EA devido a permitir a replicação viral no trato digestivo superior (Shafren *et al.*, 1992).

## Período de incubação

Estudos conduzidos por Calnek *et al.* (1961) demonstraram que o período de incubação do VEA em pintos infectados por transmissão vertical é de 1 a 7 dias. Tem sido demonstrado que os pintos infectados enquanto embriões podem transmitir o vírus a outros pintos durante a eclosão. Pintos suscetíveis, contaminados por transmissão horizontal, apresentam um período de incubação mínimo de 11 dias. Quanto à transmissão horizontal (que ocorre dentro do galpão) os sinais são evidentes a partir de 10 a 12 dias de idade. Após cinco semanas de idade as aves são mais resistentes à infecção. Aves mais velhas albergam o vírus por cinco a seis dias; entretanto, em aves jovens o vírus é excretado por até três semanas.

## Resistência com a idade

A razão pela qual a doença aparece em forma diferente em aves de idades diferentes deve-se a um fenômeno conhecido como resistência com a idade. Uma ave de qualquer idade pode infectar-se com o vírus, mas somente os pintinhos infectados nas primeiras semanas de vida mostram sinais neurológicos de EA. Experimentalmente, tem sido observado que a infecção natural via oral deve ocorrer antes que o pinto tenha quatro semanas de idade, para que possa desenvolver os sinais neurológicos.

A incidência mais alta da doença é observada em aves infectadas durante as primeiras duas semanas de vida. Esta resistência com a idade parece depender da maturação do sistema imunológico humoral. Pintos muito jovens não podem desenvolver uma resposta imunológica ativa de uma magnitude adequada que previna a rápida replicação do vírus no cérebro, o que resulta em dano severo ao sistema nervoso. Quando as aves adultas infectam-se de forma natural, o sistema imunológico apresenta a capacidade de prevenir a replicação viral nas áreas vitais do cérebro, por isso não são observados sinais clínicos da doença.

## Sinais clínicos

Em condições naturais a presença dos sinais clínicos irá depender da idade das aves, do estado

imunológico do plantel e da via de transmissão do vírus. A EA se apresenta em duas formas clínicas principais: sinais neurológicos clássicos em pintos jovens e a forma da doença em aves adultas sem manifestação nervosa.

## **1. Infecção aguda em aves jovens de até quatro semanas**

Os sinais clínicos são extremamente variáveis, mas todos são indicativos de uma doença do sistema nervoso. O primeiro sinal clínico é quando os pintinhos não estão ativos ou não se movem, o que pode ser seguido por falta de coordenação progressiva dos músculos. Os pintos apresentam andar cambaleante, fraqueza, tristeza, incapacidade para manter-se de pé e, se caem, dificilmente levantam-se. Quando são forçados a mover-se, os pintos afetados mostram pouco controle sobre seus movimentos e, com o tempo, estão incapacitados de comer e beber. Um sinal clássico da EA é quando apresentam tremores muito rápidos e delicados no corpo e particularmente na cabeça e pescoço. Ainda que muitas vezes não sejam observados estes sinais, esta característica denominou a doença com seu nome original de tremor epidêmico.

Geralmente, as aves doentes morrem por incapacidade para comer e beber, ou por bicagem e canibalismo pelas outras aves saudáveis. Alguns pintos afetados podem sobreviver e recuperar-se por completo. A mortalidade é variável, podendo atingir 50%, mas geralmente é muito mais baixa. Aves sobreviventes frequentemente desenvolvem cegueira tardia e formação de catarata que pode ser observada nos olhos afetados, podendo ocorrer em alta porcentagem (acima de 40% dos casos). Geralmente, as lesões são observadas como uma opacidade ou coloração azulada de um ou ambos os olhos. (Calnek *et al.*, 1997).

## **2. Sem sinais nervosos em aves acima de cinco semanas de idade**

Normalmente, sinais de EA em frangas acima de quatro semanas de idade são pouco aparentes. A transmissão horizontal do VEA, em planteis adultos suscetíveis, provoca leve queda temporária na produção de ovos, entre 5 e 10% sem alterações significativas da qualidade da casca. Em lotes de reprodutoras, esta queda da produção geralmente é imperceptível. Pode-se observar uma queda temporária na eclosão dos ovos produzidos neste período que poderá cair em até 20% devido, principalmente, a mortalidade embrionária nos últimos dias de incubação. Os pintos nascidos durante o período de baixas na eclosão poderão apresentar sintomas nervosos e ou mortalidade nas primeiras semanas de vida.

### **Morbidade e mortalidade**

Nos casos de transmissão vertical a morbidade pode alcançar até 40% nos pintos nascidos provenientes de lotes suscetíveis. A mortalidade pode atingir até 20% dependendo das condições ambientais e de manejo dos lotes.

### **Patogenia**

Existem diferenças significativas entre as cepas do VEA de campo e aquelas adaptadas em embrião em termos de patogenia. Isto se deve a perda das propriedades enterotrópicas que caracterizam as cepas adaptadas em embrião e que estão presentes nas cepas de campo. Consequentemente as cepas adaptadas são relativamente não infecciosas por via oral, não se



reproduzem no tubo digestivo e não são excretadas nas fezes após inoculações paraenterais (Tannock e Shafren, 1994). O VEA replica-se no cérebro, parede muscular do trato digestivo, pâncreas e outros órgãos internos. Os danos no SNC causados pelo VEA são responsáveis pelos sintomas nos pintinhos. A via natural da infecção do VEA é oral e a doença é diagnosticada pelas lesões histopatológicas típicas no cérebro e órgãos internos.

### Patogenia das cepas não adaptadas em ovos

As cepas não adaptadas em ovos são mais enterotrópicas que as cepas adaptadas e se replicam no trato digestivo de aves suscetíveis em níveis que permitem a excreção do vírus nas fezes em concentrações suficientes a induzir doença clínica em pintos suscetíveis infectados por via oral. Após ganhar o trato digestivo o vírus pode ser detectado no pâncreas, fígado e baço, três dias após infecção. Nos dias subsequentes o vírus pode ser detectado em outros tecidos do trato digestivo tais como proventrículo, intestino delgado, ceco, músculos esqueléticos e sistema nervoso central (Tannock e Shafren, 1994). No trato digestivo a infecção atinge até as camadas musculares. No pâncreas o vírus é encontrado nas células acinares e células das ilhotas de Langerhans. O antígeno viral é abundante no SNC nas células de Purkinje e cerebelo, locais que aparentemente, favorecem a replicação viral (Calnek *et al.*, 1997).

Padrões de infecção similares têm sido observados em aves adultas inoculadas pela via oral com cepas não adaptadas em ovos. Nestes casos os maiores títulos são detectados no fígado, baço, pâncreas e folículos ovarianos. Nos folículos ovarianos o vírus permanece em altos títulos por duas semanas, permitindo sua transmissão para grande número de ovos (Ikeda e Matsuda, 1976).

A inoculação de pintos suscetíveis com cepas não adaptadas em ovos pelas vias: oral, subcutânea, intramuscular e intracerebral, podem induzir sintomas nervosos indistinguíveis, sob o ponto de vista clínico, de pintos naturalmente infectados com cepas de campo (Calnek *et al.*, 1960).

Shafren e Tannock (1991) determinaram concentrações de antígenos em vários órgãos de pintos infectados com cepas de campo, cepas não adaptadas de vacinas e cepas adaptadas em ovos, através da detecção de antígeno por ELISA. As concentrações mais altas de antígeno foram detectadas no coração, fígado, pâncreas e intestino delgado de aves infectadas com o vírus de campo e cepas não adaptadas de vacina que em aves inoculadas com o vírus adaptado em ovos. Entretanto as concentrações no cérebro foram iguais para os três tipos de vírus.

Cheville (1970) observou que pintos infectados no primeiro dia de vida geralmente morrem enquanto que os infectados aos oito dias desenvolvem paralisia transitória e podem sobreviver. A infecção aos 28 dias de idade não produziu sinais clínicos. A bursectomia, mas não a timectomia, interfere com a resistência ligada à idade o que demonstra o importante papel da imunidade humoral na patogenia desta enfermidade.

### Patogenia das cepas adaptadas em ovos

Cepas adaptadas em ovos são provavelmente mutantes laboratoriais devido à seleção artificial de amostras de campo. Os estudos de laboratório com estas cepas provavelmente não são representativos das infecções com cepas de campo. A maioria dos estudos da patogenia do vírus

adaptado em ovos foi conduzida com embriões e pintos suscetíveis. A infecção de embriões e aves suscetíveis com as cepas adaptadas em ovos mostra sua capacidade de produzir alterações histopatológicas em inúmeros tecidos. Os embriões inoculados com vírus adaptados em ovos apresentam encefalomalácia e distrofia muscular de intensidade e extensão variáveis. Após inoculação no saco da gema o vírus é detectado primeiramente no cérebro do embrião três a cinco dias pós infecção (p.i.) e posteriormente na maioria dos tecidos. Os títulos máximos do vírus ocorrem no cérebro seis a oito dias p.i. (Tannock e Shafren, 1994).

As cepas adaptadas em ovos, quando inoculadas via oral, em pintos suscetíveis de um a dois dias de idade, apresentam baixos títulos nos tecidos entéricos. Nos pintos as alterações são mais frequentes no SNC que nos demais órgãos, nas primeiras fases da infecção.

A resistência relacionada à idade, relativa à infecção com cepas adaptadas em ovos, foi observada tanto pela inoculação oral como subcutânea. Aves suscetíveis inoculadas por via intracerebral mostraram reduzida resistência relacionada à idade. A doença foi mais invasiva em poedeiras de 25 semanas, inoculadas pela via oral ou subcutânea com vírus adaptados em ovos, que aquela ocorrida em aves de 6 ou 14 semanas inoculadas pela mesma via com o mesmo vírus. O aumento da suscetibilidade de aves em produção à infecção pelo vírus adaptado em ovos poderia ter ocorrido devido a variações nos níveis hormonais induzidas pelo estresse da postura (Ikeda e Matsuda, 1976).

## Alterações anatomopatológicas

### Lesões macroscópicas

As lesões associadas à EA nos pintos são discreta congestão dos vasos das meninges e áreas esbranquiçadas no ventrículo – devido a massas de infiltrações de linfócitos. Estas alterações requerem prática e condições favoráveis para serem identificadas. Nenhuma alteração no SNC tem sido descrita em aves adultas infectadas. A opacidade de tonalidade azulada do cristalino é a alteração macroscópica em aves adultas. Miocárdio, camada muscular da moela, parede do proventrículo e pâncreas podem apresentar pontos brancos de tamanhos variados, não maiores do que a cabeça de um alfinete. (Calnek BW *et al.*, 1997).

### Lesões histopatológicas

De acordo com Bordin (1981) e Calnek *et al.* (1997) as alterações histopatológicas mais significativas e específicas nas infecções naturais estão no SNC e em algumas vísceras, e são observadas somente em animais jovens. As lesões mais evidentes ocorrem no cerebelo e medula espinhal, caracterizando-se por gliose focal ou difusa, presença de manguito perivascular, cromatólise central (reação axonal) neurônios do cerebelo, especialmente células de Purkinje – outros neurônios podem ter cromatólise, como por exemplo, neurônios substância cinzenta da medula.

O sistema nervoso periférico não está envolvido, característica esta de importância no estabelecimento do diagnóstico histopatológico diferencial. A histopatologia do SNC mostra uma encefalomielite não purulenta bem disseminada, com vasculite e infiltração perivascular por

células redondas (linfócitos). Microgliose nodular e difusa é característica nesta enfermidade e vista principalmente na camada molecular do cerebelo. Podem ser observadas também degeneração tigróide (dissolução dos grânulos de Nissl), satelitose e neurofagia, esta última nem sempre fácil de ser identificada. Nota-se também degeneração das células de Purkinje (Bordin, 1981). No mesencéfalo dois núcleos – núcleo rotundus e núcleo ovoidalis - são invariavelmente afetados com microgliose difusa que pode ser considerada patognomônica da enfermidade. Outra lesão de significância diagnóstica é a cromatólise central dos neurônios no núcleo do tronco cerebral. Em geral os sinais clínicos não podem ser correlacionados com a severidade das lesões ou sua distribuição no SNC (Calnek *et al.*, 1997).

As lesões viscerais aparecem como hiperplasia dos agregados linfóides dispersos de modo irregular através dos diferentes órgãos. No proventrículo, onde aparecem normalmente poucos linfócitos na camada muscular, nos casos de EA surgem densos agregados de linfócitos, achado este patognomônico da enfermidade. Lesões similares ocorrem na camada muscular da moela, mas este quadro também pode ocorrer na infecção pelo vírus da Doença de Marek. No pâncreas foliculos circunscritos são normais, mas na EA este número aumenta muitas vezes (Calnek *et al.*, 1997).

Pintos inoculados experimentalmente e sacrificados em períodos regulares mostraram sempre alterações histopatológicas um a dois dias antes dos sinais clínicos. As lesões são encontradas após o quinto dia da manifestação de sinais nervosos, em 100% das aves. A infecção pelo VEA não produz corpúsculos de inclusão. As lesões viscerais – miocárdio, moela, proventrículo, pâncreas, fígado – são caracterizadas por infiltração de células mononucleares. Aves que se recuperaram, sem apresentar sinais clínicos, apresentam lesões no SNC por pelo menos uma semana e provavelmente por mais tempo (Calnek *et al.*, 1997).

## Imunidade

### O papel dos anticorpos na resistência à infecção

Há muito se reconhece que a presença de anticorpos neutralizantes no soro das aves é o maior determinante a sua resistência à infecção pelo VEA. A bursectomia, mas não a timectomia, conduz a falha no estabelecimento da imunidade contra o VEA. A resistência relacionada a idade, está correlacionada com a habilidade das aves em produzir anticorpos neutralizantes contra o vírus. Em pintos com mais de três semanas de idade, a infecção do SNC aparentemente não progride a ponto de se evidenciar os sinais clínicos devido à capacidade de montagem de resposta imune humoral eficiente já nesta idade. Assim como na poliomielite humana, as imunoglobulinas da classe IgG no soro provavelmente evitam que o VEA atinja o SNC com o conseqüente desenvolvimento dos sintomas nervosos (Tannock e Shafren, 1994). Aves que se recuperaram de surtos naturais ou de infecções experimentais de EA desenvolvem anticorpos circulantes capazes de neutralizar o vírus.

### Imunidade ativa

Quando as aves são imunologicamente competentes, a resposta sorológica pode ser relativamente rápida. Calnek *et al.* (1960) mostraram que ovos postos, 11 dias após a infecção das

reprodutoras, já apresentavam anticorpos passivos desde que os pintos já são resistentes à infecção por contato ao nascimento. Testes de vírus neutralização (VN) com índice de neutralização (IN) de 1,1 ou maior podem ser encontrados entre 11 e 14 dias pós-infecção. Testes de imunodifusão (ID) podem se mostrar positivos entre 4 a 10 dias p.i. (Calnek *et al.*, 1997).

## Imunidade passiva

Os anticorpos são transferidos à progênie pela fêmea via saco vitelínico. A duração da proteção vai de três até 10 semanas de idade. A presença de anticorpos neutralizantes no intestino - seja através da ingestão da gema ou pela administração intraperitoneal de soro imune - mostra-se capaz de limitar o desenvolvimento de sinais clínicos da infecção e reduzir a excreção do vírus nas fezes (Tannock e Shafren, 1994). Os anticorpos passivos são os responsáveis pela resistência dos ovos embrionados à inoculação do VEA via saco da gema e formam a base dos testes de sensibilidade de embrião (Calnek *et al.*, 1997).

## Diagnóstico e provas correlatadas

### Isolamento e identificação do agente

Em aves com sinais clínicos, o cérebro é uma excelente fonte de vírus para o isolamento viral. Outros órgãos, como pâncreas e duodeno, são também importantes fontes de vírus. Um método de diagnóstico para a detecção, ou mesmo titulação do vírus, consiste em colher amostras do SNC e órgãos acima, triturar e inocular o macerado em ovos embrionados de aves SPF de cinco a sete dias de incubação via saco da gema. Incubar e observar presença de sinais clínicos - no momento do nascimento ou até o sétimo dia de vida -, caracterizados por severa atrofia, distrofia muscular, paralisia e pernas rigidamente estendidas. Na presença de sinais clínicos a histopatologia pode ser utilizada como diagnóstico, principalmente nos tecidos do SNC, proventrículo e pâncreas onde algumas alterações são características (vide lesões histopatológicas). A imunofluorescência direta pode ser aplicada em amostras do SNC, pâncreas e duodeno de aves afetadas. Resultados positivos são confirmatórios do diagnóstico, entretanto resultados negativos não são conclusivos. Novos testes, como a utilização de anticorpos monoclonais que reconhecem epítomos comuns do VEA podem ser utilizados tanto no diagnóstico como na titulação do vírus. Cultura de amostras suspeitas em cultivo de células de embrião de pintos e utilização de imunofluorescência indireta sobre esta cultura serve como diagnóstico da presença do VEA.

### Provas sorológicas

Aves expostas ao VEA desenvolvem anticorpos que podem ser titulados de acordo com testes de vírus neutralização (VN), imunofluorescência indireta, imunodifusão, ELISA e hemaglutinação indireta (Calnek *et al.*, 1997). É importante lembrar que, para provas sorológicas, o exame de amostras pareadas (fase aguda e de convalescença) poderá ter significância diagnóstica. Outro ponto a ser lembrado é que a repetição dos exames sorológicos deverá ser solicitada em caso de dúvida ou indefinição dos resultados.

### Prova de vírus neutralização

A cepa VR - adaptada em ovo - é indicada para se determinar a capacidade de neutralização da amostra de soro. Neste teste, os embriões de seis dias são inoculados por via saco da gema com diferentes diluições de vírus misturado com o soro. Após 10 a 12 dias, os embriões são examinados para se verificar a presença de lesões características – nanismo, distrofia muscular, hemorragias. Amostras de soros que apresentem índice de neutralização (IN) de 1,1 ou maior devem ser consideradas como evidência de exposição prévia da ave ao VEA. Entre lotes recentemente expostos ao VEA o IN pode estar entre 1,5 a 3,0. Os anticorpos podem ser detectados 12 dias após a infecção e permanecem em níveis significantes por vários meses (Calnek *et al.*, 1997).

## ELISA

Esta prova possui elevada correlação com a VN, apresentando melhor sensibilidade do que a prova de ID para avaliação da imunidade (Calnek *et al.*, 1997). O teste de ELISA combina várias vantagens: é sensível e específico, rápido, relativamente barato e permite a utilização em larga escala, o que é desejável para a monitoração da eficiência das vacinações.

## Monitoria da imunidade através do embrião

É uma prova utilizada para se determinar a imunidade de um lote teste através da resistência do embrião ao desafio. A cepa VR – adaptada em ovos – é inoculada via saco da gema em embriões de seis dias, provenientes do lote teste, em diluições que excedam ligeiramente o ponto final da titulação do vírus (usualmente diluições de 10<sup>-6</sup> a 10<sup>-7</sup>). Paralelamente embriões de mesma idade de um lote suscetível (SPF) são inoculados da mesma forma que os embriões do lote teste. Após 10 dias da inoculação os embriões são examinados em busca de lesões. O lote teste é considerado positivo – e desta forma protegido da infecção do VEA – sempre que a diferença entre os lotes for igual ou maior do que 10<sup>2</sup> EID<sub>50</sub> (dose infectiva para 50% dos embriões). Quando a diferença é menor que 10<sup>2</sup> EID<sub>50</sub> a imunidade é questionável. Quando não há diferença entre a EID<sub>50</sub> o lote é classificado como suscetível (Tannock e Shafren, 1994).

## Prova de suscetibilidade embrionária

Pelo menos 20 embriões de seis dias, provenientes do lote teste, são inoculados via saco da gema com 100 EID<sub>50</sub> da cepa VR – adaptada a ovos. Após um período de 12 dias de incubação os embriões são examinados em busca de lesões. O lote é considerado suscetível se 100% dos embriões foram infectados. Se a infecção for de não mais que 50% o lote é considerado imune. Figuras interdiárias devem ser consideradas como indefinidas e podem ser consideradas como exposição recente (Tannock e Shafren, 1994).

## Diagnóstico diferencial

Em casos de campo, sintomas como queda de postura e ou eclosão das aves adultas, aliado à sintomas nervosos nos pintos recém eclodidos, ou até a segunda semana de idade, são sugestivos de um quadro de EA. A confirmação da suspeita poderá ser obtida com o envio de amostras de órgãos selecionados de pintos com sintomas clínicos para exames histopatológicos desde que algumas lesões são patognomônicas da EA (vide lesões histopatológicas). Amostras dos órgãos, de não mais que 10mm de espessura, devem ser coletadas em formol a 10%. Os órgãos de eleição

consistem em: cérebro, cerebelo, medula oblonga, medula espinal, proventrículo, pâncreas. O nervo ciático e do plexo braquial devem ser enviados com finalidade de se tentar estabelecer diagnóstico diferencial com doença de Marek.

A EA deve ser diferenciada de outras enfermidades que causam sintomas nervosos. Dentre as enfermidades causadas por agentes infecciosos virais citamos como as mais importantes: doença de Newcastle e doença de Marek. As infecções bacterianas, por micoplasma e por fungos, principalmente quando ocorrem em pintos até duas semanas, devem ser excluídas. Nos perus o diagnóstico diferencial para meningoencefalomielite deve ser executado (Jordan e Pattison, 1996). Não somente as suspeitas de deficiências nutricionais causadas por vitamina E (encefalomalácia), vitamina D, Tiamina, Riboflavina, devem ser eliminadas, mas também, por minerais como cálcio e fósforo (raquitismo) (Calnek *et al.*, 1997; Bordin, 1981). Vários agentes tóxicos, incluindo drogas utilizadas regularmente em avicultura, também determinam sintomas nervosos em idade precoce. Os ionóforos e nitrofuranos são os envolvidos com maior frequência.

A EA é predominantemente uma enfermidade que acomete pintos até três semanas de idade. A doença de Newcastle pode também acometer aves nesta idade, entretanto as lesões macro e microscópicas permitem a diferenciação entre as duas patologias. A histopatologia também é de grande auxílio para se diferenciar a EA das deficiências nutricionais como vitamina E, D, tiamina e riboflavina. Além disso, os sintomas da encefalomalácia e raquitismo geralmente ocorrem mais tarde e, nestes casos, mesmo as lesões macroscópicas podem contribuir para o diagnóstico diferencial. Encefalomalácia não ocorre antes de duas semanas de vida. Há aumento do mesencéfalo e cérebro até duas vezes o tamanho normal, com coloração branco-acinzentada, sendo que na encefalomielite aviária a coloração é branco-opaca. Ocorrem hemorragias petequiais no mesencéfalo e cérebro, e este se encontra amolecido e mais úmido, devido ao edema; na EA a consistência é normal. Ao corte, no cerebelo em condições normais, visualiza-se macroscopicamente uma estrutura em forma de uma “árvore”. Na EA esta “árvore” está normal. Na encefalomalácia, a “árvore” funde-se de forma desordenada e a área encontra-se mais avermelhada.

A doença de Marek, que geralmente ocorre mais tardiamente, não deve apresentar grandes dificuldades no estabelecimento do diagnóstico diferencial, tanto pelo quadro macroscópico de linfomatose dos diferentes órgãos, como também pelas lesões histopatológicas no sistema nervoso central e periférico (Calnek *et al.*, 1997; Bordin, 1981).

Lotes de poedeiras comerciais, não vacinados contra EA e que apresentem queda de postura devem sofrer sorologia pareada, também para EA, a fim de contribuir para o estabelecimento do diagnóstico diferencial com outras enfermidades que também produzem queda de postura. As lesões histopatológicas - tanto no trato reprodutor como em outros órgãos de poedeiras adultas infectadas pelo VEA - não apresentam maior contribuição para o diagnóstico da enfermidade (Profª. Drª. Nair M.K. Ito, comunicação pessoal).

Sob o ponto de vista da saúde pública a EA, por si, não constitui um risco. Entretanto o seu diagnóstico conclusivo se revela de importância para se diferenciar de zoonoses tais como a influenza aviária e encefalomielite equina (Morris *et al.*, 1994; Reis e Nóbrega, 1956).

# Prevenção e controle

## Tratamento

Não existe tratamento satisfatório para a EA. A separação dos pintos que apresentam sintomas nervosos, em locais de mais fácil acesso à água e alimento, poderá ser de valor na recuperação natural de algumas aves.

## Vacinação

A vacinação sistemática de plantéis reprodutores e aves de postura comercial, durante a fase de criação, se constitui em um instrumento de grande valor no controle da EA. A imunidade humoral das reprodutoras transmitida à progênie, via saco vitelínico, garante a proteção dos pintos contra desafios de campo, até a terceira semana de vida. Os objetivos principais da vacinação são prevenir as quedas de produção resultantes das infecções com o VEA nas galinhas em produção; e em aves reprodutoras, prevenir a transmissão do VEA à progênie através do ovo, o que pode causar doença nervosa e mortalidade.

## Vacinas vivas

Calnek *et al.* (1961) publicaram um trabalho de imunização de aves com um isolado de número 1143 que até hoje se constitui na amostra de eleição para a produção de vacinas vivas. A amostra #1143 foi isolada de cérebro de pintos naturalmente infectados e multiplicada em passagens sucessivas em embrião de galinha. A amostra #1143, também conhecida como Calnek, provou ser segura e eficaz em condições de campo para a imunização de plantéis por via oral, ocular, nebulização. As vacinas podem ser congeladas ou liofilizadas. Após administração o vírus vacinal se comporta como uma cepa de campo, propagando-se pela via oral – fecal. (Calnek *et al.*, 1997). Algumas vacinas comerciais são apresentadas para serem administradas via membrana da asa. Neste caso ocorreria primeiro a viremia para posteriormente ocorrer a disseminação da vacina pela via oral – fecal.

O programa de vacinação, com vacinas vivas, em reprodutoras e poedeiras comerciais tem a finalidade de estabelecer imunidade contra EA antes do início do período de produção. Apenas uma vacinação é suficiente para proteger o lote. As frangas podem ser vacinadas com vacinas vivas depois de oito semanas de idade. A vacina viva de EA deve ser administrada em reprodutoras, no máximo até quatro semanas antes do início da produção de ovos, não devendo ser administrada durante o período de produção. O vírus vacinal é transmitido verticalmente através dos ovos e pelas fezes durante as quatro semanas anteriores à vacinação. A EA clínica pode se apresentar na progênie, como resultado da transmissão vertical. Aves com menos de oito semanas de idade não devem ser vacinadas contra EA, sob o risco de se induzir sinais clínicos em aves expostas. A vacina pode ser administrada na água de bebida. Ainda que o vírus vacinal da EA administrado por via oral difunda-se rapidamente a outras aves dentro do mesmo lote, não se recomenda a vacinação de somente uma parte do lote, o que poderia resultar em uma proteção inadequada do lote. O programa de vacinação pode ser monitorado por provas sorológicas – de preferência ELISA, por sua rapidez - entre a 4ª e a 6ª semana após a aplicação da vacina - a fim de se constatar a eficácia da imunização, ou através da verificação da “pega” da vacina na membrana da asa cinco dias após a vacinação - se a vacina é administrada em combinação com a vacina de

bouba aviária inoculada na membrana da asa. Dependendo dos resultados uma nova vacinação deve ser realizada, obedecendo sempre o limite máximo de quatro semanas antes do início da produção, a fim de garantir imunidade à progênie.

## Vacinas inativadas

Vários pesquisadores estudaram preparados de VEA, inativados com betapropilactona, com a finalidade de imunização dos plantéis. Neste caso as doses de antígeno devem ser entre 100 a 1000 vezes maiores para imunizar eficientemente as aves. Vacinas inativadas podem ser utilizadas em plantéis para se estabelecer imunidade em galinhas em produção, se por descuido o lote de reprodutoras não foi vacinado ou exposto ao vírus no período de recria ou onde a vacinação com vírus vivo é contraindicada (Tannock e Shafren, 1994).

O vírus vacinal inativado não é transmitido através do ovo, como o da vacina viva. A vacinação de lotes em produção com vacina inativada pode associar-se com queda temporária na produção de ovos. Frangos de corte não são vacinados, pois são protegidos por anticorpos maternos, resultado de imunização das reprodutoras. A administração de vacina contra EA em frangos de corte pode induzir a doença clínica.

## Acidentes e falhas de vacinação

Segundo Calnek *et al.* (1997) é muito importante que a cepa do VEA selecionada não se adapte ao embrião durante a produção da vacina, pois neste caso, perderia sua capacidade de se replicar no trato digestivo e assim não ser eficaz na imunização das aves pelas vias naturais. Além disso cepas adaptadas em ovos podem se tornar mais neurotrópicas e capazes de causar sintomas clínicos nervosos quando administradas via membrana da asa (Glisson e Flechner, 1987). Vírus adaptados podem ser eliminados das sementes vacinais por passagem em pintos SPF inoculados oralmente (Calnek *et al.*, 1997). Smyth *et al.* (1994) descreveram dois casos de aparecimento de sintomas nervosos após a administração oral de uma mesma partida de vacina contra EA. Mesmo que tenha ocorrido imunossupressão por outro agente que tenha favorecido a invasão do SNC pelo vírus vacinal de EA, este fato abre precedente para que seja feita a também a pesquisa de VEA, sempre que houver sintomas nervosos em aves adultas.

Por vezes deparamos com lotes sabidamente vacinados cuja progênie apresenta quadros clínicos de EA acompanhados ou não de quedas de eclosão. Lembramos que a vacinação de reprodutoras pesadas é realizada no período de recria onde a restrição alimentar, coccidiose clínica e subclínica, enterites e outras condições que provocam imunossupressão, podem afetar o resultado da vacinação. Como a imunidade humoral apresenta correlação direta com proteção, a monitoria sorológica quatro semanas após a vacinação é indicada, pois mostrará o estado imunológico do plantel, antes do início da produção.

## Conclusões

Alguns pontos são dignos de nota no estudo a EA. Os primeiros estudos foram feitos quando não havia disponibilidade de pintos SPF (suscetíveis a EA) o que levou muitos pesquisadores a falsas conclusões sobre a patogenia e epizootiologia da EA. Outro ponto foi a eleição da amostra Van



Roekel do VEA, adaptada a embriões, como amostra de estudo sobre a EA. Infelizmente esta não era a cepa representativa do vírus de campo no que se refere a patogenia e epizootiologia. Estes fatos sem dúvida atrasaram os estudos desta enfermidade (Calnek, 1998).

Ainda alguns fatos relacionados a EA permanecem sem resposta. Por que ocorre a queda de postura em aves adultas? Talvez o maior conhecimento do genoma do VEA possa explicar por que cepas de campo são enterotrópicas e cepas adaptadas em ovos são neurotrópicas (Tannock e Shafren, 1994).

## Bibliografia

- Bordin EL. Patologia do sistema digestivo. In: Tratado de ornitopatologia sistêmica. São Paulo: Nobel; 1981.
- Butterfield WK. *et al.* Studies on avian encephalomyelitis. IV Early incidence and longevity of histopathologic lesions in chickens. **Avian Diseases** 1969; 13:53-57.
- Calnek BW. *et al.* Studies on avian encephalomyelitis. IV. Epizootiology. **Avian Diseases** 1960; 4:325-347.
- Calnek BW. *et al.* Studies on avian encephalomyelitis. V. Development and application of an oral vaccine. **Avian Diseases** 1961; 5:297-312.
- Calnek BW, Luginbuhl RE, Helmboldt CF. Avian encephalomyelitis. In: Calnek. BW. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.571-581.
- Calnek BW. Control of avian encephalomyelitis: a historical account. **Avian Diseases** 1998; 42:632-647.
- Cheville NF. The influence of thymic and bursal lymphoid systems in the pathogenesis of avian encephalomyelitis. *American Journal of Pathology* 1970; 58:105-125.
- Frazier MN. Breeder vaccination against AE is necessary. *Zootecnica International*, march, 1995.
- Glisson J. Encefalomiélitis aviar: una nueva ojeada a una enfermedad antigua. *Industria Avícola* 1998; 45(3):23-26.
- Glisson JR, Fletcher OJ. Clinical encephalitis following avian encephalomyelitis vaccination in broiler pullets. **Avian Diseases** 1987; 31:383-385.
- Gosting LH. *et al.* Physic-chemical and morphological characteristics of avian encephalomyelitis virus. *Veterinary Microbiology* 1980; 5:87-100.
- Ikeda S, Matsuda K. Susceptibility of chickens to avian encephalomyelitis virus. IV Behaviour of the virus in the layer hens. *National Institute of Animal Health Q*1976; 16:83-89.
- Jones EE. An encephalomyelitis in the chicken. *Science* 1932; 76:331-332.

Jones EE. Epidemic tremor, an encephalomyelitis affecting young chickens. *Journal of Experimental Medicine* 1934; 59:781-798.

Jordan FTW, Pattison M. Diseases associated with the picornaviridae. In: Calnek WB. *Poultry diseases*. London: Sanders; 1996. p.187–190.

Liu J, Wei T, Kwang J. Avian encephalomyelitis virus induces apoptosis via major structural protein VP3. *Virology* 2002; 300:39-49.

Liu J, Wei T, Kwang J. Avian encephalomyocarditis virus nonstructural protein 2c sytochrome c/caspase-9 pathway. *Virology* 2004; 318:169-182.

Mancini LO, Yates VJ. Cultivation of avian encephalomyelitis virus in vitro: I in chicken embryo neuroglial cell culture. **Avian Diseases** 1967; 11:672-679.

Marvil P, Knowles NJ, Mockett APA, Britton P, Brown TDK, Cavanagh D. Avian encephalomyelitis virus is a picornavirus and is most closely related to hepatitis A virus. *Journal General Virology* 1999; 80:653-662.

Morris CD. *et al.* Comparison of chickens and pheasants as sentinels for eastern equine encephalitis and St. Louis encephalitis viruses in Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association* 1994; 10:545-548.

Nicholas RAJ. *et al.* Replication of avian encephalomyelitis virus in chicken embryo neurological cell culture. *Archives of Virology* 1987; 96:283-287.

Reis J, Nóbrega P. Encefalomielite aviária. In: *Tratado de doença das aves*. 2ª ed. São Paulo: Melhoramentos; 1956. p.207-211.

Reis J, Nóbrega P. Infecção das aves pelo vírus da encefalomielite equina. In: *Tratado de doença das aves*. 2ª ed. São Paulo: Melhoramentos; 1956. p213-218.

Schaaf K. Immunization for the control of avian encephalomyelitis. **Avian Diseases** 1958; 3:279-289. Smyth JA. *et al.* Avian encephalomyelitis following oral vaccination. **Avian Pathology** 1994; 23:435-445.

Shafren DR, Tannock GA. The pathogenesis of avian encephalomyelitis virus. *Journal of General Virology* 1991; 72:2713-2719.

Shafren DR. *et al.* Antibody responses to avian encephalomyelitis vaccines when administered by different routes. *Australian Veterinarian Journal* 1992; 69:272-275.

Tannock GA, Shafren DR. A rapid procedure for the purification of avian encephalomyelitis viruses. **Avian Diseases** 1985; 29:312-321.

Tannock GA, Shafren DR. Avian encephalomyelitis: a review. **Avian Pathology** 1985; 23:603-620.

Van Roekel H. *et al.* Preliminary report on infectious avian encephalomyelitis. Journal of American the Veterinary Medical Association 1938; 93:372-375.

<b>Introdução</b>	<b>777</b>
<b>Etiologia</b>	<b>777</b>
<b>Epidemiologia</b>	<b>778</b>
<b>Patogenia</b>	<b>779</b>
<b>Sinais clínicos e alterações patológicas</b>	<b>779</b>
<b>Imunologia</b>	<b>780</b>
<b>Diagnóstico viral</b>	<b>781</b>
<b>Prevenção e controle</b>	<b>781</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>783</b>

Clarice Weis Arns, Marcelo Zuanaze

## Introdução

Metapneumovírus Aviário (MPVA), em inglês: Avian Metapneumovirus-aMPV, também conhecido como Pneumovírus Aviário (PVA) e Rinotraqueíte dos Perus (TRT), é responsável por infecções agudas do trato respiratório superior de perus e está associado a problemas respiratórios e a Síndrome da Cabeça Inchada (SCI) em galinhas.

Os primeiros relatos da presença do MPVA em produções avícolas foram realizados no final dos anos 70, na África do Sul associados a rinotraqueíte dos perus (Turkey Rhinotracheitis-TRT). Este quadro, popularmente conhecido na África do Sul como “DIKKOP” (Cara Inchada) foi denominado pelos autores de Swollen Head Syndrome - SHS (Síndrome da Cabeça Inchada-SCI).

No início da década de 1980, a ocorrência concomitante de um surto de doença respiratória em perus, caracterizada pelo aparecimento de rinotraqueíte e em galinhas com SCI (tanto matrizes reprodutoras como frangos de corte) alojadas próximas às criações de perus, na Inglaterra e na França, levou-se a supor que tanto a SCI como a rinotraqueíte dos perus possuíam a mesma etiologia.

Logo após foram relatados vários surtos de SCI e TRT e muitas vezes isolado o vírus em vários países como na Alemanha, no Brasil, na Espanha, França, Holanda, na Inglaterra, em Israel tanto em perus, frangos de corte, em poedeiras e matrizes e em galinhas d'Angola. Atualmente o PVA tem uma distribuição mundial, principalmente por levantamento sorológico e detecção viral, apesar de muitas vezes o vírus não ter sido isolado nos lotes com sorologia positiva.

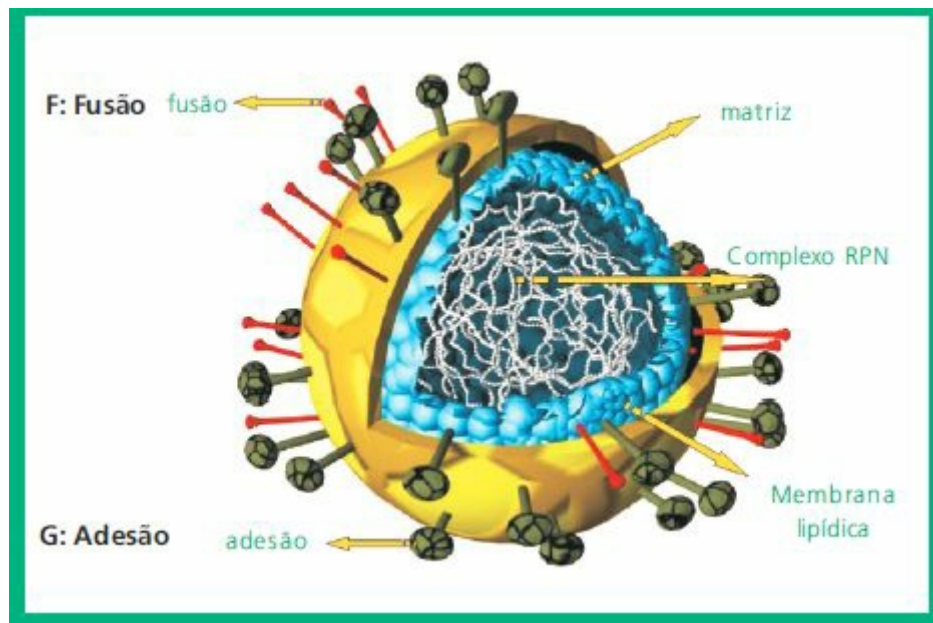
## Etiologia

Metapneumovírus aviário é o agente etiológico da Rinotraqueíte dos perus (TRT) e da Síndrome da Cabeça Inchada (SCI) em aves comerciais. O MPVA está associado aos principais patógenos de doenças respiratórias em aves, pertence a família Paramyxoviridae, subfamília Pneumovirinae, gênero Metapneumovirus. O MPVA, anteriormente classificado dentro do gênero Pneumovirus, foi re-classificado como Metapneumovirus uma vez que apresenta o genoma na forma de RNA fita simples negativa contendo oito genes organizados em uma ordem diferente dos outros 10 gêneros de Pneumovirus de mamíferos como o vírus sincicial respiratório (RSV).

São vírus envelopados, com o genoma composto por fita simples de RNA, sentido negativo com 15 a 16Kbs, contendo seis ou mais genes e codificam sete polipetídeos virais. O envelope apresenta projeções medindo em torno de 13 a 15nm de comprimento. Não apresentam atividade hemaglutinante e neuramínica, sendo incapaz de aglutinar eritrócitos de mamíferos e aves. São

sensíveis ao éter, clorofórmio e são inativados a 56°C por 30 minutos.

As glicoproteínas F (fusion) e G (attachment) do MPVA são as mais imunogênicas (**Figura 1**). A glicoproteína G é conhecida por ser a proteína mais variável. Dados obtidos por determinação da sequência nucleotídica do gene G de isolados de PVA obtidos em diferentes países Europeus e em diferentes tempos, indicam uma considerável variação na seqüência de aminoácidos da glicoproteína G, evidenciando existência de subtipos distintos. A glicoproteína G por ser a proteína mais variável tem grande importância na classificação viral e caracterização dos subtipos e como antígeno vacinal.



**Figura 1** - Ilustração do Metapneumovírus indicando as glicoproteínas de superfície ancoradas na membrana lipídica da partícula (F de fusão e G de adesão), o complexo de RNA polimerase e a proteína da matriz (M). Imagem capturada da University of Warwick-UK disponível em <http://template.bio.warwick.ac.uk/staff/easton/>

## Epidemiologia

O Metapneumovírus tem distribuição mundial nas aves comerciais e é causador de uma doença aguda e altamente contagiosa do trato respiratório em perus e com menor gravidade em galinhas. Também foi relatada a presença de MPVA em galinha d'Angola, faisões, patos e avestruzes com sinais clínicos brandos assim como em populações de aves silvestres em várias partes do mundo. A origem do MPVA ainda é obscura, embora os primeiros relatos da doença em perus tenham sido descritos na África do Sul. Assim, estes dados são sugestivos de que o Metapneumovírus Aviário possa ser um patógeno natural de aves nativas silvestres na África do Sul.

O PVA tem uma distribuição mundial, principalmente por levantamento sorológico e detecção viral, apesar de muitas vezes o vírus não ter sido isolado nos lotes com sorologia positiva. Até o momento existem quatro subtipos distintos (A, B, C e D) de PVA identificados, sendo A e B os mais prevalentes. O subtipo C foi identificado apenas nos Estados Unidos da América e o subtipo D surgiu isoladamente a partir de um surto de Rinotraqueíte dos Perus na França, merecendo, portanto maiores estudos. No Brasil foi identificado primeiro o subtipo A e após quase duas décadas foi também identificado o subtipo B, seguindo o padrão ocorrido na Europa.

A situação da SCI no Brasil foi relatada por Arns & Hafez em 1992, através de imunodiagnóstico utilizando como ensaio de soroneutralização e o teste de ELISA indireto, demonstrando a prevalência de 65 a 70%. Posteriormente foi realizado um levantamento sorológico onde foram detectados anticorpos para o MPVA em frangos de corte, matrizes e poedeiras, nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, demonstrando deste modo sua ampla distribuição no país. O Isolamento do MPVA foi realizado a partir de perus e galinhas comerciais com sintomatologia respiratória e as amostras foram caracterizadas, seqüenciadas e identificadas como pertencentes ao subtipo A.

As perdas econômicas em frangos de corte devido a SCI situam-se em torno de 1% a 3% em condições favoráveis e 20% a 30% quando ocorrem complicações respiratórias ou infecções secundárias, principalmente por bactérias.

A transmissão do PVA ocorre de forma horizontal direta por via aérea, através do contato de aves doentes e sadias. De forma horizontal indireta através da contaminação da ração, água, cama, por transporte e outros. A transmissão vertical ainda não foi observada, sabendo-se somente da passagem de anticorpos maternos para a progênie

A transmissão é geralmente associada ao contato íntimo com superfícies contaminadas bem como fatores ambientais favoráveis. Assim, em condições de baixa umidade bem como má ventilação, calor intenso, poeira e clima seco, a disseminação da doença entre galinhas criadas em cama é rápida (cerca de 24 horas). No caso de aves criadas em gaiolas, em boxes ou galpões separados, a transmissão da doença pode ser lenta (cerca de uma a duas semanas).

O curso da doença em galinhas (SCI) varia de 5 a 10 dias sendo no máximo de seis semanas, com morbidade variável de 1 a 90%. A mortalidade bem como a morbidade varia de acordo com o agente secundário envolvido (*Escherichia coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Mycoplasmas* e ou vírus), tipo de criação, manejo e das condições ambientais. No caso de frangos de corte, dependendo do agente secundário, a mortalidade pode atingir 20% do plantel. Já entre matrizes, a mortalidade varia de 1 a 5% e se restringe àquelas que apresentam a cabeça inchada. Em perus o período de incubação é curto, em torno de três a cinco dias. A disseminação do PVA em plantéis de perus ocorre de forma rápida, sendo que em 24 a 48 horas o plantel pode estar contaminado e poucos animais são poupados da infecção. A infecção pode durar 7 a 10 dias, observando um abrandamento dos sinais clínicos. A rinotraqueíte dos perus apresenta-se de forma aguda e muito contagiosa. Em plantéis de perus a morbidade pode ser muito alta (até 100%) e a mortalidade variada dependendo das infecções secundárias, principalmente causadas por bactérias.

## Patogenia

A replicação viral ocorre no citoplasma das células epiteliais ciliadas que revestem a mucosa dos condutos nasais, da laringe e da traquéia das aves afetadas. Com a infecção, as células perdem a atividade ciliar, sendo que em perus pode-se observar inclusão citoplasmática eosinofílica.

O vírus provavelmente está presente no trato respiratório quatro a seis dias antes do aparecimento dos sinais clínicos. O vírus replica no epitélio ciliado do trato reprodutivo da mesma maneira como ocorre no trato respiratório. PVA alcança o oviduto através da corrente circulatória após a replicação primária no trato respiratório. Os sinais clínicos provavelmente são reflexos do dano

provocado pela multiplicação do vírus no epitélio ciliado, tanto na traquéia como no trato reprodutivo.

Considerando-se que a multiplicação viral é lenta, pode-se supor que a maioria das infecções in vivo seja assintomática ou restrita ao aparecimento de sinais leves (aumento de secreções e espirros devido a um processo de hiperplasia glandular) visto que em condições normais há uma reposição eficiente das células que revestem as mucosas. Por esta razão, anticorpos contra Metapneumovírus têm sido detectados em aves clinicamente saudáveis. Assim, fatores que comprometem a habilidade de reparação epitelial, que contribuem para um aumento da atividade secretória, deprimem as defesas locais ou o sistema BALT (tecido linfóide associado ao brônquio) como o stress, poeira, concentração de gases ambientais, doenças intercorrentes respiratórias e imunodepressoras contribuem para a instalação de agentes secundários, principalmente *Escherichia coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale* e Mycoplasmas.

Isto leva a um processo inflamatório intenso, principalmente nos condutores naso-lacrimais, onde se observa a presença de secreção muco-catarral, lacrimejamento e blefarite. A persistência de colonização bacteriana leva ao acometimento do tecido subcutâneo da região submandibular do tecido ósseo do crânio e ao final, à afecção das meninges, que é a fase que caracteriza a SCI.

## Sinais clínicos e alterações patológicas

As observações clínicas iniciais em frangos de corte são corrimento nasal, tosse ou espirros discretos, tumefação periocular (**Figuras 2 e 3**), aumento significativo e repentino da mortalidade assim como diminuição do apetite. O quadro evolui para um avermelhamento da conjuntiva com inchaço da glândula lacrimal. Após 12 a 24 horas as aves apresentam um edema subcutâneo na cabeça, que se inicia ao redor dos olhos, aumentando sob toda a cabeça e descendo para o tecido submandibular e nuca (**Figura 4**). Após 72 horas, as galinhas apresentam sinais neurológicos caracterizados por apatia, leve torcicolo e movimentos repentinos na cabeça, este quadro pode se agravar durante os dias subsequentes ocorrendo dificuldades motoras (**Figura 5**).



**Figuras 2 e 3** - Frango de corte com sinais clínicos de SCI.





**Figura 4** - Frangos de corte com edema subcutâneo na cabeça.



**Figura 5** - Frangos de corte com dificuldade motora.

Em matrizes, os primeiros sinais que se apresentam são falhas respiratórias brandas, rinite e conjuntivite, seguidas por falta de coordenação motora, torcicolo e opistótono, inchamento uni e bilateral facial, o qual ascende por toda cabeça. Durante os primeiros estágios da doença, as galinhas arranham a face com o pé, o que leva ao aparecimento de um prurido localizado.

Em geral menos de 4% do plantel é afetado, embora em algumas ocasiões só tenham sido observados sintomas respiratórios. A queda na produção de ovos também tem sido associada com a SCI. As aves mais susceptíveis são perus jovens e matrizes pesadas, principalmente na primeira semana de produção, seguido de frangos de corte e poedeiras. Nos galos foi observada uma diminuição da fertilidade em infecções associadas com vírus da bronquite infecciosa das galinhas e Metapneumovírus aviário.

Do ponto de vista clínico, a doença pode se manifestar sob as formas aguda e subaguda acometendo normalmente o trato respiratório superior, principalmente os cornetos nasais e traquéia. Na forma aguda as aves apresentam na fase inicial uma prostração profunda, aspecto comatoso ou estado de apatia (as aves ficam paradas durante três a cinco horas sem ingerir alimentos ou água) vindo ao óbito por inanição ou desidratação.

As principais alterações histopatológicas mostram inicialmente uma injúria do epitélio respiratório com diminuição da atividade ciliar e finalmente progressiva perda dos cílios, congestionamento subepitelial e hiperplasia das células epiteliais. Nas células ciliadas são observados corpúsculos citoplasmáticos acidófilos. Frequentemente são observados celulite, periostite e osteomielite dos ossos da cabeça. Em muitos casos ocorre também otite externa e interna além de meningite.

No cérebro observa-se gliose com hiperemia, concentração perivascular de leucócitos e em menor grau sangramento. Alterações degenerativas podem ser observadas somente nas células Purkinje do cerebelo. Como outros achados patológicos foram observados hiperemia renal e glomerulo-nefrite. As aves infectadas apresentam uma degeneração evidente dos folículos ovarianos mais desenvolvidos e dos óvulos maduros.

## Imunologia

Tanto nas infecções experimentais como infecções de campo levam à formação de anticorpos três semanas após a inoculação e infecção. Os anticorpos neutralizantes alcançam seu nível máximo em cinco a seis semanas pós-infecção. Podem ser encontrados anticorpos em frangos de corte, matrizes e poedeiras com ou sem sinais de SCI, não havendo correlação entre a presença de anticorpos e a doença clínica, mas sim com a infecção.

A exposição do trato respiratório a patógenos resulta na produção de anticorpos locais das classes IgM e IgG que são responsáveis pela neutralização do agente. Os anticorpos podem ser detectados através de reação imunoenzimática (ELISA), soroneutralização (SN) e imunofluorescência indireta (IFI). A ativação do sistema imune local e a produção de anticorpos circulantes são mecanismos importantes para a proteção após o desafio viral, mas a imunidade celular apresenta uma importância maior na defesa contra o PVA.

## Diagnóstico viral

Não existem sinais clínicos patognomônicos da infecção por MPVA em perus e galinhas. O quadro clínico pode se comportar de maneira variável dependendo das condições ambientais e infecções secundárias. Portanto sendo necessária a realização de uma análise laboratorial.

A confirmação da infecção por MPVA depende da demonstração do vírus no material coletado ou de anticorpos vírus-específico no soro.

Métodos sorológicos como soroneutralização, imunofluorescência indireta e ELISA mostram ser os métodos de escolha para diagnóstico deste agente.

Em geral, o vírus tem sido mais difícil de ser isolado em frangos do que em perus e se tem sugerido que este fato possa ser devido ao curto tempo de replicação do agente no tecido alvo, não estando mais presente quando do aparecimento dos sinais clínicos mais evidentes. O isolamento raramente é bem sucedido em aves com sinais clínicos severos, provavelmente devido à infecção secundária, ou o pico de infecção com partículas virais viáveis não estarem presentes nos tecidos afetados.

A metodologia utilizada para o isolamento viral do MPVA inclui inoculação em cultivos primários de embrião de galinha (FEG), inoculação em ovos embrionados, em cultivo de anel de traquéia (TOC) e multiplicação viral em linhagens celulares (principalmente VERO e CER-”Chicken Embryo Related”). As lesões observadas em células são efeitos citopáticos (ECP) com formação de sincícios, já em anel de traquéia, é observada uma ciliostase (diminuição dos batimentos ciliados). O sucesso do isolamento viral depende da quantidade de partículas virais viáveis na amostra enviada ao laboratório associado às ótimas condições de rotina do laboratório.

O uso de técnicas moleculares para estes fins tem aumentado nos últimos anos. As técnicas de PCR e *Real Time PCR* são descritas como pelo menos 100 vezes mais sensíveis que as técnicas de isolamento viral, além de oferecerem um rápido resultado.

O envio de material para diagnóstico (traquéia, pulmão, cabeça e ou suabe naso-traqueal) tanto para o isolamento como para análise molecular deve ser enviado tão logo que possível ao laboratório sob refrigeração não sendo necessário o précongelamento.

## Prevenção e controle

A prevenção ou controle do Metapneumovírus aviário deve-se iniciar por um rigoroso programa de biossegurança, pois fatores relacionados à ambiência são determinantes para o agravamento ou não de um quadro. Por isso cuidados quanto à qualidade da troca de ar do galpão, a utilização de manejo adequado, principalmente em relação à ventilação, criteriosas lavagens e desinfecções das instalações, utilizando nestas, princípios ativos adequados, assim como sua concentração, devem sempre ser considerados, já que a diminuição da carga viral no ambiente (baixando a pressão de infecção) é uma estratégia de fundamental importância em qualquer patologia aviária.

Uma vez que a infecção pelo Metapneumovírus aviário não pode ser controlada através de medicação, além da implementação de um programa de biossegurança, o uso de vacinas atenuadas em aves jovens e inativadas em matrizes e poedeiras antes do início da postura, tem se mostrado eficiente.

As vacinas foram inicialmente desenvolvidas para uso em Perus, mas também provaram ser benéficas no controle da infecção pelo Metapneumovírus aviário em galinhas. O uso de uma cepa atenuada do Metapneumovírus aviário foi capaz de proteger aves vacinadas, entre um e onze dias, contra o desafio com uma cepa patogênica até três semanas depois, sugerindo que a proteção pode ser adquirida dentro de poucos dias após a vacinação.

O cuidado com a eleição da cepa vacinal para delinear um programa de vacinação deve ser criterioso, pois se é conhecido que a vacinação com cepas heterólogas ao desafio de campo (subtipos distintos), não garante proteção eficaz, após 11 semanas da vacinação. Van de Zande *et al.*, 2000, re-isolaram vírus virulento de aves vacinadas, e desafiadas, após 11 semanas, com vírus heterólogos. Foi observado ainda que cinco semanas após a vacinação, o efeito booster somente foi observado em aves vacinadas e desafiadas com vírus heterólogos.

A vacinação de frangos de corte não tem até o momento o sucesso esperado, já que em algumas regiões de criação de frangos de corte no Brasil, aonde se tentou controlar o Metapneumovírus

com vacinações no primeiro dia, já hoje em dia não se vacinam mais, isso devido à falta de constância nos resultados. O controle dos sinais clínicos relacionados ao Metapneumovírus aviário foi conseguido fazendo-se um reforço no programa de biosseguridade (principalmente lavagem e desinfecção criteriosa das instalações).

A aplicação de vacinas vivas em perus, reprodutoras e aves de postura comercial já esta sacramentada como uma pratica eficaz no controle do Metapneumovírus aviário nestas, diminuindo sensivelmente a ocorrência de sinais clínicos. Em reprodutoras e aves de postura comercial a aplicação de duas doses de vacina viva atenuada, de preferência com vírus homólogo ao desafio de campo, via spray ou ocular ou nasal, associada à vacinação com vacina inativada na fase de recria, tem se mostrado eficiente, diminuindo a mortalidade, a queda de produção de ovos e a suscetibilidade das aves às alterações ambientais. O programa de vacinação contra *E. coli* e/ou

Pasteurelose, pode ser um auxílio na resposta da vacinação contra Metapneumovírus aviário. A vacinação de frangos de corte não tem sido eficiente principalmente porque algumas cepas de campo ou vacinais de Bronquite Infecciosa, em determinadas circunstâncias, inibem a multiplicação da cepa vacinal de PVA no trato respiratório. Recomenda-se a primovacinação com vacinas vivas, para estimular clones de memória, obtendo, assim, uma resposta melhor de anticorpos na segunda vacinação utilizando vacina inativada.

As questões relacionadas às facilidades ou possibilidades de se associar a vacina contra o Metapneumovírus aviário tem sido alvo de muitas pesquisas, sendo que avanços quanto à possibilidade da utilização de vacinas via in ovo, e a associação do Metapneumovírus aviário com o vírus da Bronquite Infecciosa Aviária e da Doença de Newcastle, outras duas enfermidades respiratórias muito comuns no mundo, são notáveis. Tarpey e Huggins (2007) mostram a proteção contra o Metapneumovírus aviário é mais precoce quando da vacinação in ovo, com uma cepa atenuada (em várias doses), se comparada á vacinação via ocular ou nasal, quando vacinaram aves SPF. Entretanto, uma diferença similar na resposta sorológica não foi observada nos embriões vacinados e com anticorpos maternos como foi demonstrado para perus (Worthington *et al.*, 2003). Embora os anticorpos maternos para o Metapneumovírus aviário afetem a resposta sorológica, não há impedimento para que ocorra uma vacinação bem sucedida. Embora ainda não esteja bem esclarecido se os anticorpos maternos afetam a replicação do Metapneumovírus aviário no trato respiratório. De qualquer maneira Worthington *et al.*, 2003, mostram que a resposta sorológica não se correlaciona com o desafio contra cepas patogênicas, e que a resposta imune celular é importante para a proteção.

Com relação à associação das cepas vacinais do Metapneumovirus aviário, com as cepas vacinais contra a Doença de Newcastle e da Bronquite Infecciosa, existem alguns estudos mostrando a possibilidade desta associação, mas resultados e pesquisas mais consistentes fazem necessários, para se adotar esta prática como rotina.

## Bibliografia

Arns CW, Hafez HM. Swollen head syndrome in poultry flocks in Brazil. Proceedings of the 41st Western Poultry Diseases Conference; 1992; Sacramento, California. USA. p.81-84.

- Arns CW. *et al.* Situation of avian pneumovirus in Brazil. *Virus Reviews & Research* 1997; 2(1-2):101-102.
- Bayon-Auboyer MH, Arnauld C, Toquin D, Eterradossi N. Nucleotide sequences of the F, L and G protein genes of two non-A/non-B avian pneumoviruses (PVA) reveal a novel PVA subgroup. *Journal of General Virology* 2000; 8:2723-33.
- Chacón JLV, Brandão PE, Buim M, Villarreal LYB, Ferreira AJP. Detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and molecular characterization of subtype B avian metapneumovirus isolated in Brazil. *Avian Pathology* 2007; 36:383-387.
- Dani MAC, Durigon EL, Arns CW. Molecular characterization of Brazilian avian pneumovirus isolates using RT-PCR, restriction analysis and sequencing of a G gene fragment. *Avian Pathology* 1999; 28:104-109.
- Collins MS, McIntosh K, Chanock RM. Respiratory syncytial virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Fields virology*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p.1313-1351.
- Cook JKA, Holmes HC, Finney PM, Dolby CA, Ellis MM, Huggins MB. A live attenuated turkey rhinotracheitis virus vaccine. 2. The use of the attenuated strain as an experimental vaccine. *Avian Pathology* 1989; 18:523-534.
- Cook JKA, Cavanagh D. Detection and differentiation of avian pneumovirus (metapneumoviruses): technical review. *Avian Pathology* 2002; 31:117-132.
- D'Arce RC, Coswig LT, Almeida LS, Trevisol IM, Monteiro MC, Rossini LI, Di Fabio J, Hafez HM, Arns CW. Subtyping of new Brazilian avian metapneumovirus isolates from chickens and turkeys by reverse transcriptase-nested-polymerase chain reaction. *Avian Pathology* 2005; 34(2):133-136.
- Juhász K, Easton AJ. Extensive sequence variation in the attachment (G) protein gene of avian pneumovirus: evidence for two distinct subgroups. *Journal of General Virology* 1994; 75:2873-2880.
- Morley AJ, Thomson DK. Swollen head syndrome in broiler chickens. *Avian Diseases* 1984; 28:338-343.
- Munir S, Kapur V. Regulation of the host cell transcriptional physiology by the avian pneumovirus provides key insights into host pathogen interactions. *Journal of Virology* 2003; 77:4899-4910.
- Tarpey I, Huggins MB. Onset of immunity following in ovo delivery of avian metapneumovirus vaccines. *Veterinary Microbiology* 2007; 124:134-139.
- Worthington KJ, Sargent BA, Davelaar FG, Jones RC. Immunity to avian pneumovirus infection in turkeys following in ovo vaccination with an attenuated vaccine. *Vaccine* 2003; 21:1355-1362.
- Van de Zande S, Nauwynck H, Pensaert M, Naylor C. Duration of cross-protection between subtypes A and B avian pneumovirus in turkeys. *The Veterinary Record* 2000; 147(5):132-134.

Laringotraqueíte infecciosa das galinhas

<b>Introdução</b>	<b>787</b>
<b>Histórico</b>	<b>787</b>
<b>Distribuição e ocorrência</b>	<b>788</b>
<b>Etiologia</b>	<b>788</b>
<i>Classificação, morfologia e composição</i>	788
<i>Replicação viral</i>	789
<i>Suscetibilidade a agentes físicos e químicos</i>	789
<i>Classificação de cepas</i>	790
<b>Patogenicidade</b>	<b>790</b>
<b>Patogenia e epizootia</b>	<b>790</b>
<b>Sinais clínicos</b>	<b>791</b>
<b>Alterações anatomopatológicas</b>	<b>792</b>
<b>Imunidade</b>	<b>792</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>792</b>
<i>Isolamento e cultivo do vírus</i>	793
<i>Exame histológico</i>	793
<i>Sorologia</i>	793
<i>Métodos moleculares</i>	793
<b>Prevenção e controle</b>	<b>794</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>794</b>

# Laringotraqueíte infecciosa das galinhas

Nilce Maria Soares Queiroz Gama, Cláudio Wageck Canal

## Introdução

laringotraqueíte infecciosa (LTI) é uma doença viral aguda do trato respiratório das galinhas que pode causar grandes perdas econômicas devido a alta mortalidade e diminuição da produção de ovos. A doença tem distribuição mundial, embora seja bem controlada em áreas de produção intensiva, onde podem ocorrer surtos esporádicos. É uma doença pertencente à lista B da Organização Internacional de Epizootias e, portanto, deve ser notificada ao serviço oficial de defesa sanitária animal local, além de fazer parte das doenças que devem ser controladas em plantéis livres de patógenos específicos.

A forma epizootica severa da doença é a tradicionalmente mais conhecida e caracterizada por sinais respiratórios que podem chegar a expectoração de muco sanguinolento e alta mortalidade. Já a forma enzoótica leve, também conhecida como LTI silenciosa, é a manifestação que é cada vez mais encontrada em países com indústria avícola desenvolvida. Esta forma é facilmente confundida com reações vacinais, irritação respiratória causada por excesso de amônia ou poeira, além de poder ocorrer concomitantemente com várias doenças respiratórias e imunodepressoras.

O agente etiológico é um *Herpesvírus*, da mesma subfamília do vírus da doença de Marek. O vírus é encontrado quase que exclusiva- mente no trato respiratório e pode ficar latente por longos períodos em aves infectadas ou vacinadas. Sua transmissão é exclusivamente horizontal e não existem evidências de que seja transmissível para o homem e outros mamíferos.

A LTI é responsável por severas perdas econômicas devido à alta morbidade e mortalidade, queda de produção de ovos e piora do desempenho de frangos. Em galinhas destinadas à produção de ovos comerciais, os maiores prejuízos ocorrem nos lotes a partir do início da produção, quando podemos observar alta refugagem, ausência de pico de produção e alta mortalidade.

## Histórico

A doença foi descrita pela primeira vez em 1925 nos EUA, embora alguns relatos indiquem que a doença já existia antes. A doença foi denominada anteriormente de Bronquite Infecciosa e Broncopneu- monia, sendo que, o termo laringotraqueíte foi usado em meados de 1930 e foi alterado para laringotraqueíte infecciosa em 1931, pelo Comitê Especial de Doenças de Aves da Associação Médica Veterinária Americana. O agente foi caracterizado como um vírus por Beaudette em 1937, após a demonstração de que a filtração não eliminava o agente. A LTI foi a primeira doença viral importante de galinhas para a qual foi desenvolvida uma vacina eficiente. No Brasil, o isolamento do vírus foi feito pela primeira vez por Hipólito e colaboradores na década de 1970.



## **Distribuição e ocorrência**

A doença é de distribuição geográfica cosmo-polita e de ocorrência cíclica em áreas endêmicas, principalmente em áreas de alta densidade de produção. Nas áreas onde a produção avícola é realizada em larga escala, existe a expectativa de uma maior prevalência e persistência do VLTI. A doença clássica já foi descrita em diversos países de vários continentes, inclusive no Americano. Sua ocorrência já foi demonstrada em diversas partes dos Estados Unidos, Holanda, França, Alemanha, Austrália, Inglaterra, Suécia, Hungria, Polônia, África do Sul, Índia e União Soviética.

A forma suave da doença já foi descrita por vários pesquisadores na Grã-Bretanha, Austrália, Estados Unidos e Nova Zelândia. A partir de 2001, foi identificada a forma de LTI Silenciosa, no Estado da Geórgia, Estados Unidos da América, cuja frequência vem aumentando continuamente. Em situações complicadas, sugere-se que o VLTI desempenhe importante papel na enfermidade respiratória multi-fatorial, juntamente com diversos fatores imunodepressores e outros agentes responsáveis por transtornos no trato respiratório.

No Brasil, na década de 1970, o VLTI foi isolado pela primeira vez por Hipólito e colaboradores, de galinhas com doença respiratória que também estavam infectadas com o vírus da doença de Newcastle. Em 1980, foi novamente isolado e caracterizado como de baixa patogenicidade para pintos de linhagem de corte e, posteriormente, denominado estirpe LT 1543. No Rio de Janeiro, foi descrita a primeira epidemia severa, entre 1981 e 1982, em poedeiras comerciais de 10 meses de idade, que apresentaram queda de 6% de produção e mortalidade de 5,5%. Vargas (1995) detectou anticorpos contra a LTI em plantéis do RS, embora não tenha encontrado sinais da doença aguda nem tampouco tenha conseguido isolar o vírus. Este autor analisou 1271 soros, detectando evidências sorológicas da presença do VLTI em aves de postura e frangos de corte, com incidência mais acentuada (63,3%) em aves de postura comercial e reforçando a possibilidade da presença da forma subclínica da LTI. Recentemente, o VLTI foi detectado em poedeiras comerciais e em frangos de corte com sinais clínicos leves ou ausentes, o que sugere tratar-se da LTI Silenciosa. Em 2003, Ito e colaboradores estudaram oito lotes de poedeiras comerciais de São Paulo que apresentavam sinais clínicos de doença respiratória e, em metade deles, foi confirmada a ocorrência de LTI através dos exames histológico, virológico e sorológico.

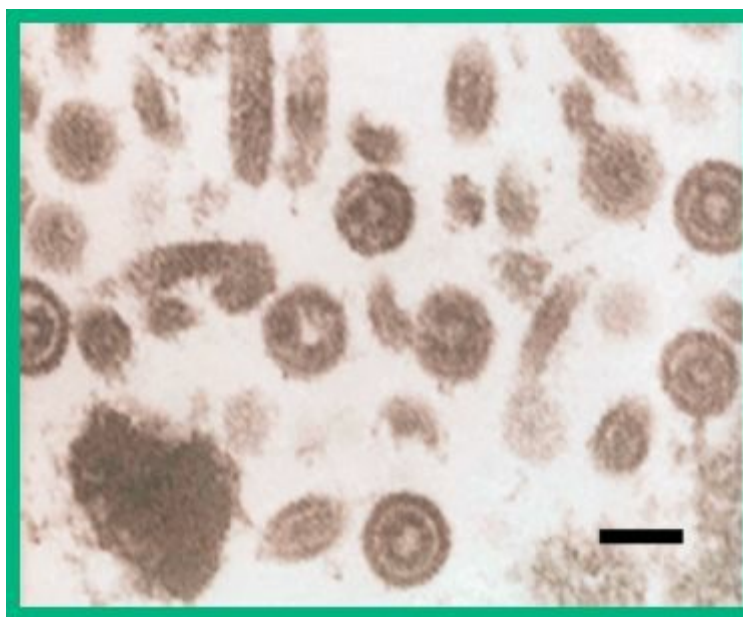
Em 2007, em Minas Gerais, foram encontrados 27,4% de positividade em 712 amostras de soro oriundas de poedeiras comerciais e matrizes, sugerindo que existe a presença do VLTI neste Estado e também reforçando a possibilidade da presença da forma subclínica da LTI.

Baseando-se nos dados acima descritos, pode-se concluir que as infecções pelo VLTI sejam mais prevalentes no Brasil do que se suspeitava. A doença, provavelmente, seja rara devido à presença de estirpes de vírus de baixa patogenicidade ou ao meio ambiente não favorecer a sua manifestação em nosso País. Outro fator que propicia a subestimação de sua importância é o seu envolvimento não ser considerado em casos de doença respiratória e a utilização de métodos de diagnóstico pouco sensíveis. Trabalhos de caracterização de isolados do vírus e inquéritos epidemiológicos mais amplos são necessários utilizando-se métodos de diagnóstico sensíveis e específicos para se conhecer a realidade das infecções pelo VLTI e tornar possível o planejamento de medidas de controle ou erradicação adequadas à indústria avícola de nosso País.

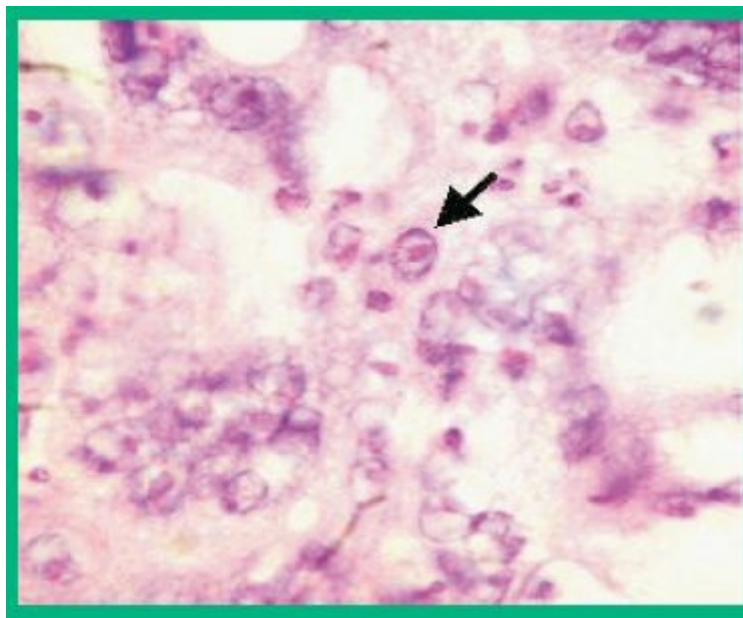
# Etiologia

## Classificação, morfologia e composição

O vírus da laringotraqueite infecciosa das galinhas (VLT) é um membro da família Herpesviridae, sub-família Alphaherpesvirinae, gênero Iltovirus, espécie gallid herpesvirus 1. A família Herpesviridae congrega um grande número de vírus que tem como característica comum a arquitetura do virion, que contém um nucleocapsídeo icosaédrico com uma molécula de DNA de fita dupla, circundado por uma substância amorfa (tegumento) e por um envelope glicoprotéico. Os virions variam de esféricos a pleomórficos, medindo de 120 a 200 nm de diâmetro. O nucleocapsídeo é hexagonal e tem um diâmetro de 80 a 100 nm (**Figura 2**). Os Alphaherpesvirinae têm como principal propriedade o estabelecimento de latência em neurônios dos gânglios sensoriais após a infecção aguda. A capacidade de estabelecer e, posteriormente, reativar infecções latentes desempenha um papel fundamental na perpetuação desses vírus na natureza.



**Figura 1** - Micrografia eletrônica mostrando virions de VLT. Barra de 200 nm. Cortesia de Monika Barth, Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro).



**Figura 2** - Corte histológico de uma traquéia de frango 8 dias após infecção. A seta indica uma célula com corpúsculo de inclusão intranuclear.

O genoma consiste de uma molécula de DNA de fita dupla e linear com aproximadamente 155 mil pares de bases. Nele, são encontrados um segmento único longo e um segmento único curto, circundados por repetições invertidas. Vários genes já foram seqüenciados de várias cepas, além de dois genomas completos estarem disponíveis em bancos de dados de genes atualmente. As glicoproteínas do VLTII fazem parte do envelope e são responsáveis por estimular a resposta imune humoral e celular. Cinco delas são imunodominantes.

### Replicação viral

A replicação do VLTII parece ser semelhante à de outros alfa*Herpesvirus*. A infecção inicia pela ligação aos receptores das células alvo, seguido da fusão do envelope com a membrana citoplasmática. Desta forma, o nucleocapsídeo é liberado no citoplasma e transportado até a membrana nuclear. Em seguida, o DNA do vírus penetra através de poros da membrana nuclear e poderá ser transcrito e replicado dentro do núcleo da célula hospedeira.

A transcrição do DNA ocorre de uma forma altamente regulada e seqüencial, de forma a produzir somente as proteínas virais necessárias para a fase do ciclo viral em curso. A replicação do DNA viral ocorre através de um mecanismo de círculo rolante que resulta na formação de concatâmeros do genoma. Estes são clivados em monômeros genômicos que são empacotados em nucleocapsídeos pré-formados dentro do núcleo. Estes nucleocapsídeos adquirem o envelope pela migração através da membrana nuclear. As partículas envelopadas (virions) passam através do retículo endoplasmático e se acumulam dentro de vacúolos no citoplasma. Os virions são liberados das células infectadas através de sua lise ou através da fusão da membrana do vacúolo e exocitose.

### Suscetibilidade a agentes físicos e químicos

As partículas virais são inativadas por agentes lipolíticos, como clorofórmio, éter e detergentes que solubilizam seu envelope. Os virions também são sensíveis a desinfetantes comuns, incluindo fenol a 5%, cresol 3% e, em menos de um minuto, são inativados pela formalina, hipoclorito e

iodofor. Os dados disponíveis da estabilidade do vírus ao calor variam consideravelmente. O VLTÍ é inativado quando exposto a 55°C por 15 minutos ou 38°C por 48 horas, embora outro trabalho indique que, após 1 hora a 56°C, ainda podia-se detectar vírus viáveis. No exsudado traqueal e na carcaça, o vírus pode se manter viável por um período de 10 a 100 dias em temperaturas entre 13 e 23°C, embora outro trabalho indique que a infectividade foi eliminada das carcaças em menos de 44 horas a 37°C. Já a manutenção da viabilidade viral pode ser feita por vários meses a 4°C em pH próximo do neutro e quando mantido em diluentes adequados, como meio de cultivo e glicerol. Em laboratórios de pesquisa, pode ser estocado por vários anos a -70°C ou liofilizado.

## Classificação de cepas

As cepas do vírus parecem ser antigenicamente homogêneas em testes de proteção cruzada, vírus neutralização e outros testes que utilizam anticorpos marcados, embora possam se notar diferenças antigênicas utilizando-se anticorpos heterólogos em testes de neutralização.

A patogenicidade é extremamente variável em cepas de campo, que podem ser altamente virulentas, causando alta mortalidade e sinais clínicos graves, ou de baixa virulência, brandos ou até mesmo inaparentes. As cepas do vírus também diferem na virulência para os embriões, além do tamanho e morfologia das placas produzidas na membrana córioalantóide e cultivo celular. Algumas amostras mais patogênicas do VLTÍ, ao sofrerem passagens seqüenciais em ovos embrionados de galinha ou cultivo celular, tendem a atenuar a virulência, embora ela possa ser revertida após algumas passagens por aves suscetíveis. A diferenciação de cepas de VLTÍ de diferentes patogenicidades, particularmente as cepas de campo das cepas vacinais, é um problema prático muito importante, embora ainda não existam respostas satisfatórias.

Alguns métodos moleculares para a diferenciação de cepas são baseados no corte do genoma do vírus ou de fragmentos amplificados por PCR com enzimas de restrição. Também já foram descritos métodos de hibridização do genoma com fragmentos clonados e protocolos de PCR capazes de diferenciar cepas de VLTÍ.

## Patogenicidade

O vírus entra na ave pela via respiratória superior e replica, principalmente, no epitélio da laringe e traquéia, além da membrana conjuntiva, sinus respiratórios, sacos aéreos e pulmões das aves infectadas. Algumas cepas do VLTÍ podem ser muito citolíticas nesses tecidos, particularmente na traquéia, resultando em danos severos no epitélio e hemorragia. Não existem evidências de que o vírus possua uma fase de viremia. O vírus pode ser isolado da traquéia usualmente dos 6 aos 8 dias pós-inoculação, embora trabalhos de nosso grupo com cepas menos patogênicas tenham detectado o vírus por um maior período. Após replicação na mucosa da traquéia, o VLTÍ invade os terminais nervosos e é transportado através do fluxo axônico retrógrado ao gânglio trigêmeo, onde pode permanecer em latência por muitos meses. Trabalhos experimentais demonstraram que de 2 a 50% das aves que se recuperaram de surtos ou foram vacinadas podem excretar o vírus intermitentemente por períodos de até 16 meses.

O vírus não pode ser recuperado na fase de infecção latente onde ocorre uma transcrição restrita do genoma viral nos neurônios infectados, com a produção de transcritos associados à latência chamados de LAT (latency associated transcripts). A função dos LAT não parece ser um requerimento absoluto para o estabelecimento da latência e reativação viral sob condições experimentais, mas parece aumentar quantitativamente a eficiência da latência e do ciclo de reativação. Periodicamente, o vírus pode ser reativado espontaneamente ou a reativação pode ser induzida por estímulos de estresse, como o início da postura, alta lotação, calor ou frio em excesso, mudança da alimentação, ruído, amônia e vacinação. Já o tratamento experimental com drogas imunodepressivas (dexametasona e ciclofosfamida) não foi eficiente para promover a reativação de infecções latentes. Neste período de latência, dificilmente pode-se detectar o vírus através de isolamento.

## Patogenia e epizootia

O VLTI é altamente específico para galinhas, faisões e perdiz, não sendo descrita a transmissão entre estas espécies. Perus jovens foram infectados experimentalmente com três amostras de vírus, no entanto, apenas duas demonstraram ser patogênicas e produziram lesões no trato respiratório superior. Em patos, a infecção experimental produziu a doença subclínica e soroconversão.

Ovos embrionados de perus e galinhas são susceptíveis a infecção pelo VLTI, os ovos de patos são menos susceptíveis e os ovos de pombo e galinha de Angola não são susceptíveis.

Não está bem estabelecida a susceptibilidade ligada à idade, linhagem genética ou sexo, mas existem evidências que indicam que, em galinhas de postura, linhagens pesadas são mais suscetíveis do que as leves e, nas pesadas, os machos parecem ser mais susceptíveis do que as fêmeas. A susceptibilidade parece diminuir com a progressão da idade e a doença é mais severa no verão, principalmente em temperaturas superiores a 35°C. A idade de maior susceptibilidade seria por volta da 10ª semana e na época do início de produção, entretanto, existem evidências de que galinhas adultas manifestam sinais clínicos mais característicos.

A principal forma de transmissão do VLTI ocorre através do contato direto ave a ave, sendo que ocorre mais rapidamente de animais com a infecção aguda do que daqueles clinicamente recuperados. O vírus pode ser transmitido também por aerossóis, pelos equipamentos, água e pelo lixo contaminado. A transmissão via ovo ainda não foi demonstrada.

O vírus é eliminado do organismo das aves doentes ou portadoras pelas secreções oro-nasais, podendo alcançar aves saudáveis ou susceptíveis pelo ar, equipamentos, esterco, cama, veículos e pessoal. A transmissão do vírus de aves vacinadas para não vacinadas foi experimentalmente comprovada. Foram registrados 49 surtos no período entre 1985 a 1988, na Inglaterra e no País de Gales, devido à transmissão via homem ou inadequada desinfecção das instalações e equipamentos. As portas de entrada naturais do VLTI são o trato respiratório superior e a via ocular, mas também a infecção pode ocorrer através da via oral.

O período de incubação é variável; na maioria dos casos é de 48 horas, mas pode durar até 12 dias. Após a entrada, segue-se a fase de intensa replicação viral nos seios nasais, traquéia e pulmões, através da aderência na membrana das células receptoras. Não existem evidências de

que exista uma fase de viremia. O VLTI já foi encontrado em material oriundo de articulações (femoral) degeneradas. Este foi um achado surpreendente, uma vez que se trata de um vírus respiratório e, raramente, é encontrado fora deste sistema. Galinhas portadoras podem, freqüentemente, eliminar o vírus e esta disseminação pode variar e aumentar de intensidade nos momentos de estresse, como: início de postura, alta lotação, excesso de calor e frio, mudança de alimentação, presença de ruídos, alta concentração de amônia, transporte e nos momentos de tratamento ou vacinação do lote. A disseminação da infecção dentro de um galpão é rápida e entre galpões é freqüentemente lenta, já que muitos meses podem se passar antes que todas as aves sejam afetadas. Porém, no caso do surto na região de Bastos, observamos que a disseminação ocorreu de forma rápida entre galinhas de um mesmo galpão e galpões com aves do mesmo lote. De acordo com dados da literatura, um surto geralmente dura de duas a seis semanas.

O vírus pode permanecer na forma latente no gânglio trigêmeo ou persistir no trato respiratório como uma infecção clinicamente inaparente nas aves portadoras. Um estudo indicou que cepas do VLTI que causam a forma silenciosa da doença necessitam de lesões na traquéia para se instalar e multiplicar.

## Sinais clínicos

Os sinais clínicos, na infecção natural, aparecem de 6 a 12 dias após a entrada do vírus no organismo da ave, sendo este tempo menor na infecção experimental. A manifestação clínica da infecção pelo VLTI pode variar desde uma infecção grave a formas menos severas.

A forma aguda da doença nas aves, que é a forma primariamente descrita, é caracterizada por dispnéia severa, tosse e expectoração de exsudato muco-sanguinolento e, em casos mais severos, a morte, pode ocorrer em dois a três dias. Pode-se encontrar exsudato muco-sanguinolento nas penas das aves, nas paredes e no piso do galpão. Taxas de mortalidade de até 70% têm sido reportadas, embora estejam, geralmente, entre 10 e 40%.

Os sinais clínicos da doença aparecem de 6 a 12 dias após a infecção natural, mas a inoculação na traquéia diminui o período de incubação para dois a quatro dias. O período de incubação é maior do que o período em que o animal infectado dissemina o vírus, isto é, quando os sinais clínicos cessam, o período de eliminação do vírus já está terminado. O curso da doença varia de acordo com a severidade das lesões, sendo que, geralmente, a maioria das aves recupera-se em 10 a 14 dias.

A doença pode apresentar-se de forma branda e, muitas vezes, passar despercebida. Esta forma subaguda da LTI pode ter uma morbidade variável e geralmente é acompanhada de baixa mortalidade. As aves apresentam sonolência, conjuntivite, sinusite, traqueíte, lacrimejamento, descarga nasal, inchaço do seio infraorbital, estertores, retardo de crescimento e queda variável na produção de ovos. Nesses casos, são poucas as aves que possuem lesões características, possibilitando que a LTI seja confundida com outras doenças respiratórias. A forma suave, também denominada LTI silenciosa, tem sido comumente observada em áreas de intensa produção avícola, em lotes de galinhas de postura comercial, reprodutoras e em frangos de corte de vários países.

## Alterações anatomopatológicas

As lesões macroscópicas podem ser encontradas na conjuntiva e em toda a extensão do trato respiratório de aves infectadas com o VLTI. Entretanto, estas são mais constantemente observadas na laringe e traquéia. As alterações teciduais da traquéia e laringe podem ser leves, constituindo-se apenas por um excesso de muco, ou severas, com hemorragias e/ou presença de placas diftéricas. Nas formas leves da LTI, edema, congestão e ou inflamação do epitélio da conjuntiva e seios infraorbitais e uma traqueíte mucóide podem ser as únicas alterações macroscópicas detectáveis. Já nas formas severas, inicialmente, é observada uma inflamação mucóide, com degeneração, necrose e hemorragia em estágios avançados da infecção. Alterações diftéricas são comuns e são visualizadas como um trajeto mucoso que se estende por toda a traquéia. Em outros casos, uma severa hemorragia no lúmen da traquéia pode resultar na formação de coágulos, ou o sangue pode estar misturado com muco e tecido necrótico. A inflamação pode se estender para os brônquios, pulmões e sacos aéreos.

As alterações microscópicas variam com o estágio em que a doença se encontra. Inicialmente, as alterações ocorrem na mucosa da traquéia com a perda da conformação celular e infiltração de células inflamatórias. Com a evolução da infecção, ocorre dilatação das células epiteliais e perda dos cílios, tornando-se edematosas. Células multinucleadas são formadas a partir da fusão das membranas citoplasmáticas das células adjacentes, linfócitos, histiócitos e células plasmáticas migram para a mucosa e submucosa após dois a três dias. Em seguida ocorre a lise celular e descamação, resultando em uma superfície mucosa igualmente coberta por uma fina camada de células basais ou ausência de qualquer recobrimento epitelial. Capilares sanguíneos da lâmina própria podem protruir para dentro do lúmen da traquéia. A hemorragia pode ocorrer em casos de severa destruição epitelial e descamação com exposição e ruptura destes capilares.

Os corpúsculos de inclusão intranucleares se localizam nas células epiteliais no terceiro dia pós-infecção, sendo geralmente encontrados nos estágios iniciais da infecção (de 1 a 5 dias). Estes corpúsculos de inclusão são descritos como o acúmulo de agregados basofílicos de DNA viral no núcleo da célula; Nos estágios finais da infecção, os corpos de inclusão intranucleares basofílicos se tornam eosinofílicos, mudança atribuída à saída do vírus do núcleo. Eles desaparecem com o progresso da infecção, como resultado da necrose e descamação das células infectadas.

## Imunidade

Na infecção por VLTI, anticorpos vírus neutralizantes podem ser detectados sete dias após a infecção e podem permanecer em títulos detectáveis por mais de um ano. A resposta imune humoral, embora associada com a infecção, não é o mecanismo primário de proteção. Uma pobre correlação entre os títulos de anticorpos no soro e o estado imune do lote foi demonstrada. Experimentos utilizando pintos bursectomizados ou tratados com ciclofosfamida demonstraram que anticorpos da mucosa não são essenciais para a prevenção da replicação do vírus em aves vacinadas.

A imunidade mediada por células residentes na traquéia é a principal mediadora de resistência a LTI. A importância da imunidade celular foi demonstrada ao se transferir células de aves recuperadas para outras livres de infecção, constatando que estas células transferiram proteção contra

LTI à ave receptora.

Anticorpos maternos para VLTI são transmitidos para a prole via ovo. No entanto, estes anticorpos não conferem proteção contra a infecção e não interferem com a vacinação. A suscetibilidade das galinhas à doença diminui com a idade.

## Diagnóstico

A instituição de um diagnóstico clínico para o VLTI é difícil devido à similaridade dos sinais clínicos e lesões da forma branda com os sintomas causados por outros patógenos respiratórios, como o vírus da bronquite infecciosa, pneumovírus, vírus da influenza, vírus da doença de Newcastle, *Ornithobacterium rhinotracheale* e micoplasmas. Em geral, o diagnóstico requer assistência laboratorial e somente em casos severos da doença aguda, com alta mortalidade e expectoração de sangue, é que o diagnóstico de LTI pode ser baseado com alguma segurança nos sinais clínicos. O diagnóstico laboratorial pode ser feito através do isolamento do vírus, detecção de antígenos do vírus, detecção de corpúsculos de inclusão intranucleares e detecção do DNA viral em amostras do trato respiratório, além da detecção de anticorpos.

## Isolamento e cultivo do vírus

Suabes de traquéia são melhores do que suabes da orofaringe ou conjuntiva quando tomados de aves vivas. Em infecções crônicas, é melhor sacrificar uma ave nos estágios iniciais da doença do que tentar isolar o vírus de aves que tenham morrido de asfixia após um período longo de doença. A qualidade da amostra é melhorada se a ave for sacrificada por outro método que não por deslocamento cervical. Em condições de campo, toda a cabeça e pescoço podem ser coletados, ou então, se disseca a laringe e a traquéia com cuidado para diminuir a contaminação. Os suabes de traquéia devem ser colocados em meio de transporte contendo antibióticos e mantidos sob refrigeração. A estocagem de amostras deve ser feita a  $-70^{\circ}\text{C}$  ou menos, evitando-se congelar e descongelar as amostras para diminuir a perda da infectividade. Para a preparação do inóculo, as células epiteliais e o exudato são raspados da traquéia, diluídos 1:5 em meio de cultivo com antibióticos e agitados vigorosamente, seguido de centrifugação a baixa velocidade para remover os debris celulares. A suspensão resultante (0,1 mL) é inoculada na membrana córioalantóide (MCA) de pelo menos três ovos embrionados com 10 a 12 dias de incubação, que são incubados a  $37^{\circ}\text{C}$  por mais sete dias. Os ovos são examinados diariamente e os embriões mortos ou que sobreviverem após sete dias são examinados para a presença de pocks característicos na MCA. Alternativamente, monocamadas de fígado ou rim de embrião de galinha têm seu meio removido, são inoculados com a suspensão por 1-2 horas e o meio é repostado. Também tem sido descrito o cultivo em leucócitos de galinha e fibroblastos de embrião. As culturas são também observadas por até 7 dias para o aparecimento de efeito citopático do tipo sincicial. Em qualquer um dos casos, até três passagens são necessárias até que a amostra seja considerada negativa. O isolamento do vírus pode ser confirmado por teste de vírus neutralização com soro hiperimune contra o VLTI em ovos ou cultivo celular, microscopia eletrônica, imunofluorescência, ELISA de captura ou AGID. A imunofluorescência, imunoperoxidase e o ELISA de captura também têm sido utilizados com sucesso para a detecção rápida de antígenos do vírus diretamente da traquéia.

## Exame histológico



As traquéias para exame histológico devem ser colocadas imediatamente em formol tamponado após a coleta, fixadas e parafinadas. As inclusões intranucleares podem ser vistas em células epiteliais da traquéia em seções longitudinais coradas com hematoxilina e eosina. Elas são do tipo Cowdry A dos *Herpesvirus* e podem ser melhor observadas de três a cinco dias após a infecção. Eles desaparecem com o progresso da infecção, como resultado da necrose e descamação das células epiteliais. No início da infecção, pode ser observada perda da conformação celular e infiltração de células inflamatórias na mucosa da traquéia. Com a evolução da infecção, ocorre dilatação das células epiteliais e perda dos cílios, tornando-se edematosas. Células multinucleadas são formadas a partir da fusão das membranas citoplasmáticas das células adjacentes (formação de sincício celular), assim como linfócitos, histiócitos e células plasmáticas podem ser observados na mucosa e submucosa após dois a três dias. A hemorragia está presente em casos de severa destruição epitelial e descamação com exposição e ruptura dos capilares.

## Sorologia

Anticorpos contra o VLTII podem ser detectados através de soro neutralização (SN), ágar gel imunodifusão (AGID), imunofluorescência indireta e ELISA. O teste de ELISA serve para estudos de epidemiologia e monitoramento dos plantéis, além de detectar infecções sub-clínicas do vírus, já que é um teste rápido e sensível para a detecção de anticorpos contra VLTII. A comparação direta dos testes de imunofluorescência indireta, soroneutralização e ELISA demonstraram que todos os sistemas eram válidos para detecção e quantificação de anticorpos para LTI, embora o ELISA tenha demonstrado possuir maior sensibilidade do que os outros testes. Ambos os testes de ELISA e imunofluorescência indireta têm a vantagem de serem realizados rapidamente, no entanto, o teste de ELISA é mais utilizado pela maior possibilidade de automação. Já os testes de VN necessitam a utilização de ovos embrionados ou cultivos de células para demonstrar a neutralização da formação de pocks e efeito citopático, respectivamente, o que pode demandar vários dias para a obtenção dos resultados. Também foi demonstrado experimentalmente que a utilização do teste de imunoperoxidase foi eficiente para a detecção de anticorpos em casos de infecções por VLTII de baixa patogenicidade.

## Métodos moleculares

Vários trabalhos foram descritos sobre a utilização de métodos moleculares para a detecção do DNA do VLTII em amostras clínicas. Hibridização por Dot-blot e fragmentos clonados de DNA são mais sensíveis do que o isolamento viral e ELISA. A PCR também tem sido descrita como mais sensível do que o isolamento viral de amostras clínicas, especialmente quando adenovírus estão presentes. A maior sensibilidade da PCR tem sido demonstrada do meio para o fim da infecção, desta forma, detectando o VLTII por um maior período de tempo do que o isolamento viral. Um objetivo que tem sido perseguido com os métodos moleculares é a diferenciação da infecção causada por cepas de campo das causadas por cepas vacinais. Um protocolo com esta finalidade será fundamental para o monitoramento da eficiência da vacinação, além de servir de ferramenta em estudos de epidemiologia e evolução do VLTII.

## Prevenção e controle

A LTI não tem tratamento, logo, a prevenção e controle são fundamentais para a diminuição dos

prejuízos decorrentes desta doença. As medidas de manejo adotadas no programa de biossegurança são valiosas na redução da disseminação do vírus de uma propriedade para outra e consideradas de importância central no controle da LTI.

A infecção pelo VLTI tem sido controlada através do uso de vacinas vivas nos EUA desde 1930. O programa de vacinação é limitado, devido, principalmente, a cepa vacinal do VLTI poder, ocasionalmente, sofrer mutações e induzir surtos severos, contribuindo para a disseminação da doença. Conseqüentemente, a vacinação é, geralmente, limitada a áreas onde a doença é endêmica. Em áreas onde a doença existe, é difícil ou quase impossível manter plantéis livres da infecção. Nestes lugares, a maioria das aves de vida longa é rotineiramente vacinada contra VLTI. Por outro lado, frangos de corte são vacinados com aproximadamente 14 dias de idade quando houver surtos. A infecção pelo VLTI de campo ou vacinal, freqüentemente, resulta também em alguns portadores e, assim, torna-se extremamente importante evitar o contato entre animais vacinados ou recuperados com os susceptíveis. A freqüência, com que alguns países, como a Alemanha, França, EUA, entre outros, vêm utilizando vacinas vivas atenuadas para o controle da LTI vem aumentando.

Atualmente, estão disponíveis vacinas de vírus vivo atenuado cultivado em ovos embrionados ou cultivos celulares. O recente desenvolvimento de uma nova vacina contra VLTI geneticamente incorporada à vacina contra a varíola aviária dá esperança à indústria de que a doença possa ser mais facilmente controlada. A vantagem desta vacina é que não é necessário o uso do VLTI para que as aves sejam protegidas, uma vez que a vacina baseada no vírus da varíola aviária contém proteínas imunoprotetoras do VLTI. Em outros *Herpesvirus*, já foi demonstrado que a deleção de alguns genes contribuiu para a estabilidade do vírus vacinal e propiciou o desenvolvimento de kits de diagnóstico diferencial, ajudado a melhorar o controle destas enfermidades.

Como já exposto, o VLTI ainda não é passível de erradicação com as ferramentas tradicionais de diagnóstico e controle disponíveis e o curso da doença e disseminação viral dependem do controle de inúmeros fatores predisponentes extrínsecos e intrínsecos ao hospedeiro e ao vírus. Apesar do VLTI ser pouco resistente fora do animal, ele resiste no meio ambiente na presença de matéria orgânica. Dessa forma, fica clara a necessidade da disponibilidade de métodos de diagnóstico rápidos e sensíveis para a detecção do vírus em campanhas de controle e erradicação dessa enfermidade. Além da detecção do vírus, o método ideal deverá diferenciar o vírus vacinal das cepas de campo. Outra ferramenta fundamental para este fim será a produção de vacinas melhores do que as atualmente disponíveis. Vacinas que sejam estáveis, sem probabilidade de reverter à virulência, assim como não causem latência e sejam facilmente diferenciadas do vírus de campo serão fundamentais para este fim.

## Bibliografia

Abbas F, Andreasen Jr. Comparison of diagnostic tests for infectious laryngotracheitis. **Avian Diseases** 1996; 40:290-5.

Adair BM, Tood D, Mackillop E, Burns K. Comparison of serological tests for detection of antibodies to ILT virus. *Avian Pathology* 1985; 14:461-469.

- Beltrão N, Leão JA, Rocha SLS, Furian TQ, Bianco AJ, Canal CW. Detection of infectious laryngotracheitis virus from poultry by a nested-PCR. *Journal of the Brazilian Society for Virology* 2002; 7:113-4.
- Braune MO, Gentry RF. Standardization of the fluorescent antibody technique for the detection of avian respiratory viruses. *Avian Diseases* 1965; 9:535-45.
- Canal CW, Beltrão N, Furian TQ, Junior AB. Estabelecimento de um método de diagnóstico sensível e rápido para detecção do vírus da laringotraqueíte. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2004; supl 6:198.
- Chacón JL, Brandão PEB, Villarreal LYB, Gama NMSQ, Ferreira AJP. Survey of infectious laryngotracheitis outbreak in laying hens and differential diagnosis with other respiratory pathogens. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2007; 9:61-68.
- Chang PW, Sculo F, Yates VJ. An in vivo and in vitro study of infectious laryngotracheitis virus in chicken leukocytes. *Avian Diseases* 1977; 21:492-500.
- Cover MS, Benton WJ. The biological variation of infectious laryngotracheitis virus. *Avian Diseases* 1958; 2:375-83.
- Davidson SR, Eckroade R, Miller K. Laryngotracheitis: the Pennsylvania experience. *Proceedings 23rd National Meeting Poultry Health and Condemnations*; 1988; Ocean City. Maryland. p.14-19.
- Gama NMSQ. Laringotraqueíte: o caso brasileiro. *Anais da Conferência APINCO de Ciência e Tecnologias Avícolas*; 2004; Santos, SP. Brasil. p.85-92.
- Goodwin MA, Smeltzer MA, Brown J, Resurreccion RS, Dickson TG. Comparison of histopathology to the direct immunofluorescent antibody test for the diagnosis of infectious laryngotracheitis in chickens. *Avian Diseases* 1991; 35:389-91.
- Guy JS, Bagust TJ. Laryngotracheitis. In: Saif YM. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames: State University Press; 2003. p.121-134.
- Guy JS, Barnes HJ, Smith LG. Rapid diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibodies-based immunoperoxidase procedure. *Avian Pathology* 1992; 21:77-86.
- Hipólito O, Soares LA, Pereira OAC, Pinto AA, Botino JÁ. Isolamento e identificação do vírus da laringotraqueíte infecciosa das galinhas no Brasil. *Congresso Brasileiro de Microbiologia*; 1974; Rio de Janeiro. Brasil. p.16.
- Hughes CS, Jones RC, Gaskel RM, Bradbury JM, Jordan FTW. Effects of certain stress factors on the re-excretion of infectious laryngotracheitis virus from latently infected carrier birds. *Research in Veterinary Science* 1989; 46:247-76.
- Hugues CS, Jones RC. Comparison of cultural method for primary isolation of infectious laryngotracheitis virus from field materials. *Avian Pathology* 1988; 17:295-303.

Humberd J, Riblet S, Brown TP, García M. Detection of infectious laryngotracheitis in formalin-fixed, paraffin embedded tissues by nested-PCR. **Avian Diseases** 2002; 46:122-31.

ICTVdB- The Universal Virus Database, version 4.; 2007. Available:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>.

Ito NMK, Gama NMSQ, Miyaji CI, Okabayashi S, Lima EA, Babadopulos P. Diagnóstico da laringotraqueite infecciosa das galinhas. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2003; supl 5:118.

Jordan FTW. Infectious laryngotracheitis. In: McFerran JB, McNulty MS. *Virus infectious of birds*. Amsterdam: Elsevier; 1993. v. 4, p.19-35.

Linares JA, Bickford AA, Cooper GL, Charlton BR, Woolcock PR. An outbreak of infectious laryngotracheitis in California broilers. **Avian Diseases** 1994; 38:188-92.

Mckercher DG. Laryngotracheitis. In: Jawetz E. *Herpesviruses*. New York: Academic Press; 1973.

OIE Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 4th ed. Paris; 2000.

Pirozok RP, Helmbolt CF, Jungherr EL. A rapid histological technique for the diagnosis of infection avian laryngotracheitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1957; 103:406-7.

Portz C, Beltrão N, Furian T, Junior A, Macagnan M, Griebeler J, Limarosa CA, Colodel E, Driemeier D, Back A, Schatzmayr OMB, Canal CW. Natural infection of turkeys by infectious laryngotracheitis virus. *Veterinary Microbiology* 2008; 131(1-2): 57-64.

Pucell DA. The ultrastructural changes produced by infectious laryngotracheitis virus in traqueal epithelium of the fowl. *Research in Veterinary Science* 1971; 12:455-8.

Reynolds HÁ, Watrach AM, Hanson LE. Development of the nuclear inclusion bodies of infectious laryngotracheitis. **Avian Diseases** 1968; 12:332-47.

Ristow LE, Silva GMM. Detecção de anticorpos contra laringotraqueite infecciosa em avicultura industrial no Estado de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2007; supl 9: 211.

Ruano M, El-Attrache J, Villegas. Efficacy comparisons of disinfectants used by the commercial poultry industry. *Avian Diseases* 2001; 45:972-7.

Sinkovic B. *Studies on the control of LTI in Australia [dissertação]*. Sidney (Aus): University of Sidney; 1974.

Soares LA, Pereira OAC, Hipólito O. Characterization of the first strain of infectious laryngotracheitis virus (ILTV) in Brazil. *Revue of Microbiology* 1980; 11(4):105-109.

Tripathy DN, Hanson LE. Laryngotracheitis. In: Purchase HG, Arp LH, Domermuth CH, Pearson JE, editors. *Isolation and identification of avian pathogens*. 3th ed. Kennet Square, PA: American

Association of Avian Pathologists, Kennt Square; 1989.

Van Kamen A, Spradbrow PB. Rapid diagnosis of some avian virus diseases. **Avian Diseases** 1976; 20:748-51.

Vargas RES. Laringotraquite infecciosa da aves: estudo epidemiológico em plantéis avícolas no Estado do Rio Grande do Sul [dissertação]. Porto Alegre: UFRGS; 1995.

Villarreal LYB, Brandão PEB, Chacón JL, Doretto Júnior L, Ito NM, Gama NMSQ, Ishizuka MM, Luchese A, Buchala FG, Astolfi-Ferreira CS, Ferreira AJP. Detection and molecular characterization of infectious laryngotracheitis virus in laying hens in Brazil. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2004; 6:253-256.

Williams RA, Bennet M, Bradbury JM, Gaskel RM, Jones RC, Jordan FTW. Demonstration of sites of latency of infectious laryngotracheitis virus using polymerase chain reaction. *Journal of General Virology* 1992; 73:2415-20.

Williams RA, Savage CE, Jones RC. A comparison of direct electron microscopy, virus isolation and a DNA amplification method for the detection of avian infectious laryngotracheitis virus in field materials. **Avian Pathology** 1994; 23:709-20.

Willks CR, Kogan VG. An immunofluorescence diagnostic test for avian infectious laryngotracheitis. *Australian Veterinary Journal* 1979; 55:385-8.

Winterfield RW, So IG. Susceptibility of turkeys to ILT. *Avian Diseases* 1968; 12:191-202.

Yamada S, Matsuo K, Fukuda T, Uchinumo Y. Susceptibility of ducks to the virus of infection laryngotracheitis. **Avian Diseases** 1980; 24:930-8.



Aves com sinais clínico de laringotraqueíte.



Seqüência de fotos mostrando os sinais clínicos e lesões provocadas pel o vírus de laringotraqueíte.(cont.)



(cont.) Seqüência de fotos mostrando os sinais clínicos e lesões provocadas pelo vírus de laringotraqueíte.



Visualização de muco através da laringe. Seqüência de 9 traquéias mostrando vários graus de lesões.



Pneumonia. Laringe com pontos hemorrágicos.



Traqueíte com visualização de muco e hemorragia. Placas diftéricas se soltando.





Aerossaculite.

**6.1 - Enfermidades micóticas** **805**

*Raphael Lucio Andreatti Filho*

**6.2 - Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura** **821**

*Carlos Augusto Mallmann, Paulo Dilkin, Ricardo Hummes Rauber*

<b>Introdução</b>	<b>805</b>
<b>Aspergilose</b>	<b>806</b>
<i>Introdução</i>	806
<i>Histórico</i>	806
<i>Distribuição e ocorrência</i>	806
<i>Etiologia</i>	806
<i>Patogenicidade</i>	807
<b>Patogenia e epizootia</b>	<b>808</b>
<i>Hospedeiros</i>	808
<i>Disseminação e transmissão</i>	808
<b>Formas clínicas da doença</b>	<b>809</b>
<b>Sinais clínicos</b>	<b>810</b>
<b>Lesões macroscópicas</b>	<b>810</b>
<b>Lesões macroscópicas</b>	<b>810</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>810</b>
<b>Tratamento</b>	<b>811</b>
<b>Prevenção e controle</b>	<b>811</b>
<b>Candidíase</b>	<b>813</b>
<i>Introdução</i>	813
<i>Etiologia</i>	814

<i>Sinais clínicos</i>	814
<i>Lesões</i>	814
<i>Diagnóstico</i>	815
<i>Tratamento, prevenção e controle</i>	815
<i>Outras enfermidades micóticas</i>	815
<b>Dermatomicose aviária</b>	<b>816</b>
<b>Dactilariose</b>	<b>816</b>
<b>Histoplasmose</b>	<b>816</b>
<b>Criptococose</b>	<b>816</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>817</b>

**Raphael Lucio Andreatti Filho**

## Introdução

Embora haja consenso que as doenças fúngicas não ocupam papel destacado na economia avícola, como ocorre com as enfermidades bacterianas e virais, é fato que a indústria avícola moderna continua a sentir os efeitos das infecções fúngicas nos seus plantéis, a despeito de todos os avanços nas áreas de sanidade e biossegurança avícolas.

Os fungos englobam os bolores e as leveduras, fazendo-se presentes no cotidiano do ser humano, por meio das conhecidas colônias aveludadas e coloridas, nas frutas, pães e frios em geral. São microrganismos eucarióticos, mono ou polinucleares, geralmente filamentosos e não apresentam ou sintetizam clorofila, o que possibilita sua diferenciação das plantas.

Os fungos são compostos por estruturas tubulares microscópicas, denominadas hifas e, o conjunto destas, recebe a denominação de micélio. Se reproduzem através de ciclos sexuais e assexuais, sendo que nesta última forma, as hifas originam ramificações denominadas conidióforos, local de armazenamento e desenvolvimento dos esporos ou conídios. O conhecimento da forma e tamanho destas estruturas reveste-se de grande importância em microbiologia, visto que a observação destas características, peculiares a cada gênero ou espécie, proporcionará facilidades no processo de identificação dos fungos.

Os fungos podem desenvolver-se tanto fora quanto dentro da ave, após serem ingeridos ou inalados. A presença de toxinas, produzidas por algumas espécies de fungos, bem como a constante ingestão destes, frequentemente determina doenças específicas nas aves.

A principal enfermidade micótica das aves é a aspergilose e, apesar das diversas formas clínicas de apresentação da doença, a forma respiratória, afetando especialmente os pulmões e sacos aéreos, é a de maior relevância. Outra enfermidade, embora esporádica, é a candidíase, cuja forma clínica mais comum é a digestiva, havendo maior incidência no ingluvío e no proventrículo.

Outras enfermidades micóticas, com pouquíssima significância econômica e de caráter ocasional são: a dermatomicose, caracterizada por micose superficial na crista e barbelas, a dactilariose que acomete o sistema nervoso central e a histoplasmose e criptococose, que são incomuns em aves domésticas, embora importantes em saúde pública.

## Aspergilose

### Introdução

Aspergilose é definida preliminarmente como uma doença respiratória, determinada por qualquer membro do gênero *Aspergillus*. Apesar do sistema respiratório ser o foco primário da doença, podemos encontrar os fungos afetando o sistema nervoso central, os olhos e o sistema digestivo. A infecção pode ocorrer pela inalação dos esporos liberados pelos fungos, que se desprendem da ração ou ingredientes específicos, da cama do ninho e do aviário e pela contaminação dos ovos durante a incubação. Os esporos dos fungos são demasiadamente leves, permitindo que sejam transportados facilmente através do ar, facilitando sobremaneira a contaminação no ambiente avícola, tradicionalmente de alta densidade criatória. As manifestações clínicas da doença são extremamente variáveis, estando diretamente relacionadas com os órgãos acometidos, exposição ao agente e idade das aves afetadas. Deve-se atentar para que na monitoria do agente, durante programas de biossegurança, o isolamento do agente a partir de vísceras de aves, sem manifestação clínica ou lesões macro ou microscópicas, não significa necessariamente doença, mas sim, a óbvia contaminação das aves devido a falhas no manejo e programas de desinfecção, seja no matrizeiro ou no incubatório. Embora neste caso, não se configure doença, devemos rever a possível falha que permite a contaminação, prevenindo a possível evolução do processo à aspergilose clássica ou qualquer outro agente etiológico.

## Histórico

Os primeiros relatos de *Aspergillus* spp. em aves datam do início do século XIX, quando foram descritos fungos azulados no sistema respiratório de aves marinhas. Entretanto, a primeira identificação de *Aspergillus* spp. em aves com lesão no sistema respiratório, foi feita por Rayer e Montagne em 1842. Fresenius, em 1863, foi o primeiro a usar o termo aspergilose ao descrever a forma respiratória da doença em aves, após o isolamento de *Aspergillus fumigatus*, nomenclatura até então também inédita. Em 1898, Lignieres e Petit foram os primeiros a relatar a aspergilose em perus.

## Distribuição e ocorrência

*Aspergillus* spp. podem ser isolados do solo, ar, água, plantas e animais, incluindo-se as aves e o homem. Devido a reduzida necessidade nutricional, estes fungos crescem em inúmeros ambientes, utilizando-se de ínfimos substratos. Muitas espécies não são patogênicas, mas na iminência de encontrarmos espécies prejudiciais, medidas de biossegurança adequadas devem ser implementadas.

A distribuição é mundial, com exceção do continente Antártico e, em especial, nos materiais utilizados em cama de ninhos ou aviários, como casca de amendoim, capim napier picado (*Pennisetum purpureum*), palha de arroz, maravalha, ração ou seus ingredientes, entre outros. Condições propícias de temperatura (30°C) e umidade (80%), intensificam o crescimento do *Aspergillus* spp. Invariavelmente a temperatura e a umidade em ambientes avícolas, seja em granjas de reprodutoras ou de frangos de corte e, especialmente durante a incubação, favorecem o desenvolvimento destes fungos. O período de incubação e o nascimento são particularmente importantes, visto que o *Aspergillus* spp. pode estar presente nas máquinas de incubação e nascedouros e ser veiculado através do ar ou por contato. Ovos sujos ou trincados são os maiores responsáveis pela introdução do fungo no incubatório, juntamente com bandejas e caixas contaminadas, provenientes das granjas de reprodutoras.

A aspergilose pode apresentar duas formas distintas da doença: aguda ou crônica. A forma aguda é peculiar em aves jovens, podendo acarretar graves surtos com alta mortalidade. Esta forma apresenta maior incidência por conjugar, além da contaminação de camas, ninhos, rações, incubatórios e a alta densidade nos aviários com os inúmeros fatores estressantes inerentes a criação avícola. As aves apresentam maior susceptibilidade nas duas primeiras semanas de idade, tornando-se mais resistentes à infecção na idade adulta. E é exatamente em aves mais velhas que incide a forma crônica, embora sua ocorrência em aves de produção seja menos freqüente que a forma aguda.

## Etiologia

No gênero *Aspergillus*, há inúmeras espécies que podem provocar a aspergilose, como o *A. amstelodami*, *A. glaucus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. nigrescens* e o *A. terreus*. Mas as duas principais espécies, envolvidas na maioria dos surtos e, portanto mais isoladas, são o *A. fumigatus* e o *A. flavus*. Todas estas espécies compõem a Família Moniliaceae da Ordem Moniliales e crescem facilmente em meios de cultura específicos para fungos. Por serem as espécies mais patogênicas às aves, as características macroscópicas e microscópicas de *A. fumigatus* e *A. flavus* são importantes para o diagnóstico da aspergilose, tanto pela diferenciação de outros fungos, assim como entre ambas as espécies.

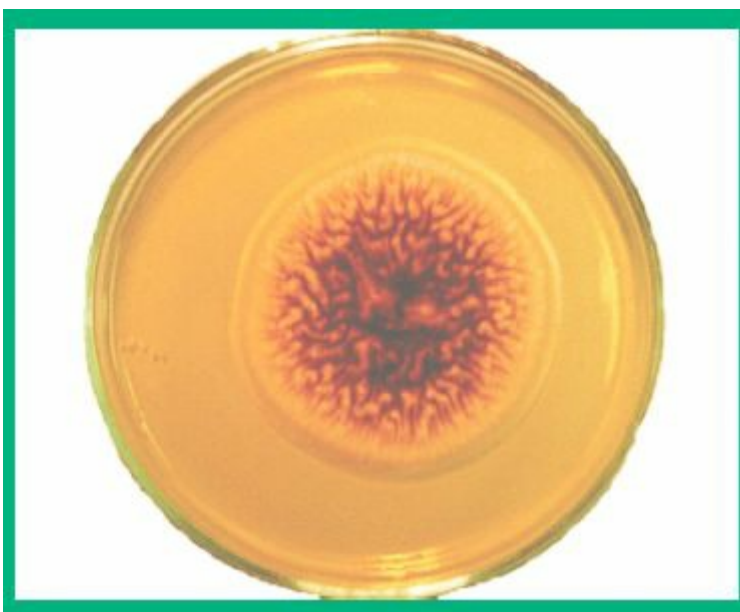
Dependendo do meio de cultura utilizado para o isolamento e identificação dos fungos, têm-se pequenas variações na morfologia das colônias do *A. fumigatus* e *A. flavus*. Devido a este fato, durante a descrição e observação das colônias, o meio de cultura deve ser discriminado. Em geral, colônias de *A. fumigatus* apresentarão coloração esverdeada ou em vários matizes envolvendo o verde com o marrom, o verde com o cinza ou o verde com o azul. Faixas esbranquiçadas margeando as colônias são comuns, local em que ocorre o desenvolvimento dos esporos. A partir do centro das colônias e estendendo-se até a região de crescimento ativo, podem ser observadas ranhuras ou dobras evidenciando sua superfície aveludada, características peculiares das colônias desta espécie (**Figura 1**). O tamanho das colônias variará conforme o meio utilizado, tempo de cultivo, temperatura e quantidade de substrato ou inóculo. Uma única colônia poderá ocupar toda a placa de Petri, assim como várias colônias poderão coalescer e também ocupar todo o espaço disponível. A temperatura de crescimento destes fungos é muito ampla, variando de 20 a 45°C, com conseqüente retardo ou aceleração no desenvolvimento das colônias e, as vezes, até alteração em suas características.



**Figura 1** - Colônias de *A. fumigatus* em ágar Sabouraud, originadas de exame micológico de amostras de pulmão. Observar a superfície aveludada, com suas dobras presentes do centro até a margem das colônias. O local onde há o desenvolvimento dos conidióforos se situa na região esbranquiçada que circunda as colônias.

As colônias de *A. flavus*, dependendo do meio de cultura utilizado, podem se assemelhar às colônias de *A. fumigatus*. Entretanto, há na maioria das vezes, características típicas nas colônias de *A. flavus* que auxiliam na sua identificação e diferenciação. No início do seu crescimento, as colônias tendem a ser esbranquiçadas, variando posteriormente a tons de amarelo na sua maioria ou esverdeadas. Podem apresentar consistência mais flocular no seu centro e granular nas demais regiões. Também são envoltas por faixas brancas como as colônias de *A. fumigatus*. Apresentam, em geral, crescimento mais lento que o observado em *A. fumigatus*.

As colônias de *A. niger* são extremamente peculiares, facilitando sua identificação. Os esporos de coloração negra dispersos sobre a superfície branca, tornam esta espécie inconfundível após o seu crescimento (**Figura 2**).

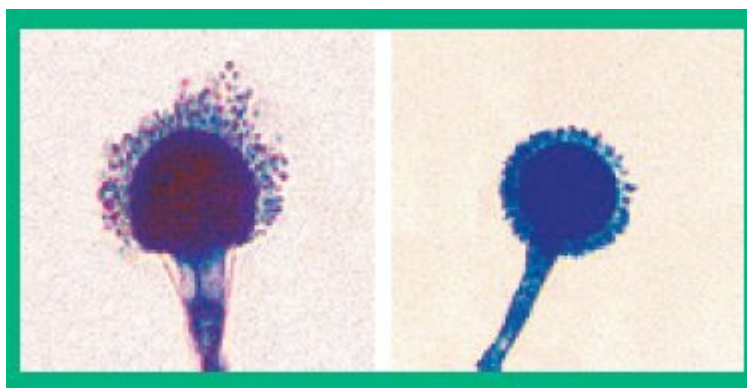


**Figura 2** - Colônia de *A. niger* em ágar Sabouraud. Os esporos de coloração negra dispersos sobre a superfície branca, são características marcantes da espécie.



Microscopicamente o gênero *Aspergillus* é caracterizado por hifas septadas. Algumas destas hifas podem tornar-se mais grossas dando origem aos conidióforos, estruturas de tamanho variado em cuja extremidade há a formação de uma vesícula, onde estão inseridos os conídios (esporos) envolvendo- a parcial ou totalmente, conforme a espécie e sendo portadores de alguns pigmentos que acabarão por determinar a coloração da colônia macroscopicamente. Pequenas variações nestas estruturas, serão de extrema importância na diferenciação entre as espécies.

Na **Figura 3** podem ser observadas estruturas características de *A. fumigatus* e *A. flavus*. A vesícula terminal do conidióforo do *A. fumigatus* apresenta-se em forma de meio círculo, com a sua respectiva conidiação ocorrendo da metade para cima, enquanto a vesícula do *A. flavus* apresenta-se maior e mais arredondada, com os conídios cobrindo toda a superfície indistintamente.



**Figura 3** - Conidióforos típicos de *A. fumigatus* (esquerda) e *A. flavus* (direita) corados com azul de algodão. A vesícula terminal do conidióforo do *A. fumigatus* apresenta-se em forma de meio círculo, com a sua respectiva conidiação ocorrendo da metade para cima, enquanto a vesícula terminal do conidióforo do *A. flavus* apresenta-se de forma circular, com os conídios cobrindo toda a sua superfície. 250x.

## Patogenicidade

O gênero *Aspergillus* é um dos maiores produtores de micotoxinas. Desde a ocorrência da doença X em perus, na década de 60, proveniente da contaminação de farelo de amendoim com *A. flavus* produtor de aflatoxina, a atenção para as toxinas teve aumento vertiginoso. Podem ser encontradas amostras de fungos produtoras ou não destas toxinas, que em pequena quantidade na ração já poderão desencadear transtornos à saúde do plantel avícola. As toxinas produzidas tanto por *Aspergillus* spp. quanto por outros fungos serão descritas detalhadamente na seção referente às micotoxicoses.

## Patogenia e epizootia

### Hospedeiros

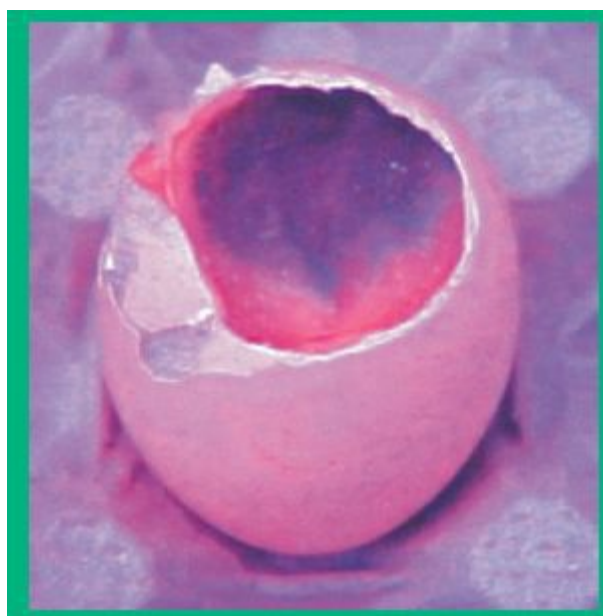
*Aspergillus* spp. podem acometer todas as espécies de aves, sendo mais susceptíveis a galinha, peru, pato, ganso, codorna, faisão, pombo, canário, avestruz, coruja, papagaio e até pingüim, principalmente entre aves com até dez dias de idade (forma aguda) e a partir de três a quatro semanas (forma crônica). Como a aspergilose acomete provavelmente todo e qualquer tipo de ave,

produção ou silvestre, ornamental ou exótica, doméstica ou selvagem, deve-se considerar todas as espécies como potencialmente susceptíveis à aspergilose. A importância do controle da aspergilose seja em aves de produção, quanto em aves silvestres ou ornamentais é fundamental também para o próprio homem, visto ser este sensível à infecção em casos de debilidade ou imunodepressão. Aves imunodeprimidas por outros agentes etiológicos ou manejo inadequado, determinam maior predisposição à infecção. A anatomia e fisiologia do sistema respiratório da ave, também são fatores que aumentam a susceptibilidade desta à aspergilose.

### Disseminação e transmissão

A disseminação do *Aspergillus* spp. ocorre principalmente pelo ar, sendo amplamente beneficiada pela formação dos esporos, favorecendo a sua resistência às condições ambientais desfavoráveis. Os esporos vão de ave a ave pelo ar, tanto no incubatório quanto no aviário, tornando, especialmente as máquinas de incubação e nascimento, importantíssimas fontes de contaminação. Além da inalação dos esporos ou de fragmentos de hifas, presentes no incubatório ou na cama de ninhos e aviários, a contaminação da água, ração ou matéria prima também são importantes formas de transmissão.

A contaminação dos ovos pode ocorrer a partir do momento que são colocados em ninhos contaminados, através da passagem do fungo pelos poros da casca do ovo. Ovos sujos, trincados ou com qualquer outra característica indesejável às condições ideais de incubação, são alvos perfeitos à contaminação, podendo além de proporcionar mortalidade embrionária (**Figura 4**), disseminar esporos durante o nascimento, contaminando grande número de pintos. Todas as etapas envolvendo o manejo da cama dos ninhos e do aviário, coleta, manipulação, transporte e armazenagem dos ovos, anteriores a incubação, podem determinar a perpetuação da contaminação no incubatório, mesmo em casos em que a desinfecção deste, seja realizada de forma satisfatória. No **Quadro 1** estão relacionados os principais fatores predisponentes à aspergilose, envolvendo a cadeia produtiva avícola.



**Figura 4** - Colônia típica de *Aspergillus* spp. em câmara de ar de ovo incubado e não eclodido. O isolamento e cultivo laboratorial demonstraram tratar-se de *A. fumigatus*.

**Quadro 1** - Fatores facilitadores à transmissão da aspergilose em aves de produção.

<b>Gerais</b>	<b>Reprodutores</b>	<b>Incubatório</b>
Contaminação dos materiais utilizados em cama: casca de amendoim, napier picado ( <i>Pennisetum purpureum</i> ), palha de arroz, maravalha, etc.	Manejo inadequado na desinfecção dos ninhos.	Desinfecção inadequada de todas as instalações e equipamentos, especialmente máquinas de incubação ou nascimento, carrinhos, bandejas, condutores de ar, entre outros.
Manejo inadequado na reutilização da cama.	Desinfecção inadequada de todo o aviário e equipamentos.	Falha no programa de biosseguridade, envolvendo operários, técnicos, visitantes e veículos.
Contaminação de ração ou matéria prima.	Ocorrência de vazamentos e goteiras.	Aproveitamento de ovos sujos ou inadequados à incubação.
Idade das aves.	Encaminhamento de ovos sujos ou de cama à incubação.	Ausência ou má utilização de fungicidas.
Aves Imunodeprimidas.	Má fumigação ou sanitização dos ovos.	Ausência de monitoria para fungos.
Ambiente de criação com umidade, temperatura e ventilação deficientes.	Transporte e armazenagem inadequados dos ovos.	

## Formas clínicas da doença

**Forma respiratória - Aspergilose pulmonar.** Esta é a forma mais clássica da doença, sendo caracterizada pela dificuldade respiratória. Se o grau de exposição ao *Aspergillus* spp. for alto, índices de mortalidade superiores a 50% poderão ser observados em aves jovens. Uma importante consequência da aspergilose pulmonar é a ocorrência de ascite, devido as lesões pulmonares determinarem hipertensão pulmonar, com posterior falha no ventrículo direito.

**Forma ocular - Oftalmite.** Esta outra forma clínica da aspergilose também é relativamente comum. Geralmente as lesões são unilaterais, caracterizadas pelo desenvolvimento de exsudato caseoso sobre a conjuntiva e áreas externas do olho. Cultivos laboratoriais específicos podem isolar *Aspergillus* spp. destas lesões. Embora não seja condição imprescindível, a oftalmite pode surgir seqüencialmente a aspergilose pulmonar. Como há o envolvimento tanto de áreas externas quanto internas do globo ocular, deve-se ressaltar que as lesões externas geralmente resultam da exposição dos olhos aos esporos encontrados no ambiente e, as lesões internas podem ser provenientes da disseminação do fungo pelo organismo da ave, a partir da infecção respiratória previamente instalada. Devido as características das lesões oculares, pode ser necessário o diagnóstico diferencial de coriza infecciosa e deficiência de vitamina A.

**Forma nervosa - Encefalite.** Diante de quadros de ataxia ou torcicolo, determinados por *Aspergillus* spp., estes podem ser isolados tanto do cérebro quanto cerebelo. Encefalite ou meningoencefalite são formas clínicas observadas em aves infectadas por *Aspergillus* spp. Assim como a forma ocular, também a forma nervosa pode ocorrer após a instalação da aspergilose pulmonar, através da disseminação via corrente sanguínea.

**Forma cutânea - Dermatite e forma articular - Osteomicose.** Estas formas clínicas apresentam menor ocorrência que as anteriores. *Aspergillus* spp. já foram isolados de quadros de dermatite necrótica granulomatosa. Outros tipos de lesões cutâneas associados a aspergilose aviária não são comuns. Também são raros os quadros de osteomicoses em aves de produção, associados à aspergilose pulmonar. Em infecções ósseas por *Aspergillus* spp. pode haver comprometimento dos movimentos da ave, dependendo dos ossos acometidos.

## Sinais clínicos

A dificuldade respiratória é o principal e, na maioria dos casos, o primeiro sinal da aspergilose. A ave, em movimentos ritmados, estende o pescoço e a cabeça à frente, com o bico aberto, durante a inspiração. Podem estar acompanhados de estertores, quando associado com outras doenças respiratórias. Com a evolução da doença, dispnéia, tosse, espirro e exsudato nasal abundante podem estar presentes. Secreção ocular e placas caseosas sobre o globo ocular também são sinais comuns de aspergilose, especialmente em aves jovens. Na forma aguda da doença, há redução no consumo de ração, diarreia e morte em até 48 horas. Entretanto, na forma crônica, além dos sinais respiratórios e oculares indicados, observam-se sonolência, inapetência, diarreia, aumento da sede, torcicolo e ataxia. Assim como a morbidade e a mortalidade determinadas pela aspergilose, também os sinais clínicos desta doença podem ser muito variáveis, dependendo de fatores como o grau de exposição ao agente e a idade das aves. Os índices zoeconômicos dos lotes afetados poderão estar comprometidos, ocorrendo redução no ganho de peso, aumento da conversão alimentar e do número de aves refugos.

## Lesões macroscópicas

Podem ocorrer lesões localizadas ou generalizadas. Em infecções recentes, as lesões surgirão como pequenos nódulos caseosos esbranquiçados nos pulmões ou nos sacos aéreos torácicos e abdominais. Nos pulmões estes nódulos poderão estar envoltos por áreas hiperêmicas e os sacos

aéreos apresentarem-se mais espessados. Em quadros crônicos, os nódulos caseosos serão maiores, compondo muitas vezes placas caseosas de coloração branco-amarelada, com tendência a coalescer e formar lesões mais extensas nos pulmões, sacos aéreos e atingir até a traquéia e siringe. Juntamente com os nódulos miliares, pode ser observada a presença de exsudato mucóide branco-amarelado envolvendo a traquéia, pulmões e sacos aéreos. Ainda em quadros crônicos, quando o *Aspergillus* spp. utiliza o trato respiratório como substrato ao seu desenvolvimento, colônias típicas verde-azuladas podem ser visualizadas sobre os órgãos afetados ou sobre os nódulos ou placas caseosas.

No cérebro e no cerebelo podem ocorrer nódulos branco-amarelados em áreas circunscritas, geralmente visíveis à necropsia. Os olhos podem estar acometidos desde uma leve opacidade até a total perda da visão, pela presença de exsudato caseoso ou placas amareladas. Quando da localização articular pelo *Aspergillus* spp., processos de artrite com conseqüente dificuldade locomotora podem ser observados. Acompanhando a presença de nódulos ou placas caseosas nos sacos aéreos abdominais, estas mesmas lesões podem ser encontradas no peritônio. Na pele de aves jovens pode ocorrer ressecamento e quebra ou queda de penas, com áreas de aspecto escamoso.

## Lesões microscópicas

O exame histopatológico de nódulos ou placas caseosas no trato respiratório de aves acometidas com aspergilose, evidenciará áreas necróticas eosinofílicas, margeadas por células gigantes, macrófagos, linfócitos e tecido fibroso. Estruturas fúngicas, como os micélios, podem ser observados nas áreas de necrose utilizando-se corantes comuns como hematoxilina e eosina, embora colorações como Gomori ou PAS (Periodic Acid Schiff) apresentem melhores resultados. São achados freqüentes em quadros de encefalite, áreas extensas e irregulares de necrose no cérebro, com infiltrado de células gigantes e heterófilos. Em lesões cutâneas onde foram isolados *A. flavus*, observam-se espessamento da epiderme, hiperqueratose, necrose e inflamação. Lesões oculares são caracterizadas por edema, infiltrado de heterófilos e células mononucleares, além da presença de estruturas do próprio fungo. Não há diferenciação nas lesões microscópicas provocadas por *A. fumigatus* ou *A. flavus*.

## Diagnóstico

**Isolamento e identificação do agente.** O histórico de sinais compostos por dificuldade respiratória, associados a situações de estresse recente ou a ausência de resposta a antibioticoterapia podem servir de subsídios ao diagnóstico clínico da enfermidade. Entretanto, não há segu- rança nesta forma de diagnóstico, visto que há inúmeras enfermidades que poderiam se encaixar no perfil descrito. O exame necroscópico, com a visualização de nódulos caseosos nos pulmões ou sacos aéreos, associado ao exame laboratorial de cultivo com o intuito de isolar e identificar o fungo em questão, compõem o método mais indicado e seguro para diagnosticar os agentes da aspergilose.

Pequenas amostras das lesões podem ser colocadas em solução de KOH a 20% com tinta azul (nanquim), sobre lâminas de vidro cobertas com lamínulas, com o objetivo de observação micros-

cópica das hifas septadas de *Aspergillus* spp. Este exame auxilia o diagnóstico presuntivo de aspergilose, embora este só possa ser confirmado através da visualização dos conidióforos, o que é possível com o cultivo das lesões sugestivas.

A coleta do material para cultivo deve ser criteriosa e cercada da máxima assepsia possível, visto que os fungos, como agentes onipresentes, podem induzir a diagnósticos errôneos. As lesões nodulares características, nos pulmões ou sacos aéreos, ou mesmo em qualquer outra região do trato respiratório, bem como lesões nodulares ou abscessos em outros locais, como sistema nervoso central e globo ocular, devem ser removidas cuidadosa e assepticamente, depositadas em material previamente esterilizado, como, por exemplo, placas de Petri ou similar e encaminhadas imediatamente ao laboratório. Não há tempo predeterminado para efetuar o cultivo, mas quanto maior o período entre coleta e cultivo, maiores são as chances de insucesso no diagnóstico correto. Caso o objetivo seja o estudo de lesões microscópicas, pequenas porções do material coletado devem ser depositadas em frascos contendo formol a 10% e, após fixação do material, encaminhados ao processamento histopatológico.

Para o cultivo do material, diversos meios de cultura podem ser utilizados, como o ágar solução de Czapek, ágar dextrose batata ou ágar Sabouraud. O meio utilizado deve sempre ser indicado, porque as características das colônias das diferentes espécies de *Aspergillus* poderão variar, conforme o meio empregado. Em materiais suspeitos de alta contaminação, especialmente com bactérias, pode ser necessária a suplementação destes meios com antibióticos. Esta ação se faz necessária, porque geralmente as bactérias crescem rapidamente, inibindo a competição por nutrientes e espaço no meio de cultura, em relação aos fungos. Penicilina, estreptomicina, tetraciclina, neomicina e especialmente cloranfenicol podem ser acrescidos ao meio de cultura original. Outro aspecto envolvendo as colônias fúngicas é não confundi-las com leveduras, pois como também são células eucarióticas, estas não são afetadas pelos antibióticos, necessitando serem diferenciadas através dos aspectos macroscópicos ou microscópicos das colônias.

Dependendo do material a ser semeado, este pode ser pressionado sobre o ágar, colocado em pequenos pedaços sobre o meio ou macerados e diluídos em solução salina para posterior plaqueamento. Os meios semeados podem ser incubados aerobicamente à temperatura de 25 a 27°C e 35 a 37°C. Em algumas espécies o crescimento das colônias já pode ser evidenciado em 24 horas de cultivo, entretanto, o mais comum, são as colônias serem observadas a partir de 48 horas de incubação. Para descarte das placas em que não houve crescimento, após checagem diária, deve-se esperar de cinco a dez dias, dependendo do material semeado.

Para identificação da espécie de *Aspergillus*, além das características da colônia, será necessário exame microscópico para verificar especialmente a morfologia dos conidióforos. O local de eleição para coleta do material da colônia é a região de coloração branca que a envolve, região responsável pelo crescimento da colônia, onde serão encontrados os conidióforos. Com um pequeno pedaço da colônia ou com uma fita adesiva transparente pressionada sobre a colônia, colocados em lâmina de vidro contendo azul de algodão e sobrepostos com lamínula, será possível verificar as estruturas que identificarão a espécie de *Aspergillus* spp. (ver etiologia).

## Tratamento

O tratamento da aspergilose em aves de produção é difícil e inviável economicamente, estando a relação custo-benefício nitidamente prejudicada. O elevado custo das drogas antifúngicas inviabiliza o tratamento em larga escala, além da dificuldade imposta pelas características de disseminação do *Aspergillus*, fazendo com que toda a atenção esteja voltada à prevenção e ao controle nos aviários e incubatórios.

## Prevenção e controle

A maior dificuldade à prevenção e ao controle da aspergilose é que estes fungos podem estar presentes em todas as fases da produção avícola. O descrédito à doença pode significar sérios prejuízos, agravado ao fato do *Aspergillus* spp. ser habitante normal do meio ambiente, especialmente o avícola. Programas de higiene e desinfecção devem ser sempre avaliados e modificados caso a contaminação fuja ao controle. Estes programas devem abranger todas as fases de produção, seja na execução, seja no seu monitoramento. Não há razões para menosprezar ações profiláticas nos aviários (reprodução, corte e postura) comparativamente com as realizadas na incubação e no nascimento, assim como não há necessidade de aguardar o surgimento da doença clínica, para efetivamente combatê-la, uma vez que nesta situação já teremos redução nos índices zoeconômicos, além de reforçar a máxima em sanidade avícola, ou seja, sempre a prevenção e o controle de qualquer enfermidade avícola serão menos custosos que o seu tratamento.

Rigor e atenção com as atividades de limpeza e desinfecção são a base de sustentação primária de um eficiente programa de biossegurança. A limpeza física correta das instalações e equipamentos e a utilização de desinfetantes que tenham ação eficiente sobre fungos, além de bactérias e vírus, são procedimentos obrigatórios em qualquer programa de biossegurança.

O monitoramento de *Aspergillus* spp. ou fungos em geral, está revestido de importância, tanto quanto o realizado com as bactérias. Exames rotineiros e esporádicos de cama de chão e ninho, material de fundo de caixa transportadora de pintos, casca dos ovos (contato), câmara de ar dos ovos não eclodidos, ambiente (ar) dos diversos setores do incubatório, penugem após nascimento, necropsia de pintos com um dia de idade, água, ração e matéria prima, são análises que devem ser implementadas em programas de biossegurança, objetivando redução da contaminação fúngica.

**Exame de material de cama de chão ou ninho.** A cama a ser utilizada nos aviários (reprodução e corte) deve ser isenta ou apresentar baixa quantidade de fungos. Esta análise deve ser efetuada sempre antes do alojamento e em períodos durante a criação em que se evidenciar necessária. A partir de amostragem representativa da cama de diversos locais do aviário, misturar dez ou 100 gramas de cama em 90 ou 900ml de solução salina. Após agitação manual e repouso por dez minutos, utilizar quantidade suficiente desta mistura para cobrir placa de Petri contendo ágar Sabouraud, incubando à 37°C durante pelo menos 48 horas.

**Exame da casca dos ovos.** No momento de chegada dos ovos ao incubatório, coletar amostragem de no mínimo 20 ovos por lote de reprodutoras. Com a máxima assepsia e cuidado, colocar a casca dos ovos em contato com meio de cultura (Ágar Sabouraud). Incubar este material como anteriormente descrito.

**Exame da câmara de ar dos ovos incubados e não eclodidos.** Após a retirada dos pintinhos em cada nascimento, separar todos os ovos não eclodidos. Dependendo da quantidade de ovos e da mão-de-obra disponível, podem ser abertos ovos por amostragem de 0,2 a 1% ou o total de ovos não eclodidos. Procura-se neste exame, detectar a presença de colônias de fungos, em especial de *Aspergillus* spp., na câmara de ar (**Figura 4**).

**Exame do ambiente (ar).** Através da exposição de placas contendo ágar Sabouraud em setores como a sala de ovos, câmara fria, máquinas de incubação e nascimento, sala de vacinação, corredores, entre outros, verificar o nível de contaminação do incubatório. Este exame é realizado juntamente com placas contendo meio para verificar também a contaminação bacteriana. As placas devem ser distribuídas nos ambientes a serem analisados, abertas durante 10 a 20 minutos. Fechá-las e remetê-las a laboratório de diagnóstico para cultivo, cujo resultado ideal deverá ser sempre o negativo. A frequência deste exame dependerá dos objetivos a serem atingidos, sendo aconselhável o mínimo de dois exames mensais.

**Exame de penugem (Fluff test).** Este exame permite verificar a contaminação das máquinas de nascimento por fungos. Pode ser realizado em todas as máquinas a cada nascimento, uma vez por semana ou quinzenal, dependendo do programa sanitário adotado. Durante o nascimento, coletar amostra de penugens, secas e sem a presença de restos de nascimento, embalando-as o mais assepticamente possível em material previamente sanitizado ou esterilizado. Acrescentar 0,5g de penugem seca em tubo de ensaio ou placa de Petri contendo 10ml de solução salina, seguindo procedimento descrito no exame de material de cama. É desejável o não crescimento de fungos.

**Exame micológico do pulmão.** Tem por objetivo verificar o índice de contaminação dos pintos de um dia, provenientes do incubatório. Para cada lote, recomenda-se o mínimo de dez pintos, que após sacrifício e necropsia, terão seus pulmões coletados assepticamente e semeados em ágar Sabouraud. Em cada placa podem ser cultivados pulmões de no mínimo cinco aves, verificando o nível de contaminação micológica (**Figura 1**).

No **Quadro 2** encontram-se alguns dos principais aspectos a serem observados em programas sanitários, com o intuito de prevenir e controlar a aspergilose na avicultura comercial.

<b>Quadro 2</b> - Práticas a serem implementadas em programas de biossegurança visando a prevenção e ao controle da aspergilose.	
<b> Gerais</b>	<b>Incubatório</b>
Lavagem e desinfecção rigorosas e criteriosas dos equipamentos avícolas e dos aviários.	Avaliação da contaminação das diversas seções do incubatório.
Ventilação adequada dos aviários, preferencialmente a natural.	Fumigação ou sanitização dos ovos no incubatório.



Evitar reutilização de cama em aviário com histórico da doença ou sem a utilização de qualquer produto antifúngico.	Nebulização dos setores críticos do incubatório com antifúngicos.
Treinamento e esclarecimento dos operários sobre as particularidades da doença e como evitá-la.	Rigor no banho e fumigação dos uniformes dos operários.
Qualidade da cama a ser utilizada nos aviários, seja de chão ou de ninho - controle da umidade. Manutenção da cama sempre seca. Pulverização da cama com antifúngicos quinzenalmente.	Treinamento dos operários sobre a importância e execução dos programas de biossegurança.
Descarte de aves mortas e doentes.	Respeitar criteriosamente o sentido de área limpa - área suja, no manejo de operários, equipamentos, ovos e pintos.
Realizar o maior número possível de coletas de ovos diariamente. Fumigação ou sanitização dos ovos na granja.	Avaliar constantemente a seleção dos ovos realizados nos aviários.
Pulverização com antifúngicos e troca da cama dos ninhos com frequência diretamente proporcional a possibilidade de contaminação.	Eliminar das máquinas sempre que possível, ovos sem condições de incubação ou com perigo potencial de contaminação.
Não utilizar para incubação, os ovos sujos, trincados ou fora dos ninhos.	Evitar ao máximo a manipulação desnecessária dos ovos, em qualquer fase da incubação.
Nebulização de silos com antifúngicos.	No descarte de ovos durante a transferência, utilizar baldes plásticos com tampa e contendo desinfetante.
Prevenção a vazamentos de bebedouros e goteiras nos aviários.	Inspeção de ovos não eclodidos de cada máquina ou lote para determinar a razão da morte embrionária.

Controle da umidade da matéria prima e ração.	Necropsia de pintos visando observar a presença de lesões no sistema respiratório e envio a laboratório de diagnóstico quando necessário.
---	---

A prevenção da aspergilose é efetivamente a melhor medida para o seu controle. Fica evidente que uma vez detectada a fonte de contaminação, esta deve ser eliminada, além da implementação de antifúngicos conforme o local e substrato de contaminação. Há inúmeras substâncias que apresentam a capacidade de inibir o crescimento de fungos, podendo, conforme sua indicação, serem utilizadas como antifúngicos em cama, matéria prima, ração, água, incubatórios e silos, entre outros. Propionato de cálcio, violeta de genciana, sulfato de cobre, propilenoglicol, nistatina, anfotericina B, enilconazole e ácidos orgânicos como o propiônico e o acético, são potencialmente importantes antifúngicos de comprovada ação in vivo ou in vitro. Entre os desinfetantes, produtos a base de compostos quaternários de amônio, formaldeído, iodo, fenol e glutaraldeído, entre outros, apresentam menor ou maior efeito sobre os fungos. Infelizmente não há desinfetante ideal, ou seja, aquele que atue com a mesma eficiência sobre fungos, bactérias, vírus e protozoários, além de outras características desejáveis como a ausência de atividade corrosiva, inocuidade para o homem e os animais, não combinação com matéria orgânica, solubilidade, entre outras. Alguns destes produtos podem ser utilizados tanto para a lavagem e desinfecção de equipamentos e instalações em aviários e incubatórios, como também para pulverização nos aviários em diversas situações, ou seja, sobre a cama, aves ou ovos.

## Candidíase

### Introdução

Candidíase é o termo utilizado para definir processos micóticos causados por fungos do gênero *Candida*. Termos como micose do trato digestivo ou do Inglúvio, monilíase e o popular sapinho, podem ser encontrados como sinônimos do processo. Infecta o homem e várias espécies animais, incluindo-se as aves, determinando nestas lesões principalmente na cavidade oral, esôfago, Inglúvio e no proventrículo. Os perus aparentam ser espécie particularmente susceptível à infecção, embora outras espécies possam ser acometidas, como galinha, ganso, pato, pombo, faisão, perdiz, codorna e aves silvestres ou ornamentais. Em aves de produção, a candidíase não apresenta ocorrência comum, sendo considerada de pouca significância econômica e em associação a quadros de estresse ou de imunossupressão. Langenbeck, em 1839, associou infecções do trato digestivo de humanos com fungos que apresentavam as características encontradas no gênero *Candida*. Há algumas divergências na nomenclatura destes fungos, embora a maior parte dos pesquisadores utilizem o termo candidíase ao invés de monilíase, para descrever os fungos correlacionados com lesões esbranquiçadas, em forma de placa, no trato digestivo superior. Sua transmissão ocorre horizontalmente, através da contaminação do ambiente, especialmente cama e fômites, sendo consenso entre os especialistas que a candidíase está intimamente relacionada com deficiências no manejo sanitário, pois por se caracterizar como fungo oportunista, a *Candida* estará quase sempre associada a condições precárias de manejo, incubação, doenças carenciais e imunossupressoras, além de poder surgir na esteira de

tratamentos prolongados com antimicrobianos.

## Etiologia

Espécies como *Candida krusei* e *C. tropicalis*, entre outras, compõem um grupo de fungos em que a espécie mais freqüente e potencialmente patogênica é a *C. albicans*, cuja ação pode desencadear infecção no trato digestivo superior, sua forma clínica mais comum e, esporadicamente, infecção nos sacos aéreos e pulmões. A *Candida* spp. pode ser encontrada também em aves saudáveis, manifestando-se clinicamente quando há imunossupressão ou estresse, situações hoje, muito comuns na criação de aves de produção.

A partir de lesões suspeitas, devemos semear preferencialmente em ágar Sabouraud com ou sem cloranfenicol (ver aspergilose), incubando a 25°C e 37°C. A maior incidência de crescimento ocorrerá em até cinco dias, período em que as placas deverão ser examinadas diariamente. Mesmo não havendo crescimento durante este período, os cultivos não devem ser descartados até completar duas semanas de incubação, pois algumas espécies apresentam crescimento muito lento. As colônias de *C. albicans* em ágar Sabouraud terão aspecto cremoso, irregular, com relevo variável, aspecto leveduriforme e coloração esbranquiçada, semelhante a levedura (**Figura 5**). Sua identificação poderá ser feita através de provas bioquímicas e inoculação em soro, constatando-se a formação de tubo germinativo.



**Figura 5** - Colônia de *Candida albicans* em ágar Sabouraud. Observar aspecto cremoso, irregular, coloração esbranquiçada e aspecto leveduriforme.

## Sinais clínicos

Não há sintomatologia patognomônica. Alterações nos índices zoeconômicos, como aumento da conversão alimentar e redução no ganho de peso, podem estar associadas a debilidade, sonolência, inapetência e eriçamento das penas. Quando o local mais afetado é o inglúvio, este pode se apresentar dilatado, destacando-se visualmente e à apalpação. Podem ocorrer episódios de regurgitação, devido as lesões presentes no trato digestivo superior.

## Lesões

Cavidade oral, esôfago, inglúvio e proventrículo são os locais mais comumente afetados. A mucosa destes segmentos pode tornar-se espessa, com o aparecimento de placas difteroides de coloração branco-acinzentadas ou amareladas, aderidas ou não, coalescentes, que durante a manipulação podem romper-se, sangrando facilmente. Podem existir diferenças peculiares a cada local afetado, como a presença de pseudomembranas na cavidade oral, erosões ou úlceras na mucosa do inglúvio e engrossamento da parede do proventrículo, coberta por exsudato de natureza variável, mas em todos os segmentos afetados as lesões são assemelhadas.

As lesões determinadas pela *C. albicans* deverão ser diferenciadas de outras enfermidades, como a avitaminose A, micotoxicoses e boubá aviária, cujas alterações podem ser confundidas com a candidíase. As erosões de moela, hoje tão freqüentes, inclusive em pintos de um dia de idade, aparentemente não estão associadas diretamente a candidíase. Assim como na grande maioria dos agentes responsáveis por enfermidades aviárias, também na candidíase a susceptibilidade é maior em aves mais jovens, com resistência aparentemente crescente, a medida que as aves se tornam mais velhas.

## Diagnóstico

A partir das lesões macroscópicas observadas no trato digestivo superior, pode-se tentar visualizar diretamente a *Candida* spp. ou realizar cultivos para tentativa de isolamento e identificação. Como sempre há a possibilidade do isolamento de *Candida* spp. apatogênica ou mesmo proveniente de mucosas aparentemente saudáveis, a identificação se reveste de grande importância na elucidação do diagnóstico.

Com o auxílio de suabes, coletam-se assepticamente amostras provenientes de lesões do trato digestivo. Inicialmente pode ser realizado o exame microscópico direto usando colorações específicas para fungos, como o PAS ou o Gomori, além de gram ou KOH. A presença de pseudo-hifas em células leveduriformes com brotamento são fortes indícios de *Candida* spp. A partir do crescimento em ágar Sabouraud de colônias com aspecto cremoso e leitoso ([Figura 5](#)) e odor típico de levedura, em se tratando de *C. albicans*, podem ser observadas através de microscópio ótico, células com a formação de clamidoconídios na porção terminal ou lateral das pseudo-hifas. Os clamidoconídios possuem função similar aos esporos encontrados em bactérias.

Como a *C. albicans* é a espécie mais comumente isolada em quadros de candidíase em aves, além de apresentar maior patogenicidade, sua identificação é de particular importância no diagnóstico. Além dos exames já descritos, o teste do tubo germinativo pode ser realizado para dirimir qualquer dúvida em relação a identificação precisa de *C. albicans*. Outra vantagem deste teste, além do auxílio valioso à identificação da *C. albicans*, é o reduzido tempo em que pode ser realizado, obtendo-se resposta confiável. O tubo germinativo é caracterizado como um prolongamento filamentosso que parte da *Candida*, podendo atingir várias vezes o seu próprio tamanho. A diferença básica entre a *C. albicans* e outras espécies do gênero *Candida*, é que a primeira possui o tubo germinativo inteiramente liso e filamentosso, sem apresentar constrição na base de inserção da hifa, o que não ocorre em outras espécies. Este exame é realizado coletando-se parte da colônia de *Candida* suspeita e inoculada em 0,5mL de soro de coelho. Incuba-se o soro inoculado a 35°C, por apenas duas horas. Após este período, examina-se o soro inoculado em microscopia ótica, com o intuito da visualização ou não do tubo germinativo e sua morfologia. Em casos onde não seja possível a diferenciação por meio da verificação do tubo germinativo, a

fermentação de carboidratos pode ser utilizada como alternativa. Todas estas análises muitas vezes são necessárias, pois somente o cultivo não encerra o diagnóstico, além do que algumas espécies de *Candida* possuem formas apatogênicas, estando presentes na ave sem determinar a enfermidade.

## Tratamento, prevenção e controle

O tratamento da candidíase em aves de produção pode não surtir o efeito desejado, especialmente através do prisma da relação custo- benefício. Vários produtos podem ser utilizados na ração ou água de bebida, com maior ou menor ação sobre *Candida* spp. Nistatina, anfotericina B e cetoconazol são drogas altamente eficientes no tratamento da *Candida* spp. Entretanto, sulfato de cobre, violeta de genciana e propionato de cálcio podem também ser utilizados na prevenção da candidíase, parecendo ser este o método mais indicado e racional. Desinfetantes a base de iodo, fenol, formaldeído, entre outros, são indicados para o processo de sanitização do ambiente e equipamentos.

Não se deve menosprezar a constatação de que na maioria das vezes, a candidíase ocorre devido às péssimas condições de manejo e precariedade da higiene, partindo da resolução destes fatores para minimizar a possibilidade da ocorrência desta enfermidade. Em linhas gerais, todas as ações preventivas e de controle à aspergilose, podem ter amplo sucesso também em quadros de candidíase.

## Outras enfermidades micóticas

Enfermidades micóticas como dermatomicose, dactilariose, histoplasmose e criptococose em aves de produção, estão despidas de maior significância econômica, apresentando incidência de caráter ocasional ou mesmo rara. Embora não haja importância econômica nestas enfermidades à indústria avícola, estas podem incidir com alguma frequência em aves silvestres ou ornamentais.

## Dermatomicose aviária

Micose superficial caracterizada pela formação de crostas branco-amareladas, principalmente na crista e barbelas, embora em casos mais crônicos possa atingir toda a cabeça, pescoço e regiões sem penas. Em casos graves, também regiões empenadas podem ser acometidas, formando lesões em forma de favo ao redor dos folículos das penas. Afeta galinha, perus e outras aves domésticas, além de aves silvestres e ornamentais. *Trichophyton gallinae* é a espécie deste fungo de maior importância. O gênero *Trichophyton* é caracterizado por macro e microconídios individuais com morfologia variada, tendendo a fusiforme ou claviforme.

Favo aviário ou tinha da crista, são sinônimos comuns da dermatomicose aviária, cuja transmissão ocorre através do contato de ave a ave ou em ambientes contaminados. O diagnóstico é realizado removendo-se as crostas formadas sobre a pele e preparadas em solução de KOH a 20%, para análise em microscopia direta. O cultivo do material colhido pode ser feito em ágar Sabouraud, seguindo metodologia descrita em aspergilose, desenvolvendo-se colônias inicialmente esbranquiçadas e aveludadas que posteriormente tornar-se-ão avermelhadas. Quando há possibilidade de tratamento individual, podem ser utilizados topicamente iodo glicerinado ou

derivados imidazólicos nas regiões afetadas e, via oral, a griseofulvina. Em situações de ocorrência freqüente da dermatomicose, há necessidade de desinfecção criteriosa dos equipamentos e ambiente de criação, podendo ser utilizados produtos a base de formaldeído, fenol, iodo e compostos quaternários de amônio.

## Dactilariose

Enfermidade micótica relativamente nova em aves de produção, determinada pelo fungo *Dactylaria gallopava*. Este fungo têm ação sobre o sistema nervoso central, resultando em severa encefalite. Apresenta ocorrência esporádica, sendo a cama contaminada o principal fator de contaminação ambiental. As aves podem apresentar opacidade do globo ocular, andar cambaleante e incoordenado, torcicolo ou mesmo opistótomo.

O diagnóstico pode ser realizado através da microscopia direta, histopatologia e cultivo. Na microscopia direta, parte do material coletado do sistema nervoso central é acrescida da solução de KOH a 20%, possibilitando a visualização direta do fungo. No histopatológico, colorações com hematoxilina e eosina, PAS ou Gomori podem ser empregadas nas áreas afetadas do sistema nervoso central, permitindo a visualização de granulomas necróticos e estruturas do próprio fungo como os micélios. Para o cultivo, partes do sistema nervoso central podem ser utilizadas para semeadura em ágar Sabouraud, seguindo procedimentos descritos em aspergilose. Colônias variando de lisas a rugosas, com coloração cinza-amarronzada e pigmentos avermelhados são características de *Dactylaria gallopava*. A observação das estruturas do fungo podem ser realizadas utilizando-se fita adesiva, conforme técnica descrita em aspergilose. A forma nervosa da aspergilose, encefalomielite e encefalomalácea podem ser confundidas com dactilariose, devido a semelhança nos sinais clínicos, necessitando ser realizado o diagnóstico diferencial.

## Histoplasmose

É uma enfermidade relatada freqüentemente em aves de longa permanência em cativeiro, como as de zoológico e, raramente em aves de produção como galinha e peru. A histoplasmose acomete também os seres humanos, embora não haja evidências de que seja uma zoonose. O *Histoplasma capsulatum* é o agente etiológico da histoplasmose, sendo encontrado com freqüência em ambientes úmidos contendo cama de frango e fezes de aves em cativeiro, viveiros, galinheiros e pombais. O contato com o fungo, presente nestes locais, parece ser a principal forma de contaminação.

O diagnóstico histopatológico é realizado a partir de material corado com hematoxilina e eosina, PAS ou Gomori, observando-se principalmente a presença de macrófagos contendo no seu interior as formas leveduriformes do fungo. Também através do cultivo em ágar Sabouraud, o crescimento de colônias aveludadas de coloração branco-amarronzadas, podem auxiliar o diagnóstico, através da análise microscópica da morfologia do *Histoplasma capsulatum*.

## Criptocose

Embora seja uma enfermidade distribuída mundialmente e ocorra tanto em seres humanos quanto animais, raramente acomete aves. Não apresenta importância econômica à indústria avícola, restringindo-se a raras ocorrências em aves silvestres ou ornamentais. Sua real importância é o achado do *Cryptococcus neoformans*, seu principal agente etiológico, em ambientes de permanência das aves, especialmente nas fezes. Há relatos do isolamento de *C. neoformans* em fezes ou no ambiente de criação de pombos, canários, faisões, andorinhas, gralhas e outras aves. A literatura também relata o isolamento de *C. neoformans* em faisões com quadro de enterohepatite, assim como a inoculação experimental em galinhas resultou em lesões necróticas no fígado, baço e pulmões.

O diagnóstico pode ser realizado através do exame microscópico direto, histopatologia e cultivo. A coloração com tinta (nanquim) evidencia a forma circular e a espessa cápsula do *C. neoformans*. A histopatologia é utilizada rotineiramente no diagnóstico da criptococose em mamíferos. O cultivo pode ser realizado em qualquer meio específico para fungos, desenvolvendo-se colônias mucóides de coloração branco-amarronzadas.

## Bibliografia

Akan M, Hazirolu R, Ilhan Z, Sareypoglu B, Tunca R. A case of aspergillosis in a breeder flock. *Avian Diseases* 2002; 46(2):497-501.

Aloisi G. Aspergilosis, una enfermedad ambiental. *Avicultura Profesional* 1996; 14(2):18-9.

Andreatti Filho RL. Enfermidades micóticas. In: Berchieri Júnior A, Macari M, editores. *Doenças das aves*. Campinas (SP): Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2000. p.369-78.

Andreatti Filho RL. Doenças fúngicas. In: Andreatti Filho, RL, editor. *Saúde aviária e doenças*. São Paulo (SP): Editora Roca; 2007. p.236-45.

Ceballos BSO, Cornejo LRZ, Trabulsi LR, Toledo MRF, Silva NP. Micologia geral. In: Trabulsi LR, Toledo MRF, Silva NP, editores. *Microbiologia*. São Paulo (SP): Livraria Atheneu; 1986. p.221-73.

Chute HL, Richard JL. Fungal infections. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, editores. *Diseases of poultry*. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.351-65.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr. WC. *Mycology: color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1992. p.791-878.

Meinecke CF, Hoye JA, Stephenson EL. Aspergilosis por causa de la yacija. *Industria Avicola* 1986; 33(12):8-11.

North MO. *Commercial chicken production manual*. Westport (Connecticut): The Avi Publishing Company; 1984. p.662-3.

- Pelczar M, Reid R, Chan ECS. Micologia: microbiologia. São Paulo (SP): Editora McGraw-Hill do Brasil; 1980. p.313-41.
- Richard JL, Beneke ES. Mycoses and Mycotoxicoses. In: Purchase HG, Arp LH, Domermuth CH, Pearson JE, editores. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 3th ed. Kennett Square (PA): University of Pennsylvania. American Association of Avian Pathologists; 1989. p.70-3.
- Riddell C. Avian histopathology. Kennett Square (PA): University of Pennsylvania. American Association of Avian Pathologists; 1987.
- Spielholz B. Propiedades de los desinfectantes para planta de incubación. Avicultura Profesional 1999; 17(4):22-4. Trejos VG. La exterminación de *Aspergillus*. Industria Avicola 1990; 37(8):16-9.
- Valderrama GHM. Aspergilose em pintos de corte. De onde vem? III Seminário dos Produtores de Pintos de Corte; 1985; Campinas, SP. Brasil. p.61-5.
- Wyatt RD. Inhibidores de hongos: dónde y cuándo usarlos. Avicultura Profesional 1990; 8(1):22-3.
- Wyatt RD. Importancia de los hongos en la salud aviar. Avicultura Profesional 1990; 8(2):48-50.
- Wyatt RD. Aislamiento de hongos de una fuente variada de microorganismos. Avicultura Profesional 1993; 10(4):173-4.



## Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura

<b>Introdução</b>	<b>821</b>
<i>Principais micotoxinas de interesse na avicultura</i>	822
<i>Toxinas mais importantes no Brasil</i>	822
<i>Limites máximos de micotoxinas recomendados para aves de produção</i>	823
<b>Aflatoxinas</b>	<b>823</b>
<i>Mecanismo de ação das aflatoxinas</i>	823
<i>Principais sinais clínicos e lesões observadas</i>	824
<i>Efeitos das aflatoxinas em aves de postura</i>	825
<i>Efeito das aflatoxinas sobre a produção de perus</i>	825
<i>Impacto das aflatoxinas no desempenho de diferentes linhagens de frangos de corte</i>	826
<i>Efeitos das aflatoxinas sobre empenamento em frangos de corte</i>	826
<i>Efeito das aflatoxinas sobre a imunidade de frangos</i>	827
<b>Ácido Ciclopiazônico</b>	<b>827</b>
<b>Tricotecenos</b>	<b>828</b>
<b>Fumonisinás</b>	<b>829</b>
<b>Ocratoxina A</b>	<b>830</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>831</b>

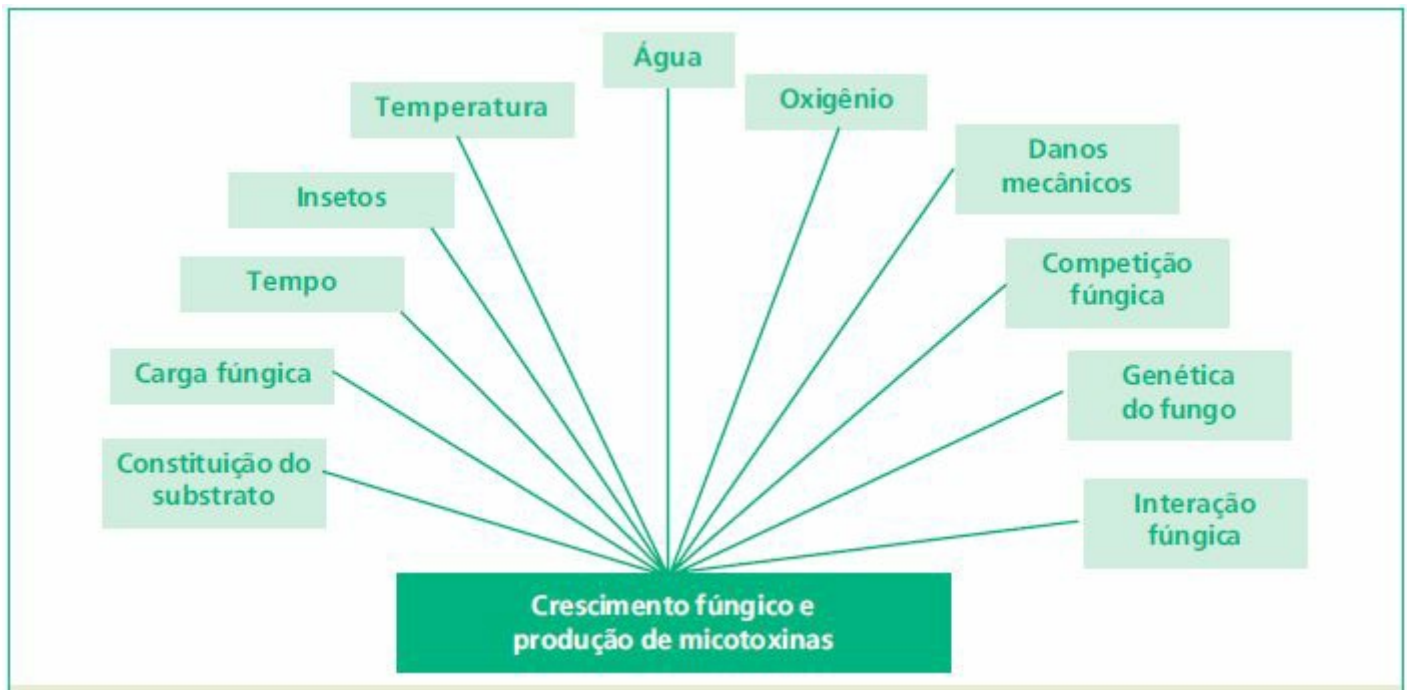
# Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura

Carlos Augusto Mallmann, Paulo Dilkin, Ricardo Hummes Rauber

## Introdução

Micotoxinas são substâncias tóxicas resultantes do metabolismo secundário de diversas cepas de fungos filamentosos. São compostos orgânicos, de baixo peso molecular e não apresentam imunogenicidade. Em climas tropicais e subtropicais o desenvolvimento fúngico é favorecido por fatores como excelentes condições de umidade e temperatura. Estes fungos crescem e se proliferam bem em cereais, principalmente no amendoim, milho, trigo, cevada, sorgo e arroz, nos quais encontram um substrato altamente nutritivo para o seu desenvolvimento. O crescimento fúngico e a produção de micotoxinas em cereais podem ocorrer nas fases do desenvolvimento, maturação, colheita, transporte, processamento ou armazenamento dos grãos. Por isso, a redução da umidade dos cereais através da secagem é de fundamental importância para reduzir os níveis de contaminação.

Mais de 500 micotoxinas, conhecidas na atualidade, são produzidas por aproximadamente uma centena de fungos. As principais podem ser divididas em três grupos: as aflatoxinas, produzidas por fungos do gênero *Aspergillus* como *A. flavus* e *A. parasiticus*; as ocratoxinas, produzidas pelo *Aspergillus ochraceus* e diversas espécies do gênero *Penicillium* e as fusariotoxinas, que apresentam como principais representantes os tricotecenos, a zearalenona e as fumonisinas, produzidas por diversas espécies do gênero *Fusarium*. A formação de micotoxinas é dependente de uma série de fatores (**Figura 1**), como a umidade, temperatura, presença de oxigênio, tempo para o crescimento fúngico, constituição do substrato, lesões à integridade dos grãos causados por insetos ou dano mecânico e térmico, quantidade de inóculo fúngico, bem como a interação ou competição entre as linhagens fúngicas. As características genéticas dos cereais que compõem o substrato representam um fator cada vez mais importante na solução do problema. Esta gama de fatores demonstra que o controle dos mesmos, no sentido de prevenção, muitas vezes se torna muito difícil. Por exemplo, as condições climáticas brasileiras no período de colheita dos cereais, em função do regime pluviométrico, não favorecem a secagem dos grãos, especialmente do milho nas principais regiões produtoras de grãos.



**Figura 1** - Fatores intrínsecos e extrínsecos relacionados à produção de micotoxinas.

O sistema de secagem e armazenagem instalado também contribui para a evolução do problema nessas condições. A temperatura da massa de grãos no interior dos silos, em muitas situações, ultrapassa os 18°C recomendados, permitindo um crescimento fúngico intenso, especialmente pela deficiente aeração da maioria das unidades armazenadoras, que, mesmo existindo, pelo excesso e má distribuição das impurezas, não são efetivas no controle dos pontos de calor na massa de grãos.

Quando as micotoxinas são ingeridas, os diversos sinais clínicos se devem às diferentes estruturas químicas das mesmas, influenciados pelo fato de serem ingeridas por diferentes organismos animais superiores e também pela diversidade de espécies, raça, sexo, idade, fatores ambientais, manejo, condições nutricionais e outras substâncias químicas. A micotoxicose implica em enormes prejuízos de ordem econômica, sanitária e comercial, principalmente pelas suas propriedades citotóxicas, anabolizantes, estrogênicas, carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas. No entanto, o maior problema das micotoxicoses é atribuído aos prejuízos relacionados aos diversos órgãos e sistemas dos animais, implicando na diminuição do desempenho dos mesmos. As manifestações agudas ocorrem quando os indivíduos consomem doses moderadas a altas de micotoxinas. Podem aparecer sinais clínicos e um quadro patológico específico, dependendo da micotoxina ingerida, da susceptibilidade da espécie, das condições individuais do organismo e interação, ou não, com outros fatores. As lesões são dependentes de cada micotoxina. Porém, as mais encontradas dizem respeito a hepatopatias, hemorragias, nefrites, necrose das mucosas digestivas e morte.

A micotoxicose crônica é a mais freqüente, ocorrendo quando existe um consumo de doses moderadas a baixas de determinada micotoxina. Nestes casos, os animais apresentam um quadro caracterizado pela redução da eficiência reprodutiva, piora na conversão alimentar, diminuição da taxa de crescimento e do ganho de peso. Este quadro somente é detectado com cuidados especiais ou através de um programa de análise de micotoxinas presentes na alimentação. Os sinais clínicos ainda podem ser confundidos com deficiências de manejo, outras doenças, inclusive as decorrentes desta micotoxicose ou com deficiências nutricionais.

## Principais micotoxinas de interesse na avicultura

Na **Tabela 1**, estão relacionadas as micotoxinas de maior impacto na produção avícola, bem como os fungos que as produzem e as condições que favorecem a formação destes compostos.

**Tabela 1** - Principais micotoxinas, fungos produtores, alimentos mais contaminados e condições de ocorrência na avicultura.

<b>Micotoxina</b>	<b>Fungos que mais produzem</b>	<b>Alimentos mais propensos à contaminação</b>	<b>Fator desencadeante da contaminação</b>
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>	Amendoim, castanhas, nozes, milho e cereais em geral	Armazenamento em condições inadequadas
Ácido Ciclopiazônico	<i>Aspergillus flavus</i>	Milho e amendoim	Armazenamento em condições inadequadas
Tricotecenos	<i>Fusarium sp.</i>	Milho e cereais de inverno	Temperatura baixa, alta umidade e problemas de armazenamento
Fumonisinias	<i>Fusarium sp.</i>	Milho e cereais de inverno	Estação seca seguida de alta umidade e temperaturas moderadas
Ocratoxina A	<i>Aspergillus alutaceus</i> e <i>Penicilium sp.</i>	Milho, café e grãos estocados	Deficiências no armazenamento

## Toxinas mais importantes no Brasil

A análise de micotoxinas no Brasil já se tornou uma prática rotineira. Muitas empresas avícolas realizam seus próprios controles nas matérias-primas através de programas de monitoramento. Os dados das análises de rotina realizadas pelo Lamic encontram-se na **Tabela 2**, mostrando a prevalência destes compostos na cadeia produtiva brasileira.

**Tabela 2** - Principais micotoxinas encontradas no Brasil.

Micotoxina	Amostras Analisadas	Positividade (%)	Média (ppb)
Aflatoxinas	91.161	40,3	11,2
Zearalenona	75.321	17,5	44,4
Ocratoxina A	21.082	2,7	0,5
Desoxinivalenol	18.472	37,3	216,4
Fumonisinias	18.346	53,0	1.049
Toxina T2	12.242	1,3	12,4
Diacetoxiscirpenol	1.057	5,7	6,7
3-DON	133	2,0	1,6
15-DON	120	3,1	1,6

Pelos resultados de contaminação e positividade apresentados na **Tabela 2**, podemos concluir que as micotoxinas de maior importância para a produção avícola no território brasileiro são as aflatoxinas, seguidas pelas fumonisinias e o desoxinivalenol. Para essas três micotoxinas, a positividade ultrapassa 47%, ou seja, pouco menos da metade de todos os alimentos analisados no Brasil apresentam contaminação por estas substâncias. Além disso, a contaminação média observada também é elevada, levando-se em consideração as doses máximas recomendadas para aves, descritas na **Tabela 3**.

**Tabela 3** - Limites de segurança de micotoxinas (ppb) recomendados para aves de produção.

	Afla	FB	DON	T-2	DAS
Frangos de Corte Fase Inicial	0	100	200	0	0
Frangos de Corte Fase Crescimento	2	500	500	50	200
Frangos de Corte Fase Final	5	500	1000	50	200
Poedeiras Comerciais	10	1000	1000	100	500
Matrizes	10	1000	1000	100	500

### Limites máximos de micotoxinas recomendados para aves de produção

Baseado nas informações da literatura, bem como nos experimentos in vivo realizados no

Laboratório de Análises Micotoxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria (LAMIC/UFSM) e na ocorrência das micotoxinas evidenciada nos últimos anos em mais de 100 mil amostras de matérias-primas e rações enviadas ao LAMIC, foram estabelecidas recomendações com relação aos limites de segurança de micotoxinas para aves de produção. Estes limites estão apresentados na [Tabela 3](#).

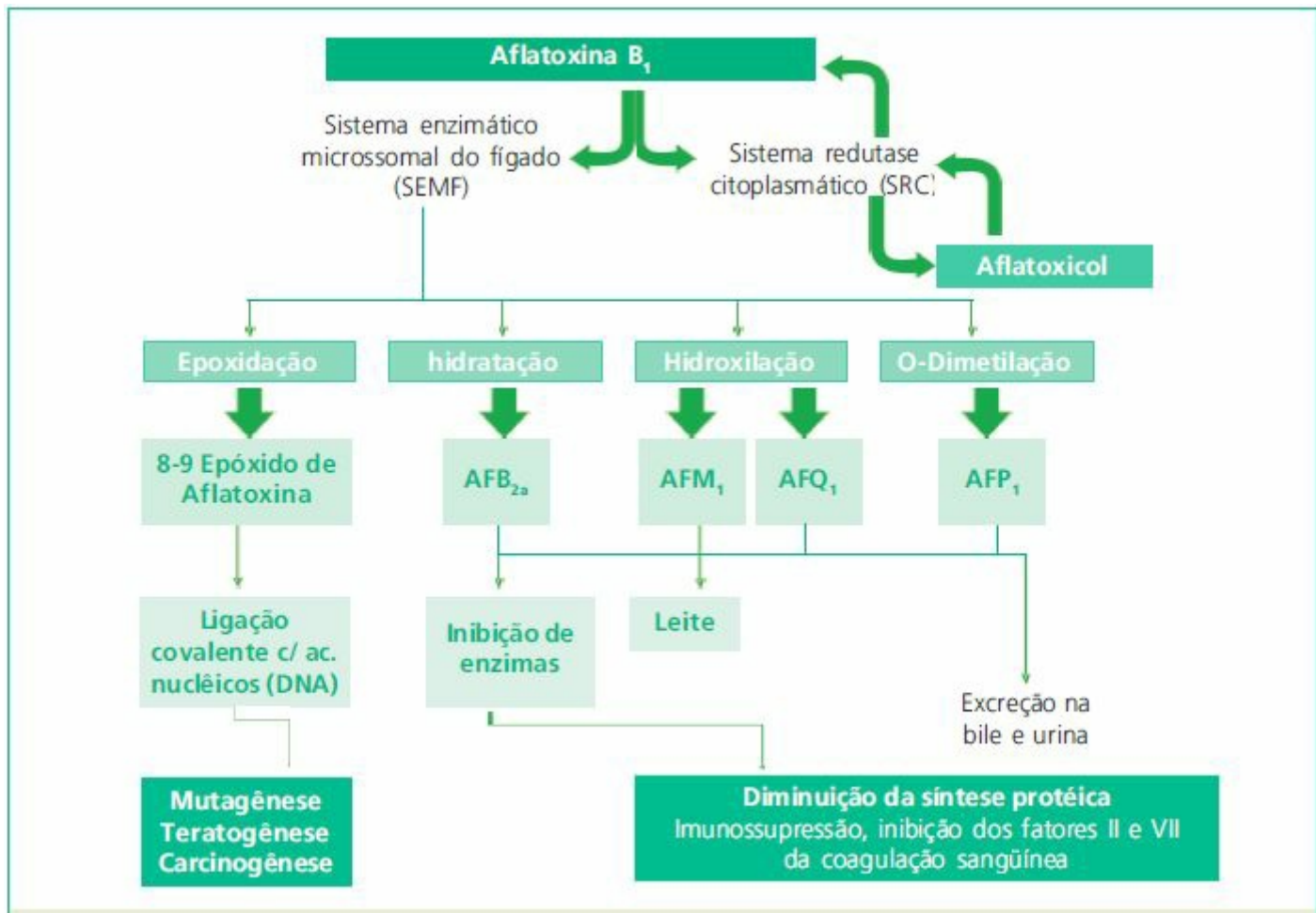
## Aflatoxinas

As aflatoxinas são metabólitos secundários, produzidos por fungos do gênero *Aspergillus*, sobretudo *A. flavus* e *A. parasiticus*. Foram descobertas na década de 1960, após provocarem um surto (Turkey X disease) com alta letalidade em perus na Inglaterra. Neste surto, milhares de aves morreram após consumirem ração contendo torta de amendoim. O principal fungo encontrado foi o *Aspergillus flavus*, dando o nome a essas toxinas.

### Mecanismo de ação das aflatoxinas

Depois de absorvidas, as aflatoxinas são distribuídas pelo organismo e podem ser encontradas nos músculos, rins e tecido adiposo. Entretanto, as maiores concentrações destas toxinas são encontradas no fígado. Nesse órgão ocorre a maior parte do processo de biotransformação das aflatoxinas pelas enzimas microsossomais do citocromo P-450. É sabido que as aflatoxinas são, na realidade, pró-carcinógenos, que necessitam ativação metabólica para manifestar seus efeitos tóxicos.

O sistema enzimático microsossomal hepático é responsável pela metabolização das aflatoxinas e, conseqüentemente, pela sua ativação no organismo. Este sistema, basicamente, possui quatro mecanismos: epoxidação, hidratação, hidroxilação e o-desmetilação ([Figura 2](#)).



**Figura 2** - Biotransformação da aflatoxina B1 e sítios de ação dos metabólitos produzidos.

Os processos de hidroxilação e o-desmetilação originam compostos que são excretados na bile e na urina, além da aflatoxina M1, que é eliminada no leite (mamíferos) e na gema (aves). O processo de hidratação tem como metabólito a aflatoxina B2a (AFB2a) que tem como principal ação a inibição de enzimas, tanto no fígado como em outros tecidos. No entanto, o processo mais danoso na metabolização da aflatoxina B1 é a epoxidação, que produz o 8, 9 epóxido de aflatoxina (ou AF-epóxido), sendo este o mais potente carcinógeno natural conhecido até o momento.

O composto formado pela epoxidação é altamente eletrofílico e capaz de reagir rapidamente, através de ligações covalentes, com sítios nucleofílicos de macromoléculas, como o ácido desoxirribonucléico (DNA), ácido ribonucléico (RNA) e proteínas. A ligação do composto AF-epóxido com o DNA modifica sua estrutura e a sua atividade biológica, originando os mecanismos básicos dos efeitos mutagênicos e carcinogênicos da aflatoxina. Esta ligação entre o composto formado e o DNA não é permanente, no entanto, quando desfeita, ocorre a retirada de um par de nucleotídeos do código genético. Para suprimir esta perda, um novo par é colocado no lugar. Entretanto, o par de bases suprimido da seqüência dificilmente é substituído pelo mesmo par, o que determina a ocorrência de uma mutação no código genético da célula.

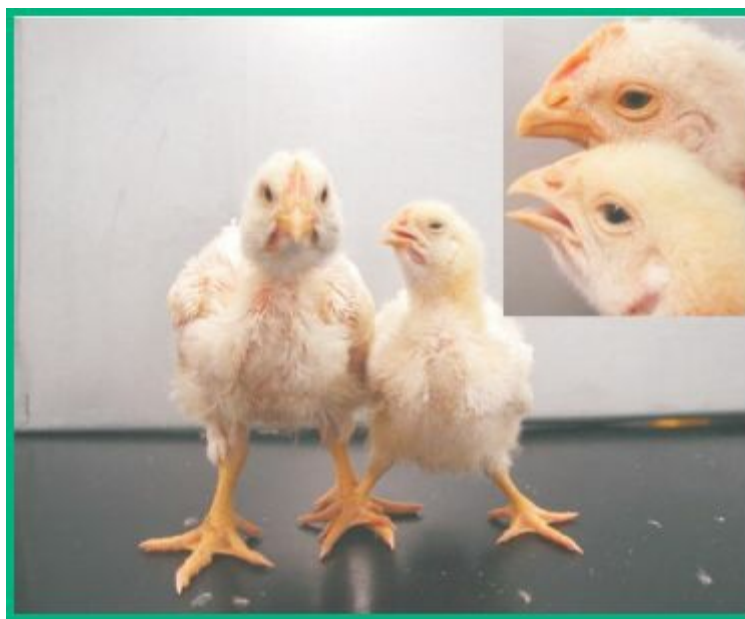
As reações a que o sistema enzimático microsossomal submete a aflatoxina são irreversíveis. Entretanto, o sistema redutase citoplasmático converte a aflatoxina em aflatoxicol, sendo que esta reação é reversível, tornando a reverter este composto em aflatoxina.

### Principais sinais clínicos e lesões observadas

A sensibilidade aos efeitos tóxicos das aflatoxinas varia consideravelmente entre as espécies animais. Mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie, a relação dose-resposta pode variar de acordo com raça, sexo, idade e composição da dieta, entre outros fatores. Para muitas espécies, os machos são mais susceptíveis do que as fêmeas, ao passo que, em geral, a sensibilidade é acentuadamente maior nos jovens do que nos adultos.

Em surtos de aflatoxicose crônica, uma das características mais marcantes é a má absorção de alimento que se manifesta pela presença de partículas de ração mal digeridas nas excretas das aves. Está associada com esteatorréia ou excreção aumentada de lipídeos. A esteatorréia presente na aflatoxicose pode ser severa, com incremento de até dez vezes no teor de gordura das fezes. Em frangos de corte, a esteatorréia é acompanhada por uma diminuição nas atividades específicas e totais da lipase pancreática, principal enzima digestiva das gorduras, e pela diminuição dos sais biliares, necessários tanto para a digestão como para a absorção de gorduras, levando a esteatose hepática (fígado gorduroso).

Palidez das mucosas e pernas também é observada em frangos e poedeiras que recebem ração contaminada com aflatoxinas (**Figura 3**). Essa pigmentação deficiente parece ser resultado da menor absorção, diminuição no transporte e deposição tecidual dos carotenóides da dieta.



**Figura 3** - Comparação entre frango de corte controle (à esquerda) e intoxicado com aflatoxinas (à direita). No detalhe, diferença de desenvolvimento de crista e coloração de bico (acima, ave controle; abaixo, ave intoxicada).

À necropsia, geralmente se observa um aumento no tamanho do fígado (peso relativo maior do que 3,0%), bem como alteração na sua coloração (amarelado; **Figura 4**), podendo haver a presença de hidropericárdio e/ou ascite. Em casos mais severos há palidez e congestão dos rins das aves intoxicadas.





**Figura 4** - Aspecto macroscópico de fígado de ave intoxicada com aflatoxinas.

### Efeitos das aflatoxinas em aves de postura

O diagnóstico dos distúrbios causados pelas aflatoxinas sobre a produção de ovos é possível somente após alguns dias ou semanas. A presença de folículos pré-ovulatórios, formados antes do consumo da micotoxina no trato reprodutivo das aves, justifica a resposta tardia. A diminuição da produção de ovos é precedida pela redução nos níveis sanguíneos de proteínas e lipídeos.

Poedeiras que consomem dieta contendo 5ppm de aflatoxinas durante quatro semanas, podem apresentar redução na produção de ovos a partir do oitavo dia, atingindo queda na produção na ordem de 35%, uma semana após a retirada da micotoxina da dieta.

Machos Leghorn com idade entre 11 e 14 semanas e entre 14 e 17 semanas, alimentados com ração contendo 20ppm de aflatoxinas, apresentam diminuição do peso corporal, fígado com aspecto amarelado e relação fígado:peso corporal aumentado em 38%. Os testículos dos animais intoxicados apresentam diminuição de peso de 23 a 36%, além de redução significativa dos níveis de testosterona.

Além de reduzir a produção de ovos, a aflatoxicose também induz à redução do tamanho dos ovos, bem como à redução proporcional no tamanho das gemas, devido aos prejuízos causados na síntese protéica e lipídica. Contudo, a deposição de cálcio na casca dos ovos por si só não é afetada. A resistência da casca aumenta quando as aves consomem aflatoxinas devido à redução na casca desses ovos não ter a mesma proporção da redução que ocorre na clara e gema. Este aumento da espessura da casca pode afetar a eclodibilidade pela redução nas trocas gasosas entre o embrião e o ambiente.

A mortalidade embrionária em ovos de matrizes intoxicadas com aflatoxinas ocorre pelo fato de que essas substâncias, após serem biotransformadas no fígado, têm como um dos principais metabólitos a aflatoxina M1 que é eliminada do organismo através da gema. Além disso, a própria aflatoxina B1 e o aflatoxicol também podem ser encontrados na gema, a partir de 24 horas após a ingestão das aflatoxinas.

Em casos de aflatoxicose, os picos de mortalidade embrionária ocorrem no terço final da

incubação, pois os metabólitos das aflatoxinas estão concentrados na gema, a qual é utilizada pelo embrião, como fonte energética, neste período do processo de incubação.

### Efeito das aflatoxinas sobre a produção de perus

Nos últimos anos, o Brasil tem obtido um considerável incremento na produção e exportação de carnes e subprodutos de aves, que não frangos. Nesse contexto, tem grande importância a produção de perus, que nos últimos sete anos (2000 a 2006) teve um incremento de 135%, conforme dados da UBA obtidos em 2007. Era universalmente conhecido o fato de que perus são mais sensíveis aos efeitos das aflatoxinas que frangos de corte, sem que, no entanto, se conhecesse o real impacto dessas micotoxinas no desenvolvimento dessas aves.

Conforme experimento realizado, durante os primeiros 42 dias, perus apresentam uma sensibilidade à intoxicação por aflatoxinas cerca de quatro a seis vezes maior do que frangos (**Figura 5**). Nesse estudo, os perus foram alimentados com dietas contendo de 0 a 1000ppb de aflatoxinas na ração (divididos em sete grupos), sendo que o grupo que recebeu a maior dose apresentou um ganho de peso cerca de 38% inferior ao grupo controle (**Tabela 4**). Outro dado importante é relacionado à mortalidade, que foi de 37%, enquanto que no grupo controle não houve mortalidade. A evolução do ganho de peso nos animais intoxicados nos diferentes grupos foi inversamente proporcional à dose de aflatoxinas presente na dieta ( $R = -0,84$  e  $P = 0,00$ ). Comparativamente, frangos de corte alimentados com 3000ppb de aflatoxinas, durante 42 dias apresentaram uma redução de 27% no ganho de peso.



**Figura 5** - Comparação entre peru de corte controle (à esquerda) e intoxicado com aflatoxinas (à direita).

**Tabela 4** - Peso médio (g) de perus de corte intoxicados com aflatoxinas em diferentes concentrações, durante 42 dias.

Aflatoxinas (ppb)	Peso 21 dias (CV%)	Peso 42 dias (CV%)
0	676,85 <sup>ab</sup> (7,3)	2.239,90 <sup>a</sup> (6,2)
20	686,65 <sup>a</sup> (8,2)	2.281,75 <sup>a</sup> (5,9)
50	696,55 <sup>a</sup> (6,5)	2.270,00 <sup>a</sup> (6,8)
100	671,31 <sup>ab</sup> (7,1)	2.253,54 <sup>a</sup> (5,1)
200	639,67 <sup>b</sup> (10,2)	2.092,05 <sup>b</sup> (7,3)
500	566,79 <sup>c</sup> (13,0)	1.916,09 <sup>c</sup> (10,0)
1000	414,25 <sup>d</sup> (12,1)	1.378,09 <sup>d</sup> (14,5)

<sup>a-d</sup> Médias nas colunas com letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Bonferroni ( $P \leq 0,05$ ); Adaptado de Rauber *et al.*, 2007.

### Impacto das aflatoxinas no desempenho de diferentes linhagens de frangos de corte

Existem diferentes graus de susceptibilidade individual entre animais da mesma espécie e mesmo sexo, frente à intoxicação por aflatoxinas, além de uma diferença de susceptibilidade de frangos de corte às aflatoxinas conforme a idade dessas aves, indicando que aves mais

jovens sofrem maiores danos no seu desenvolvimento em comparação às aves mais velhas. Entre as três principais linhagens de frangos de corte utilizadas no Brasil há diferença de desempenho, quando são alimentadas com ração contaminada com aflatoxinas (**Tabela 5**).

**Tabela 5** - Diminuição relativa de peso (DRP) de frangos de corte de três linhagens comerciais (X, Y e Z), intoxicados com 3ppm de aflatoxinas, de 1 a 42 dias de idade.

Lin <sup>1</sup>	7 dias		14 dias		21 dias		28 dias		35 dias		42 dias	
	DRP <sup>2,3</sup>	CV <sup>4</sup>	DRP <sup>2,3</sup>	CV <sup>4</sup>	DRP <sup>2,3</sup>	CV <sup>4</sup>	DRP <sup>2,3</sup>	CV <sup>4</sup>	DRP <sup>2,3</sup>	CV <sup>4</sup>	DRP <sup>2,3</sup>	CV <sup>4</sup>
X			2,5 <sup>a</sup>	10,1	19,6 <sup>ab</sup>	15,0	27,3 <sup>ab</sup>	15,5	24,3 <sup>b</sup>	13,0	23,0 <sup>b</sup>	12,8
	19,8 <sup>b</sup>	12,8		Y	4,3 <sup>a</sup>	12,6	22,4 <sup>a</sup>	17,5	29,8 <sup>a</sup>	19,0	29,5 <sup>a</sup>	19,1
	27,9 <sup>a</sup>	18,2	24,7 <sup>a</sup>	17,1		Z	3,7 <sup>a</sup>	8,0	17,4 <sup>b</sup>	9,7	25,8 <sup>b</sup>	10,5
	25,8 <sup>b</sup>	12,6	21,3 <sup>b</sup>	11,7	19,8 <sup>b</sup>	10,7						

<sup>1</sup>Lin= Linhagem utilizada. <sup>2</sup>DRP= Diminuição Relativa de Peso (%), diferença de peso entre os animais intoxicados e não intoxicados da mesma linhagem. <sup>3</sup>Médias na mesma coluna, com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (Pd≤0,05). <sup>4</sup>CV= Coeficiente de Variação referente aos pesos absolutos das aves intoxicadas (%).

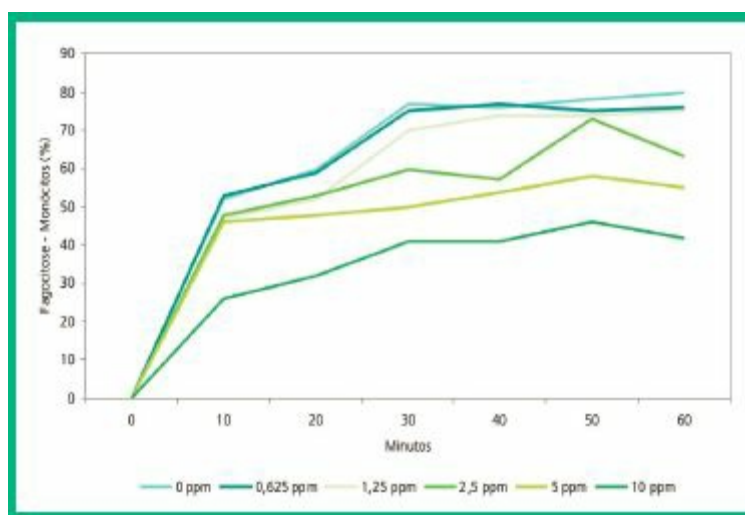
A linhagem Y, a partir de 14 dias, seguindo até os 42, apresenta diminuição relativa de peso, significativamente superior a pelo menos uma das outras linhagens utilizadas neste experimento. Além das diferenças nas perdas, outro dado importante é o coeficiente de variação (CV) dos pesos das aves nos grupos intoxicados, sendo que a linhagem Y apresentou o maior CV entre as linhagens avaliadas, em todos os períodos. Esse resultado indica que lotes de aves dessa linhagem apresentam menor uniformidade, quando alimentados com dietas contendo aflatoxinas, sendo esta uma variável de importância econômica significativa no setor avícola.

### Efeitos das aflatoxinas sobre empenamento em frangos de corte

Frangos de corte alimentados com ração contendo 3ppm de aflatoxinas durante 42 dias, apresentam como principais sinais de intoxicação, aglomeração, falta de uniformidade, prostração, redução de consumo, apatia, palidez de crista, barbela e patas. As aves intoxicadas apresentam consumo de ração inferior em todo o período. Essa tendência também é observada no ganho de peso das aves, sendo cerca de 27% inferior às aves não intoxicadas. As aflatoxinas influenciam significativamente a massa das penas nos animais intoxicados. Após 42 dias de intoxicação, as aves do grupo controle apresentam um peso médio das penas de 58g, sendo que nos animais intoxicados, a massa ficou reduzida em 34% (39g). Esse dado não pode ser desconsiderado, pois um grande percentual de condenações de carcaças nos abatedouros ocorre em virtude de arranhões, cortes e hematomas, muitas vezes em função do empenamento deficiente das aves.

## Efeito das aflatoxinas sobre a imunidade de frangos

As aflatoxinas são potentes agentes imunossupressores, principalmente em aves jovens, suprimindo diferentes mecanismos da resposta imune, inclusive reduzindo o tamanho de órgãos linfóides, como bursa de Fabrício e timo. Existem muitas explicações a respeito dos mecanismos imunossupressores das aflatoxinas, entre eles a habilidade de inibir a RNA polimerase in vivo e conseqüentemente limitar a síntese protéica, resultando em inibição da síntese de imunoglobulinas. As aflatoxinas causam um rápido aumento na atividade de enzimas lisossomais nos músculos esqueléticos e no fígado de aves, estimulando a degradação lisossomal de imunoglobulinas. Também ocorre inibição do processamento de antígenos, como conseqüência da inibição de células fagocíticas do sistema retículo endotelial presentes em diversos órgãos e tecidos. Níveis de aflatoxinas entre 5 e 10ppm diminuem significativamente a porcentagem de atividade fagocítica de monócitos, reduzindo esse parâmetro em 30% quando comparado ao grupo controle (**Figura 6**). As propriedades do sistema fagocítico mononuclear são diminuídas durante aflatoxicose, tanto os macrófagos maduros, quanto seus precursores, monócitos imaturos são afetados. A regressão da bursa de Fabrício e a supressão do processo de hemaglutinação ocorrem em concentrações inferiores as que causariam inibição do crescimento das aves, indicando que falhas vacinais e mesmo infecções secundárias podem ocorrer antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos de aflatoxicose.



**Figura 6** - Percentual de atividade fagocítica pelos monócitos de frangos alimentados com dietas contendo aflatoxinas.

As aflatoxinas têm demonstrado capacidade de aumentar a susceptibilidade de aves a salmonelose, aspergilose, coccidiose e marek, devido à imunodepressão que primeiramente envolve o sistema imune mediado por células.

## Ácido Ciclopiazônico

Além de produzirem as aflatoxinas, algumas cepas de *Aspergillus flavus* produzem também o ácido ciclopiazônico (CPA). Este tem sido associado a alguns sinais clínicos apresentados pelas aves no primeiro quadro de aflatoxicose descrito (Turkey X disease). Não obstante disso, análises das amostras daquele episódio indicaram a presença desta micotoxina. O CPA ocorre naturalmente no milho e amendoim e, geralmente, sua presença está associada à presença das aflatoxinas.

Os principais sinais clínicos da intoxicação por CPA incluem diminuição no ganho de peso, vômito e sinais neurológicos (opistótono, hiperestesia e convulsão) sendo, geralmente, fatal. Lesões incluem degeneração e necrose hepática, lesões hemorrágicas no miocárdio, proventrículo, moela e baço. Dentre as lesões citadas, a mais marcante é a presença de erosões na moela das aves intoxicadas ([Figura 7](#)).



**Figura 7** - Erosões na moela, ocasionadas pela intoxicação com ácido ciclopiazônico em frangos de corte.

## Tricotecenos

As principais micotoxinas do grupo dos tricotecenos compreendem a toxina T-2, Desoxinivalenol (DON ou vomitoxina) e Diacetoxiscirpenol (DAS), produzidas por fungos de diversos gêneros, principalmente do gênero *Fusarium*.

Intoxicações crônicas envolvendo toxina T-2 ou DAS induzem redução no consumo de ração e ganho de peso, lesões orais, necrose dos tecidos linfóide, hematopoiético e mucosa oral, com eventuais distúrbios nervosos (posição anormal das asas e diminuição de reflexos), empenamento anormal e diminuição na espessura da casca de ovos. Particularmente em poedeiras, as lesões orais ocorrem em aproximadamente 50% dos lotes quando essas aves são alimentadas com ração contendo toxina T-2. Além disso, esta toxina apresenta alta toxicidade para macrófagos de frangos, inibindo a sua capacidade fagocitária. Essa toxina também induz a formação de peróxidos a partir dos lipídeos, tendo como consequência a diminuição da concentração de vitamina E nas aves.

Outras aves, como perus e gansos, são mais sensíveis à toxina T-2 que frangos de corte. Em gansos, a partir de 0,1mg/kg de peso vivo ocorre a queda na produção de ovos e os níveis de postura e eclodibilidade diminuem em 50%, quando são administrados 300mg de toxina T-2/ kg de peso vivo nesta espécie.

As micotoxinas T-2 e DAS induzem lesões orais em frangos de corte ([Figura 8](#)) quando presentes em níveis a partir de 250 e 60ppb na ração, respectivamente. As aves apresentam lesões orais no bico e língua, a partir de 23 dias de intoxicação.



**Figura 8** - Aspecto macroscópico (A) e microscópico (B) de lesão oral causada pela intoxicação por DAS e T-2 em frangos de corte.

As lesões orais decorrentes da intoxicação por DAS se traduzem em necrose da ponta da língua, geralmente em matrizes e poedeiras comerciais. No entanto, essas lesões também podem ocorrer em frangos de corte. Por outro lado, as lesões encontradas em casos de intoxicação pela toxina T-2, comumente são erosões ou ulcerações principalmente na base da língua, no palato e na comissura do bico das aves intoxicadas. Essas lesões podem ser encontradas tanto em aves poedeiras (matrizes de corte e comerciais), quanto em frangos de corte e inicialmente se apresentam como degeneração hidrópica do tecido.

Ração contaminada com DAS causa decréscimo na produção de ovos, coincidindo com queda no consumo de ração e aparecimento de lesões orais, sendo tal resultado mais significativo em linhagens leves, persistindo por até duas semanas após o término da ingestão da toxina, sugerindo que um período de reposição nutricional é requerido para recuperação da ave. A diminuição do consumo de ração pode ser relacionada às lesões orais causadas pela toxina, sendo encontradas tanto em machos quanto em fêmeas, e sua presença rapidamente detectada pelas aves, ocasionando aumento no tempo de consumo em matrizes. Queda no consumo de ração também pode ser encontrada em contaminações por toxina T-2.

Os efeitos dos tricotecenos sobre frangos e matrizes incluem recusa súbita de ração, perda de peso e lesões orais, queda na produção de ovos e diminuição da qualidade da casca, com aumento nos percentuais de mortalidade embrionária e queda de eclosão. Machos também são afetados por rações contaminadas por tricotecenos, havendo queda de fertilidade e diminuição no volume espermático.

Estudos realizados com Desoxinivalenol (DON), entretanto, têm esclarecido que, com exceção de um decréscimo transitório nos níveis de hemoglobina, ou um leve efeito na qualidade do ovo, não há evidência significativa de que essa toxina afete o desempenho de aves, sendo capazes de tolerar concentrações relativamente altas de DON na dieta.

A rápida proliferação de células do sistema imune é fortemente afetada pelos tricotecenos devido à inibição da síntese protéica. Matrizes de corte com 26 semanas de idade foram intoxicadas com 13ppm de DON durante 12 semanas e vacinadas com uma vacina inativada contra o Vírus da Bronquite Infecciosa (IBV). Foi observado um decréscimo dos títulos de anticorpos nas aves

intoxicadas em todas as sorologias realizadas (4, 8 e 12 semanas após a vacinação), conforme [Tabela 6](#).

<b>Tabela 6</b> - Efeito da intoxicação por DON sobre os títulos contra o Vírus da Bronquite Infecciosa em matrizes de corte vacinadas às 26 semanas de idade.			
<b>Micotoxina</b>	<b>4ª semana</b>	<b>8ª semana</b>	<b>12ª semana</b>
	<b>pós-vacinação</b>		
Controle	10.332	11.877	12.653
Intoxicado	8.706	6.065	8.012
Adaptado de Yegani <i>et al.</i> (2006).			

Os tricotecenos geralmente não induzem aumento de mortalidade em aves que não sejam frangos, requerendo níveis de várias centenas de partes por milhão para resultar em mortalidade significativa. De forma semelhante, em surtos de toxicose atribuídos à toxina T-2 que afetaram patos domésticos, gansos, eqüinos e suínos, somente houve mortalidade em gansos, sugerindo uma grande sensibilidade dessas aves.

## **Fumonisin**

As fumonisin, um grupo de dezenas de micotoxinas, são produzidas por fungos dos gêneros *Alternaria* e *Fusarium*, principalmente pelo *F. moniliforme*. As fumonisin de maior ocorrência e importância toxicológica são B1 e B2.

Os níveis de contaminação no milho de diferentes partes do mundo estão, normalmente abaixo de 5ppm e cerca de dois terços das amostras analisadas estão contaminadas. As análises realizadas nos últimos 11 anos no LAMIC (1996 – 2007) constata que cerca de 59% das amostras de milho e 55% das amostras de ração estão contaminadas por fumonisin.

Alguns trabalhos indicam que os níveis tóxicos de fumonisin estão acima de 80ppm. Outros pesquisadores realizaram experimentos com doses mais altas de fumonisin (61 a 546ppm) e encontraram efeitos nocivos dessa toxina sobre o desempenho de frangos de corte. No entanto, estudos conduzidos pelo LAMIC comprovaram que doses inferiores a 50ppm de fumonisin B1 impactam negativamente no peso de frangos de corte até 21 dias, representando perdas de 4%. Níveis de 100ppm determinaram perdas de 12 a 21% no ganho de peso aos 21 dias. Essas perdas, no campo, podem ser ainda maiores, uma vez que em condições experimentais o efeito das

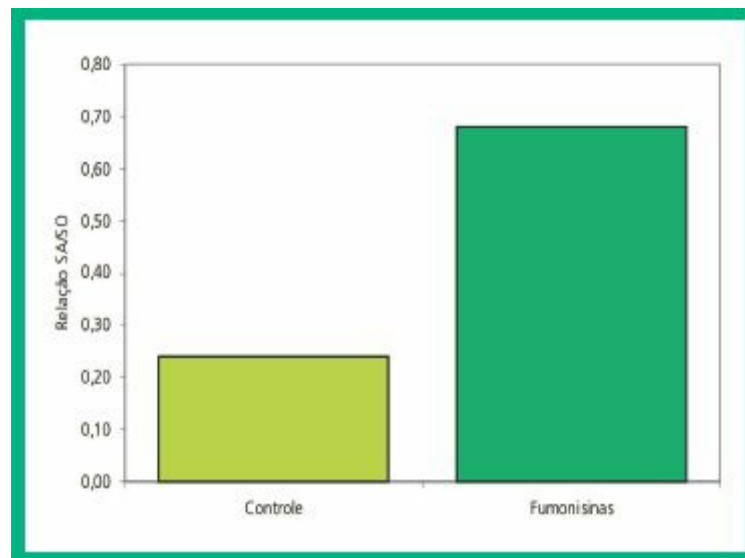


micotoxinas é, geralmente, atenuado pela eliminação de fatores estressantes além do fato de que, no campo, os animais podem estar submetidos a dietas deficientes e/ou com contaminação por outras micotoxinas.

Outro fator importante a ser considerado, no que se refere às fumonisinas, é o fato de que os fungos que produzem essas micotoxinas produzem uma série de outros compostos tóxicos. Essas substâncias podem estar presentes na alimentação das aves e determinar perdas de desempenho ainda mais significativas.

Nas aves intoxicadas por fumonisinas, os sinais clínicos geralmente incluem: menor ganho de peso, mortalidade, diarreia, ascite, hidropericardite e palidez do miocárdio, edema e congestão renal, ulceração na mucosa oral em perus, aumento no peso relativo do fígado, proventrículo e moela.

A intoxicação com fumonisinas pode ser monitorada por meio de parâmetros sanguíneos. Ocorre alteração na relação entre os níveis circulantes de esfingosina e esfinganina, que são precursores dos esfingolipídios, quando da intoxicação com fumonisinas (**Figura 9**).



**Figura 9** - Relação esfinganina/esfingosina (SA/SO) de frangos de corte intoxicados com fumonisinas, durante 20 dias.

## Ocratoxina A

A Ocratoxina A (OTA) foi originalmente isolada como um metabólito tóxico de *Aspergillus ochraceus*. Entretanto, esta micotoxina é produzida por seis espécies adicionais de *Aspergillus* e um igual número de espécies de *Penicillium*. Esta micotoxina, em frangos, é primeiramente uma nefrotóxica. Durante um quadro de ocratoxicose, o rim aumenta de tamanho e perde a cor pela acumulação de ácido úrico.

Estudos com frangos alimentados com ração contaminada com aflatoxina, OTA, e ambas, demonstraram o efeito sinérgico das mesmas, sendo que o peso corporal foi significativamente inferior nas aves alimentadas com ambas micotoxinas entre duas a três semanas de idade. As micotoxinas individualmente diminuíram o ganho de peso em 12% cada, enquanto a combinação

diminuiu em 40% o ganho de peso.

Interações sinérgicas entre aflatoxina e OTA, entre OTA e toxina T-2 e uma interação antagônica entre OTA e DAS foram observadas em estudos com frangos de corte.

A toxicidade da OTA foi expressa em redução do ganho de peso e alterações no peso relativo de pâncreas, rim, proventrículo e na bioquímica sérica, ao final da segunda semana de um experimento com OTA e CPA. A redução do ganho de peso foi de 19,3% em relação ao grupo controle quando as aves foram alimentadas com ração contendo apenas OTA e de 17,6% quando contaminada com CPA. A interação entre OTA e CPA causou diminuição de 31% no ganho de peso.

Neste mesmo estudo, a OTA causou aumento no peso relativo do rim, o CPA causou aumento no peso relativo do proventrículo, enquanto a interação OTA e CPA causou aumento no peso relativo do proventrículo, pâncreas, rim e fígado.

Efeitos deletérios nos rins são observados como resultado da ação nefrotóxica da OTA. Os principais são degeneração e alterações estruturais no epitélio tubular renal com efeitos mais severos ocorrendo nos túbulos proximais. A OTA aumenta o ácido úrico sérico e triglicerídios, mas reduz a proteína total, albumina e a concentração de colesterol, sugerindo que a baixa concentração de proteína pode ocorrer devido à redução da síntese protéica hepática.

Frangos alimentados com ração contaminada com fumonisina B1 (FB1) e OTA apresentam redução no ganho de peso ao final da primeira e segunda semana de vida quando comparados a frangos alimentados com a dieta controle. O peso relativo do fígado aumenta significativamente e o peso do baço diminui tanto quando os frangos são alimentados com FB1, OTA ou a combinação de ambas. A concentração sérica de triglicerídios aumenta quando os frangos são alimentados com OTA na dieta. A ocorrência de intoxicação por OTA causa redução da produção de ovos e piora na qualidade da casca em poedeiras.

## Bibliografia

Bermudez AJ. *et al.* The chronic effects of *Fusarium moniliforme* culture material containing known levels of fumonisin B1 in turkeys. *Avian Disease* 1996; 40:231-235.

Blankford MB, Ottinger MA, Doerr JA. Aflatoxicosis in maturing leghorn males. ***Poultry Science*** 1981; 60:1625-626.

Brake J, Hamilton PB, Kittrell RS. Effects of the Tricothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol on egg production of broiler breeders. ***Poultry Science*** 2002; 81:1807-1810.

Brake J, Hamilton PB, Kittrell RS. Effects of the tricothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol on fertility and hatchability of broiler breeders. ***Poultry Science*** 1999; 78:1690-1694.

CAST. Council for Agricultural Science and Technology. *Micotoxins: economic and Health Risks* [report, 116]. Ames; 1989.

Chang CF, Hamilton PB. Impairment of phagocytosis in chicken monocytes during aflatoxicosis. **Poultry Science** 1979; 58:562-566.

Dilkin P. *et al.* Robotic automated clean-up for detection of fumonisins B1 and B2 in corn and corn-based feed by high- performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 2001; 925(1-2):151-157.

Doerr JA. *et al.* Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. **Poultry Science** 1983; 62:1971-1977.

Exarchos CC, Gentry RF. Effects of aflatoxin B1 on egg production. **Avian Diseases** 1982; 26:191-195.

Gentles A. *et al.* Toxicological evaluations of cyclopiazonic acid and ochratoxin A in broilers. **Poultry Science** 1999; 78:1380-1384.

Giacomini LZ. *et al.* Desempenho e plumagem de frangos de corte intoxicados por aflatoxinas. *Ciência Rural* 2006; 36(1):234-239.

Giambrone JJ. *et al.* Effects of purified aflatoxin on broiler chickens. **Poultry Science** 1985; 64:852-858.

Giambrone JJ. *et al.* Effects of purified aflatoxin on turkeys. **Poultry Science** 1985; 64:859-865.

Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. *Diseases of Poultry*. 11th ed. Iowa: Iowa State Press; 2003. p.1103-1132.

Hamilton PB. *et al.* Natural occurrences of ochratoxicosis in poultry. **Poultry Science** 1982; 61:1832-1841.

Hoerr FJ. Mycotoxicoses. In: Saif YM. *et al.* *Diseases of poultry*. 11th ed. Iowa : Iowa State Press; 2003. p.1103-1132.

Huff WE, Doerr JA. Synergism between aflatoxin and ochratoxin A in broiler chickens. **Poultry Science** 1981; 60:550-555.

Huff WE. *et al.* Individual and combined effects of aflatoxin and ochratoxin A on bruising in broiler chickens. *Poultry Science* 1983; 62:1764-1771.

Huff WE. *et al.* Toxin synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. **Poultry Science** 1988; 67:1418-1423.

Kubena LF. *et al.* Individual and combined effects of fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. **Poultry Science** 1987; 76:1239-1247.

Kubena LF. *et al.* Influence of ochratoxin A and diacetoxyscirpenol single and in combination on broiler chickens. **Poultry Science** 1994; 73:408-415.

- Kubena LF. *et al.* Individual and combined effects of fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and diacetoxyscirpenol or ochratoxin A in turkey poults. **Poultry Science** 1997; 76:256-264.
- Kuilman-Wahls MEM. *et al.* Cyclopiazonic acid inhibits mutagenic action of aflatoxin B1. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2002; 11:207-212.
- Leeson S, Diaz G, Summers JD. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins.* Guelph: University Books; 1995.
- Mallmann CA. *et al.* Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. Anais da Conferência APINCO 2006 de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2006 maio 3-5; Santos, São Paulo. Brasil. p. 213-224.
- Mallmann CA. *et al.* Interferência das micotoxinas na produção avícola. Anais da Conferência APINCO 2007 de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2007; Santos, SP. Brasil. p. 351-363.
- Mallmann CA. *et al.* Fumonisin B1 in cereals and feeds from southern Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico* 2001; 68(1):41-45.
- Mariani GVC. Desempenho produtivo de frangos de corte submetido à intoxicação experimental com aflatoxinas em diferentes idades [dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 1998.
- Michael GY, Thaxton P, Hamilton PB. Impairment of the reticuloendothelial system of chickens during aflatoxicosis. **Poultry Science** 1973; 52:1206-1207.
- OMS - Organización Mundial De La Salud. Critérios de salud ambiental: micotoxinas. 11th ed. México: OMS; 1983. 131 p.
- Rauber RH. *et al.* Performance of turkey poults fed different doses of aflatoxins in the diet. **Poultry Science** 2007; 86:1620-1624.
- Rodriguez-Amaya DB, Sabino M. Mycotoxin research in Brazil: the last decade in review. *Brazilian Journal of Microbiology* 2002; 33(1):1-11.
- Rosa AP. *et al.* Desempenho produtivo de matrizes de corte submetidas a intoxicação por aflatoxinas e deoxinivalenol (DON). *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2001; sup. 3:73.
- Thaxton JP, Tung HT, Hamilton PB. Immunosuppression in chickens by aflatoxin. **Poultry Science** 1974; 53:721-725.
- UBA. Relatório Anual 2006/2007. União Brasileira de Avicultura; 2007. 82p.
- Weibking TS. *et al.* Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisins B1, on the young broiler chick. *Poultry Science* 1993; 72:456-466.
- Yegani M, Smith TK, Leeson S, Boermans J. Effects of feeding grains naturally contaminated with

Fusarium Mycotoxins on performance and metabolism of broiler breeders. **Poultry Science** 2006; 85:1541-1549.

<b>7.1 - Coccidiose</b>	<b>837</b>
<i>Urara Kawazoe</i>	
<b>7.2 - Crisptosporidiose</b>	<b>859</b>
<i>Urara Kawazoe</i>	
<b>7.3 - Ectoparasitas e outros artrópodes importantes para a indústria avícola brasileira</b>	<b>867</b>
<i>José Henrique Guimarães, Andreia Mauruto Chernaki Leffer</i>	
<b>7.4 - Endoparasitoses em aves de produção industrial</b>	<b>909</b>
<i>Giane Serafim da Silva, Alexandre Teixeira Zocche</i>	

<b>Introdução</b>	<b>837</b>
<b>Histórico</b>	<b>837</b>
<b>Distribuição geográfica</b>	<b>838</b>
<b>Etiologia</b>	<b>838</b>
<i>Taxonomia</i>	838
<i>Ciclo de vida</i>	839
<b>Patogenia e sinais clínicos</b>	<b>841</b>
<i>Eimeria acervulina</i> Tyzzer, 1929	843
<i>Eimeria mitis</i> Tyzzer, 1928	843
<i>Eimeria praecox</i> Johnson, 1930	843
<i>Eimeria necatrix</i> Johnson, 1930	843
<i>Eimeria maxima</i> Tyzzer, 1929	843
<i>Eimeria brunetti</i> Levine, 1942	843
<i>Eimeria tenella</i> (Railliet & Lucet, 1891) Fantham 1909	843
<b>Imunidade</b>	<b>845</b>
<i>Relação parasita – hospedeiro</i>	845

<i>Parasito</i>	846
<i>Hospedeiro</i>	846
<i>Mecanismos de imunidade protetora adquirida</i>	846
<i>Imunidade humoral</i>	846
<i>Mecanismos imunes mediados por células</i>	847
<i>Papel das células T e citocinas</i>	847
<i>Papel das células NK</i>	848
<i>Papel dos macrófagos</i>	848
<i>Inflamação</i>	848
<b>Epizootia</b>	<b>848</b>
<i>Fatores do ambiente</i>	848
<i>Oocistos</i>	849
<i>Potencial reprodutivo e diversidade antigênica</i>	849
<b>Diagnóstico</b>	<b>849</b>
<b>Prevenção e controle</b>	<b>850</b>
<i>Manejo</i>	850
<i>Uso de medicamentos</i>	850
<i>Imunidade</i>	851



<i>Vacinação</i>	852
<i>Desvantagens no uso das vacinas virulentas</i>	852
<b>Perspectivas futuras</b>	<b>853</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>854</b>

## Urara Kawazoe

### Introdução

A coccidiose aviária, causada por protozoários das espécies do gênero *Eimeria*, constitui-se numa das doenças infecciosas de maior importância econômica na avicultura industrial, tanto em granjas de frangos de corte, como em granjas de reprodutoras, apesar dos medicamentos anticoccidianos disponíveis no mercado. O advento de diversas drogas anticoccidianas no mercado mundial reduziu bastante a mortalidade das aves. Entretanto, perdas econômicas devido à morbidade persistem até hoje, em decorrência da má administração desses medicamentos e a ocorrência de resistência parcial ou total desses medicamentos preventivos nos isolados de *Eimeria* spp. presentes nas granjas; do manejo inadequado nos locais de criação e do uso inadequado de vacinas vivas virulentas e atenuadas. Como consequência, ocorre a redução no ganho de peso e o aumento na conversão alimentar, principais parâmetros utilizados no controle de qualidade das aves. Alternativas para o controle vêm sendo introduzidas nas granjas como uso de vacinas vivas atenuadas, uso de anticoccidianos em desuso há alguns anos nas granjas comerciais.

Perdas econômicas em consequência da coccidiose aviária mundialmente foram estimadas em aproximadamente 1,5 bilhão de dólares anuais, incluindo-se os custos de medicamentos anticoccidianos (1997). Em 1991, a perda econômica devida a coccidiose foi estimada em 13 milhões de dólares, se a coccidiose estivesse na casa de 10 % e em 1993 foi estimada em 30 milhões de dólares, no Brasil.

### Histórico

No século passado, as espécies de coccidia apresentando oocistos tetrasporocísticos, encontradas em diversas espécies de aves, eram conhecidas genericamente por *Eimeria avium*. Esse nome foi creditado a Rivolta e Sivestrini (1873). Railliet & Lucet (1891) descreveram *Coccidium tenellum*, designada *Eimeria tenella*, em 1909, por FANTTAM, à espécie parasito de pintos, causadora de doença no ceco, baseando as espécies nas medidas dos oocistos e em infecção experimental em pintos normais. Esta espécie havia sido previamente descrita por Rivolta e subsequentemente descrita em detalhe por Gérard (1913). Johnson (1924) tinha sugerido, com base na diferença da forma dos oocistos, que *Eimeria* encontrada em peru eram espécies distintas das encontradas em pintos.

Coube a Tyzzer, num artigo detalhado publicado em 1929, o esclarecimento sobre as diferentes espécies de *Eimeria* encontradas em galinhas domésticas e perus. Nesse artigo, Tyzzer descreveu três novas espécies aviárias: *Eimeria acervulina*, *E. maxima* e *E. mitis*. No ano seguinte, Johnson descreveu duas outras espécies: *E. necatrix* e *E. praecox*. Em 1938, Levine descreveu uma nova espécie aviária denominando-o *E. hagani*, isolado originalmente de um pinto no Estado de Nova

York, EUA. Esta espécie desapareceu do local inicialmente isolado, sendo considerado por alguns pesquisadores britânicos como sub-espécie de *E. acervulina*. Apesar de Edgar e Fitz-Coy (1986) considerarem esta espécie como válida, há controvérsia em relação a validade desta espécie na atualidade, pelo fato da completa descrição desta espécie em comparação com outras espécies aviárias, não estar disponível. Em 1942, Levine descreveu outra espécie aviária que denominou *E. brunetti*.

Mais recentemente, em 1964, Edgar e Siebold descrevem a espécie *E. mivati*. Trabalho realizado por Shirley (1979) usando método de eletroforese enzimática para identificação mais precisa das espécies de *Eimeria* aviária, e utilizando teste de imunidade cruzada demonstrou que, na realidade, *E. mivati* seria uma amostra mista onde estavam presentes as espécies *E. mitis* e *E. acervulina*. Os autores que descreveram a espécie discordam até hoje, dessa explanação.

## Distribuição geográfica

São poucos os levantamentos realizados sobre a prevalência da coccidiose no Brasil. Na década de 1970, foram identificadas, após a necropsia das galinhas, as seguintes espécies: *E. acervulina* (36%), *E. maxima* (7%), *E. necatrix* (5%), *E. tenella* (3%) e infecção mista (49%) com espécies de *Eimeria* dos tipos *acervulina*, *tenella*, *brunetti* e *maxima*, em frangos de corte. Mais recentemente, na década de 1990, foram relatados oocistos das seguintes espécies de *Eimeria*, em três granjas de frangos de corte no Estado de São Paulo: *E. praecox*, *E. acervulina*, *E. mitis*, *E. tenella* e *E. maxima*. Relatos sobre coccidiose aviária obtidos em empresas avícolas brasileiras em 1993, apontaram um índice variando entre 8 a 15%.

Apesar desses levantamentos, sabe-se que a coccidiose está presente em todas as granjas comerciais, tanto de frango de corte como de matrizes e reprodutoras pesadas, em nível variado, de acordo com o uso dos programas de controle anticoccidiano ou de vacinas vivas virulentas ou atenuadas. Antes da introdução dessas vacinas vivas, as espécies existentes nas granjas estavam restritas às espécies autóctones locais. As espécies mais freqüentes causadoras de perdas econômicas são *E. acervulina* e *E. maxima*, além da presença de espécies não patogênicas como *E. mitis* e *E. praecox*, em granjas de frango de corte. Eventualmente, ocorrem surtos devido à presença de *E. tenella*, e menos freqüentemente *E. necatrix*, principalmente em matrizes e reprodutoras pesadas. Com o uso constante de vacinas vivas contendo todas as espécies de *Eimeria* ou as principais espécies como *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella*, essas espécies tem sido introduzidas sistematicamente nas granjas. O uso indiscriminado e inadequado dessas vacinas tem causado surto de coccidiose, como consequência da presença dessas espécies em algumas granjas. Deste modo, torna-se difícil falar em distribuição natural das espécies de *Eimeria*, nas granjas comerciais. Entretanto, algumas amostras de fezes coletadas de galinhas caipira, vivendo soltas em fazendas ou sítios, têm demonstrado a presença das principais espécies de *Eimeria* como *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. mitis* e *E. praecox*.

## Etiologia

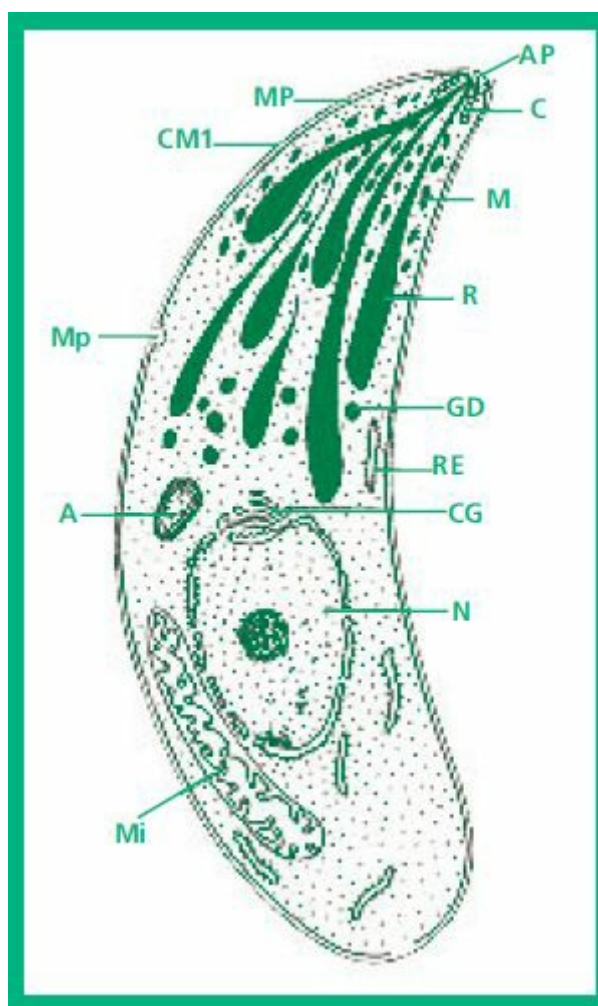
**O Parasita:** classificação, estruturas e ciclo de vida

A coccidiose aviária é causada por protozoários do gênero *Eimeria* que vivem intracelularmente ao longo do epitélio intestinal das galinhas. Outra espécie presente nas galinhas, pertencente a este mesmo grupo, *Cryptosporidium bailey*, parasita as células superficiais da traquéia, do epitélio intestinal e do rim. Espécies dos gêneros *Eimeria* e *Cryptosporidium* estão relacionadas com espécies de outros gêneros do grupo dos COCCIDIA onde se encontram importantes parasitos de animais e seres humanos (*Toxoplasma gondii*, *Isospora* spp., *Sarcocystis* spp., os plasmodios causadores da malária humana, etc).

## Taxonomia

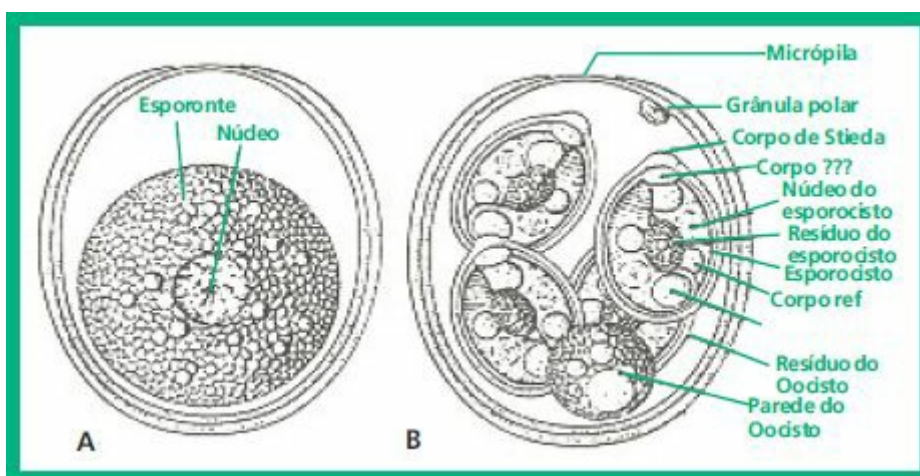
As espécies dos gêneros *Eimeria* e *Cryptosporidium* pertencem ao Filo APICOMPLEXA Levine, 1970, compreendendo duas Classes, dentre elas a Classe SPOROZOEIA, a mais importante por compreender espécies de importância médica e veterinária. Apresenta três Sub-Classes, sendo a mais importante a COCCIDIA. Das três Ordens dentro desse grupo, EUCCOCCIDIORIDA é a mais importante. Apresenta três Sub-Ordens entre elas a Sub-Ordem EIMERIORINA onde se incluem a Família EIMERIIDAE contendo os Gêneros *Eimeria*, *Caryospora*, *Isospora* e *Cyclospora* e a Família CRYPTOSPORIDIIDAE, com o Gênero *Cryptosporidium*.

O Filo APICOMPLEXA inclui espécies de protozoários parasitos que apresentam organelas citoplasmáticas inerentes aos eucariotos, além de um conjunto de organelas características deste filo, designado complexo apical (visível em microscopia eletrônica), constituído por: anéis polares, conóide, microtúbulos subpeliculares, roptrias, micronemas e grânulos densos. Conóide provavelmente funcione como organela de penetração; micronemas, roptrias e grânulos densos apresentam funções secretoras, com secreções de origem enzimática. A invasão das formas infectantes dos parasitos nas células intestinais da galinha envolve a exocitose sucessiva de micronemas, roptrias e grânulos densos, sugerindo que essa invasão ocorre em três etapas sucessivas: micronemas agiram na adesão e reconhecimento da célula hospedeira; roptrias participariam na formação do vacúolo parasitóforo (cavidade dentro do citoplasma da célula hospedeira formada pela invaginação da membrana celular hospedeira, após contato com o parasita) e grânulos densos responsáveis pela remodelação metabólica, adequada para o desenvolvimento do parasito. Recentemente, outra organela denominada apicoplasto foi descrita para as espécies do Filo Apicomplexa. Essa organela, localizada no citoplasma próximo ao núcleo, apresenta quatro membranas e parece essencial à sobrevivência intracelular do parasita (**Figura 1**).



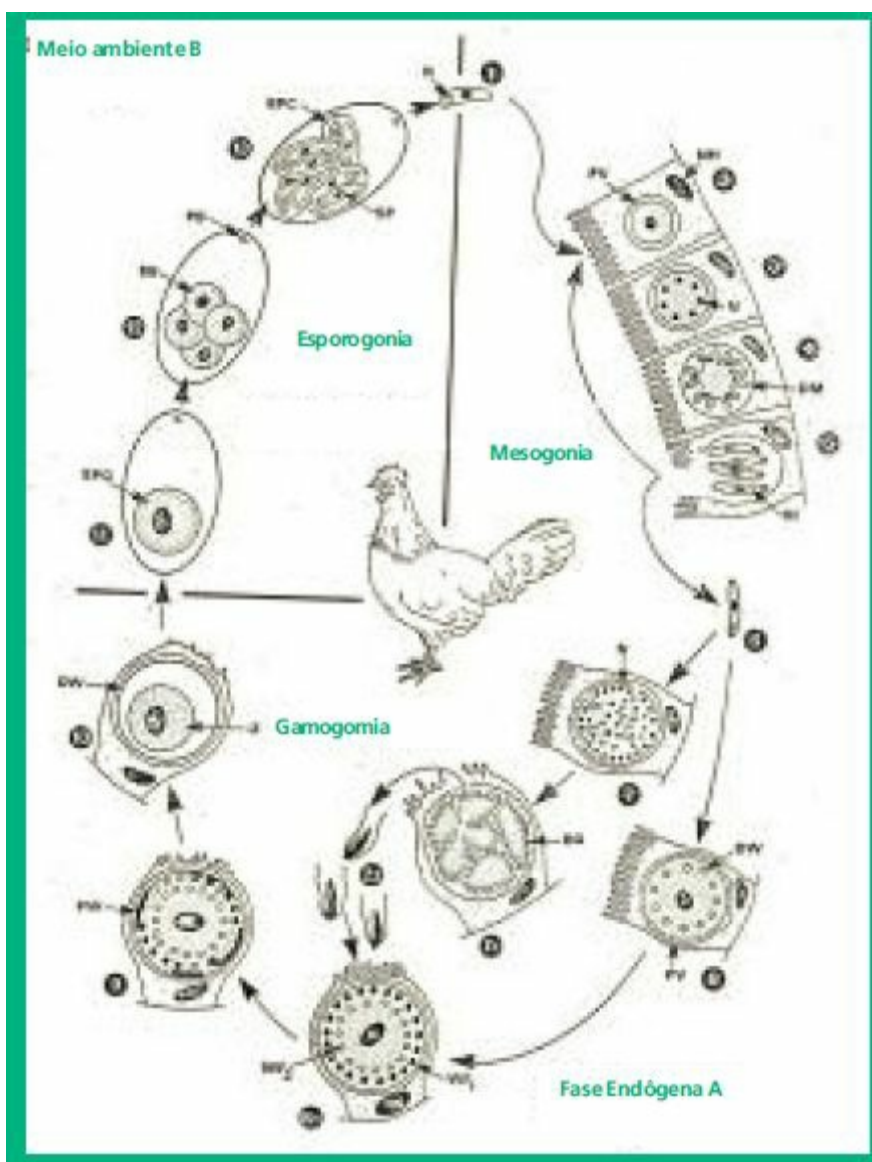
**Figura 1** - Representação esquemática ultra-estrutural de uma forma infectante do Filo Apicomplexa caracterizada por: anel polar (AP), conóide (C), micronemas (M), roptrias (R), grânulos densos (GD), apicoplasto (A), microporo (Mp), membrana plasmática (MP), complexo da membrana interna (CMI), retículo endoplasmático (RE), complexo de Golgi (CG), núcleo (N) e mitocôndria (Mi). (Modificado de Scholtyseck, E. In: *The Coccidia*. Hammond, D.M. & Long, P.L. Editores, 1973. University Press, Baltimore).

Os protozoários do Gênero *Eimeria* caracterizam-se por apresentar uma forma de resistência - o oocisto - contendo quatro esporocistos e dois esporozoítos dentro de cada esporocisto, ao passo que os oocistos do gênero **Cryptosporidium** caracterizam-se por apresentar quatro esporozoítos dentro de um oocisto ([Figura 2](#)).



**Figura 2** - Representação de oocistos: Oocisto não esporulado de *Eimeria* sp. (A); Oocisto esporulado de *Eimeria* sp. (B).

Ciclo de vida ([Figura 3](#))



**Figura 3** - Ciclo de Vida de *Eimeria* sp. Fase Endógena (A) - Após a ingestão do oocisto maduro pela galinha, os esporozoítos sofrem excitação dos esporocistos no duodeno (1), penetram nas células epiteliais e se transformam em trofozoítos, dentro do vacúolo parasitóforo (PV) (2). O núcleo inicia divisões mitóticas sucessivas dentro de um meronte (3), prossegue o seu desenvolvimento com a divisão do citoplasma do merozoíto (DM) (4) e forma os merozoítos (M) tornando-se um meronte maduro (5). Os merozoítos são liberados para a luz intestinal (6), penetram em novas células, reiniciando um novo ciclo merogônico que pode se repetir 2 ou mais gerações de acordo com a espécie e posteriormente iniciar a fase sexuada por um processo de gamogonia. O merozoíto penetra numa célula onde ocorre a divisão nuclear (N) e a formação dos microgametas dentro de um microgametócito (7.1 e 7.2) ou o merozoíto penetra numa célula, não sofre divisão celular ou nuclear e se desenvolve atingindo o tamanho da célula hospedeira, contendo um núcleo grande para formar o macrogameta (8), que apresenta os corpos formadores de parede (WF1 e WF2) dentro do macrogametócito (8.1). O núcleo do microgameta se funde com o núcleo do macrogameta, dando origem ao zigoto (9) que forma a parede cística (OW) para formar o oocisto (10). Meio Ambiente (B) - O oocisto cai na luz intestinal contendo um esporonte (SPO) e é eliminado para o meio ambiente com as fezes (11) onde sofre divisão nuclear meiótica formando os esporoblastos (SB) e mitótica (12) para a formação de esporocistos (SPC) e os esporozoítos (SP) pelo processo de esporogonia (13) formando o oocisto maduro infectante.

Espécies do gênero *Eimeria* completam o ciclo de vida em um único hospedeiro (monoxeno ou homoxeno) apresentando reproduções assexuada (merogonia) e sexuada (gamogonia) dentro das

células do hospedeiro (estágios endógenos) e esporogonia no meio exterior (estágio exógeno). Na maioria das espécies, o hospedeiro desenvolve uma resposta imune protetora espécie-específica.

As galinhas tornam-se infectadas com espécies de *Eimeria*, ao ingerir os oocistos esporulados (oocistos contendo esporozoítos) juntamente com ração ou água. O primeiro processo que ocorre dentro do hospedeiro é o de excitação. Os oocistos sofrem a ruptura da sua membrana pela ação mecânica da moela, quando os esporocistos são liberados. Estes, pela ação da temperatura corpórea, de enzimas pancreáticas e de sais biliares têm os esporozoítos liberados no duodeno. Os esporozoítos saem através da abertura do esporocisto - o corpo de Stieda. Acredita-se que a tripsina degrade o corpo de Stieda enquanto os sais biliares estimulam a motilidade dos esporozoítos. Uma vez livres na luz intestinal, os esporozoítos invadem ativamente a célula hospedeira, formando um vacúolo parasitóforo, geralmente em um enterócito, células da lâmina própria ou criptas epiteliais ao longo do trato digestivo, de acordo com a espécie de *Eimeria*.

- **Merogonia** (esquizogonia): uma vez dentro da célula, os esporozoítos adquirem uma forma arredondada e transformam-se em meronte uninucleado ou trofozoíto. Esse núcleo sofre diversas divisões mitóticas por um processo denominado merogonia ou esquizogonia e cada núcleo se individualiza numa célula alongada - o merozoíto, dentro da célula hospedeira. O conjunto de merozoítos recebe o nome de meronte ou esquizonte. Esses merozoítos deixam a célula hospedeira e invadem novas células, formando uma ou várias gerações de merontes contendo os merozoítos. A obtenção de “linhas precoces” de *Eimeria*, em laboratório, é realizada através de seleções sucessivas dos primeiros oocistos produzidos em aves, resultando na redução do ciclo de vida da *Eimeria* com a ausência completa da segunda geração de esquizogonia para *E. tenella*.
- **Gamogonia** (gametogonia): os merozoítos da segunda, terceira ou quarta geração de merogonia, dependendo da espécie, penetram em novas células hospedeiras e iniciam a fase sexuada do ciclo endógeno, diferenciando-se em gamontes masculinos (microgamontes) e gamontes femininos (macrogamontes). Alguns merozoítos transformam-se em microgamontes que sofrem repetidas divisões nucleares e citoplasmáticas dando origem a muitos microgametas apresentando dois ou três flagelos. Outros merozoítos transformam-se em macrogametas os quais não sofrem divisão nuclear, mas aumentam de tamanho. Esse aumento inclui a proliferação de várias organelas, incluindo os corpos-formadores-de-parede (wall forming bodies) que estão envolvidos na subsequente formação da parede do oocisto. O macrogameta é fertilizado pelo microgameta para formar o zigoto e mais tarde a parede do oocisto. O oocisto formado é liberado para a luz intestinal e eliminado para o meio exterior juntamente com as fezes, ainda imaturo.
- **Esporogonia**: os oocistos imaturos liberados na luz intestinal e eliminados para o meio exterior juntamente com as fezes irão sofrer um processo de esporogonia, isto é, divisão meiótica seguida de divisão mitótica, dando origem a oito esporozoítos, em número de dois dentro de cada esporocisto, sob condições ideais de temperatura (28-30 °C), oxigenação e umidade do ambiente. Apenas os oocistos esporulados são infectantes ao hospedeiro. Condições não adequadas do meio ambiente podem afetar a viabilidade e a virulência dos oocistos.

Espécies de *Eimeria* aviária: especificidade e local de desenvolvimento no hospedeiro



A coccidiose aviária causada por protozoários do gênero *Eimeria*, vivem intracelularmente, ao longo do epitélio intestinal das galinhas. Sete espécies são válidas, atualmente: *E. mitis*, *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. brunetti* e *E. tenella*.

Essas espécies apresentam alto grau de especificidade ao hospedeiro e em região intestinal, ocorrendo apenas em galinhas domésticas. O termo “especificidade ao hospedeiro” refere-se à restrição de uma espécie de parasito a um ou mais hospedeiros específicos. Na maioria dos estudos, especificidade ao hospedeiro tem sido julgada pelo desenvolvimento completo dos estágios endógenos do parasita, culminando com a produção de oocistos após um período pré-patente apropriado. Desta forma, *E. acervulina* ocupa o duodeno até a região mediana do intestino delgado podendo atingir a porção posterior em infecções severas; *E. maxima* pode ocupar desde a região do duodeno até a parte mediana do intestino delgado; *E. praecox* ocorre no duodeno e parte anterior do intestino delgado; *E. necatrix* ocupa a porção mediana e posterior do intestino delgado (desenvolvimento assexuado) e o ceco (desenvolvimento da fase sexuada); *E. brunetti* pode se desenvolver no intestino delgado mediano a posterior e ceco; *E. mitis* desenvolve-se desde o duodeno até a parte posterior do intestino delgado e o ceco e *E. tenella* desenvolve todo o seu ciclo nas células do ceco ([Quadro 1](#)).








A localização dessas espécies dentro das células epiteliais também é específica para cada espécie. Aquelas de localização superficial provocam menos lesões e danos ao hospedeiro (*E. praecox*, *E. mitis*) do que as espécies que realizam seu ciclo nas partes mais profundas da célula (*E. tenella*, *E. necatrix*). Estes podem desenvolver formas agudas e hemorrágicas da doença no seu hospedeiro, levando-o à morte nas formas mais graves. *E. acervulina* e *E. maxima* apresentam menor grau de patogenicidade, porém, podem apresentar alto grau de morbidade no hospedeiro dependendo do número de oocistos ingeridos, do grau de virulência das cepas do parasito e da suscetibilidade do hospedeiro. Podem apresentar freqüentemente formas sub-clínicas que resultam no retardamento do crescimento, diminuição no ganho de peso e alta conversão alimentar no hospedeiro.

O [Quadro 1](#) apresenta também, características e grau de patogenicidade, período pré-patente e imunogenicidade de cada espécie, no hospedeiro.

## Patogenia e sinais clínicos

As sete espécies de *Eimeria* aviária apresentam graus variados de patogenicidade aos seus hospedeiros, sendo que *E. mitis* e *E. praecox* são pouco ou não patogênicos, *E. acervulina* e *E. maxima* apresentam média patogenicidade enquanto *E. brunetti*, *E. necatrix* e *E. tenella* são de alta patogenicidade, esta última podendo causar a morte das aves, quando em alto grau de infecção. Segue abaixo as principais características de cada espécie:

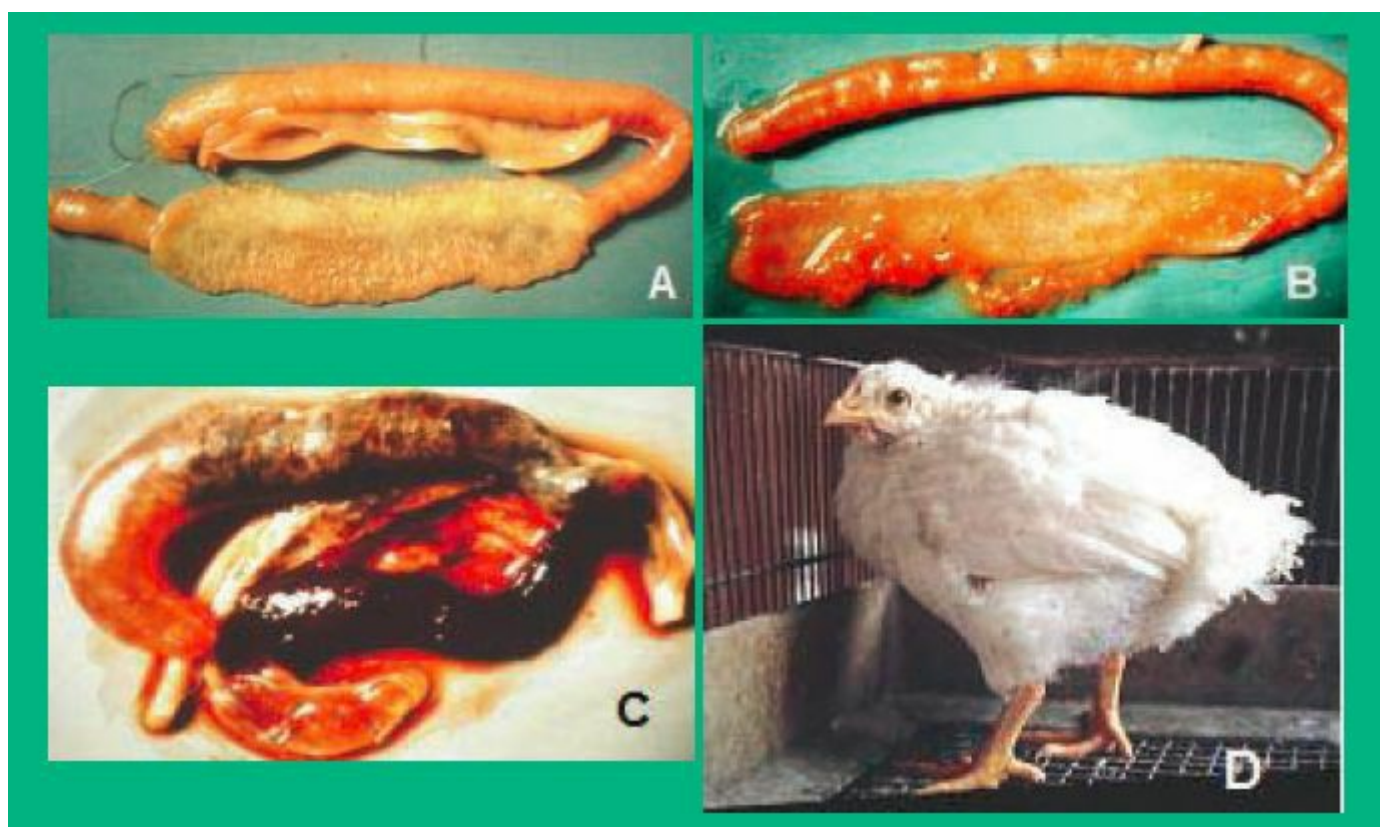
## Quadro 1 - Características diferenciais das espécies de Eimeria aviária.

Espécies	<i>E. acervulina</i>	<i>E. brunetti</i>	<i>E. maxima</i>	<i>E. mitis</i>	<i>E. necatrix</i>	<i>E. praecox</i>	<i>E. tenella</i>
Região parasitada							
Lesões macroscópicas	<b>Infecção leve:</b> bandas transversais esbranquiçadas com oocistos. <b>Infecção grave:</b> parede espessada pelas placas coalescentes	Coagulação, necrose, enterite mucóide sangüinolenta no intestino posterior	Parede espessada, exudato mucóide cor de laranja, petéqueas	Sem lesão. Exudato mucóide.	Formação de gases, pontos brancos (esquizontes), petéqueas, exudato mucóide sangüinolento.	Sem lesões. Exudato mucóide.	<b>Início:</b> Hemorragia na luz do ceco. <b>Mais tarde:</b> mucosa espessada, tecido necrótico do coágulo sangüíneo em forma de charuto.
Medida do oocisto Média (µm)	18,3 x 14,6	24,6 x 18,8	30,5 x 20,7	16,2 x 16,0	20,4 x 17,2	21,3 x 17,1	22,0 x 19,0
Localização do Parasita	Epitelial	2ª geração de esquizonte sub-epitelial	Gametócito sub-epitelial	Epitelial	2ª geração de esquizonte sub-epitelial	Epitelial	2ª geração de esquizonte sub-epitelial
Patogenicidade	++	+++	+++	++	++++	+	++++
Imunogenicidade	++	++++	++++	++	++	++++	++
Período pré-patente (hs)	96	120	123	138	99	84	128

Fonte: Research Report 163. 1973. College of Agriculture Experiment Stations, University of Georgia, Athens, Georgia e Long, P.L., 1987.

### *Eimeria acervulina* Tyzzer, 1929

Esta espécie invade as células epiteliais do duodeno e intestino delgado anterior. A infecção é mais severa no duodeno e decresce até a parte mediana do intestino delgado. O parasito pode ser encontrado na parte posterior do intestino e em raros casos no ceco e reto. Em infecções normais podem apresentar lesões estriadas transversais esbranquiçadas na mucosa intestinal (**Figura 4 – A**), onde são encontradas as formas finais do parasito, isto é, zigotos e oocistos, as quais são também visíveis na serosa. Em infecções severas a colônia de parasitos apresenta-se coalescente. Quatro gerações de esquizogonia foram sugeridas para esta espécie. Pelo fato de não apresentar mortalidade nas aves, a não ser em casos de infecção com milhões de oocistos, a espécie havia sido considerada não patogênica por muitos pesquisadores, mas pelo fato de causar severa depressão no ganho de peso das aves, a espécie deve ser considerada patogênica. Apresenta um período pré-patente de 96 horas.



**Figura 4** - Lesões do trato intestinal por infecção com *Eimeria* sp.: A – *E. acervulina*: presença de estrias transversais estriadas; B – *E. maxima*: muco alaranjado e espessamento da mucosa intestinal; C – *E. tenella*: hemorragia no ceco por destruição das células do epitélio intestinal. D – ave infectada com *E. tenella*: notar penas eriçadas, anemia e perda de peso.

### *Eimeria mitis* Tyzzer, 1928

A espécie infecta predominantemente a metade anterior do intestino delgado e não produz lesão grave. Colônias são raramente vistas no epitélio, porém há uma distribuição uniforme do parasito na área infectada. Esta espécie já foi considerada não patogênica, mas estudos recentes tem mostrado mortalidade em pintos jovens. Foi observado um período pré-patente de 101 horas.

### *Eimeria praecox* Johnson, 1930

Infecta a parte superior do intestino e se distingue pelo curto período pré-patente de 84 horas. Embora não ocorra mortalidade, mesmo em doses altas de infecção, tem sido observada depressão no ganho de peso ou perda de peso corporal. É considerada espécie de baixa patogenicidade.

### *Eimeria necatrix* Johnson, 1930

Esta espécie é considerada uma das espécies mais patogênicas, juntamente com a *E. tenella*. Invade as células do jejuno ou na área mediana do intestino delgado, próximo ao divertículo do saco vitelino. Em infecções severas as lesões podem ser encontradas nas partes anterior e posterior do intestino delgado. Dilatação maciça ou inchaço do intestino médio também podem ocorrer. O intestino apresenta-se com pontos de petéquias de cor branca ou vermelho - escuro, visíveis na superfície da serosa. Colônia de parasitos de cor amarela - esbranquiçada, frequentemente invisível na superfície da mucosa, são compostos por grupos de merontes grandes de segunda

geração. Coágulo de sangue ou sangue fresco juntamente com muco e debris de descamação do tecido epitelial podem ser encontrados na superfície da mucosa intestinal. Os oocistos desta espécie desenvolvem-se no ceco, após a migração da terceira geração de meronte, do intestino posterior para as células epiteliais do ceco, com a formação dos gametas e a sua fertilização. *E. necatrix* pode causar alta mortalidade quando os parasitos ainda estão se desenvolvendo nas fases assexuadas de merogonia. O período pré-patente é de 138 horas.

### *Eimeria maxima* Tyzzer, 1929

O nome desta espécie se deve ao tamanho grande dos seus oocistos. Parasitam principalmente a região mediana do intestino delgado, além de apresentarem lesões também no duodeno e no íleo. A infecção causa enterite hemorrágica associada ao espessamento da parede intestinal (**Figura 4 – B**). O parasito causa modificações patológicas severas. Em infecções experimentais, observou-se mortalidade de mais de 50%. São frequentes: perda de peso, conversão alimentar pobre, redução na produção de ovos, diminuição do pigmento amarelo na pele. Apresenta o período pré-patente de 120 a 126 horas.

### *Eimeria brunetti* Levine, 1942

A espécie é encontrada na porção posterior do intestino delgado e no intestino grosso. Em infecções severas podem ser encontradas na parte anterior do intestino delgado até a parte estreita do ceco. A mucosa pode ser destruída por necrose coagulativa apresentando uma superfície eruptiva caseosa. Em algumas aves pode ocorrer bloqueio completo do intestino grosso anterior. Em infecções leves, listas hemorrágicas características podem ocorrer na mucosa. Perda de peso severa pode ocorrer em infecções não diagnosticadas pelos técnicos. Esta espécie causa patogenicidade severa podendo levar as aves à morte. O período pré-patente é de 120 horas.

### *Eimeria tenella* (Railliet & Lucet, 1891) Fantham 1909

Esta espécie invade as células epiteliais e mais tarde a submucosa do ceco, causando a coccidiose cecal ou sangüínea. Pode parasitar, também, as áreas adjacentes do trato digestório em raras ocasiões. A infecção se caracteriza por sangramento e espessamento da parede cecal no quarto e quinto dias após infecção, coincidindo com a maturação da segunda geração de merogonia. O primeiro sinal da infecção é a anorexia (**Figura 4 – C e D**). Este parasito é extremamente patogênico causando alta mortalidade (Ruff & Reid, 1977). O período pré-patente é de 120 a 128 horas.

As espécies de *Eimeria* que infectam e se desenvolvem nas células intestinais modificam drasticamente as estruturas e a aparência da vilosidade. A microscopia eletrônica de varredura mostrou que há um encurtamento na altura da vilosidade da mucosa intestinal. Ocorrem, também, modificações histológicas do tecido restante conforme o progresso da infecção. Durante o desenvolvimento da primeira geração de merogonia, ocorre um aumento no número de leucócitos polinucleares nas células da submucosa e da lâmina própria e mais tarde, um aumento dos leucócitos granulocíticos nesses locais. Infecções com espécies como *E. tenella* e *E. necatrix*, as quais se desenvolvem nas células da cripta e da lâmina própria, são altamente patogênicas pela destruição das células parasitadas. Essa destruição impede a renovação da vilosidade epitelial, resultando na sua ausência e na perda contínua de fluídos, hemorragia, suscetibilidade a invasão

de bactérias e subsequente formação de lesões necróticas. Infecções severas são frequentemente acompanhadas de diarreia aquosa e morte do hospedeiro. Ocorre um infiltrado de linfócitos e leucócitos, acompanhado de espessamento da parede intestinal.

O extenso dano provocado pelos parasitos na mucosa intestinal traz como principal consequência, diminuição na absorção de nutrientes como zinco, ácido oléico, metionina, histidina, cálcio, glucose e xantofila. A má absorção de nutrientes ocorre como resultado da infecção de espécies que habitam a porção superior e mediana do intestino como *E. acervulina* e *E. maxima*, porém não ocorre pela infecção de *E. tenella* que parasita as células do ceco. Sugere-se que a diminuição na absorção dos nutrientes esteja relacionada com a rapidez com que os alimentos ingeridos passam pelo trato digestório, em aves infectadas.

A infecção com *E. tenella* parece causar uma modificação no mecanismo de coagulação sanguínea das galinhas. A vitamina K está envolvida no sistema de coagulação sanguínea e este sistema pode ser afetado pela mudança na demanda da vitamina K, em aves infectadas. O tempo prolongado para a coagulação pode ser, em parte, responsável pela hemorragia que ocorre em aves infectadas.

Um dos efeitos mais graves em infecções moderada ou severa na coccidiose aviária é a diminuição no ganho de peso, pouco perceptível em infecções leves. Em infecções graves, a perda de peso deve ser observada durante e após o pico da infecção. Este fato está parcialmente associado à diminuição do consumo alimentar e da água, utilização de energia pelas aves infectadas e maior perda de água devido ao aumento da diarreia. Essa diminuição no ganho de peso traduz-se pela diminuição na habilidade em utilizar o alimento, como se pode observar pelo aumento na taxa de conversão alimentar (alimento consumido/ganho de peso). Esses dois fatores são de extrema importância econômica para os produtores avícolas.

A coccidiose pode diminuir a produção e a qualidade dos ovos nas aves reprodutoras. Em galinhas com infecção grave por *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella*, podem ocorrer completa parada na postura de ovos, além da diminuição na espessura da casca, possivelmente como resultado da má absorção do cálcio.

Os fatores envolvidos na patogênese da coccidiose podem variar de acordo com as características próprias da cepa ou do isolado, fatores ambientais externo ou interno ao hospedeiro atuando sobre o parasito, características genéticas e estado imune do hospedeiro. Esses fatores podem influir na severidade da infecção. O hospedeiro reage à infecção coccidiana dependendo do número de oocistos esporulados ingeridos. Geralmente, um número crescente de oocistos ingeridos aumenta o número de oocistos produzidos e a severidade da infecção. No entanto, há um limite máximo de produção de oocistos dentro do hospedeiro pela ocorrência do efeito crowding, isto é, uma superpopulação do parasito, que faz decrescer a produção de oocistos dentro do hospedeiro.

## Imunidade

A infecção de animais domésticos com qualquer espécie de *Eimeria*, induz respostas imunes diversificadas devido ao complexo ciclo endógeno assexuado do parasito nos seus hospedeiros,

onde ocorre um aumento exponencial dos organismos. No caso das espécies de *Eimeria*, a duração de cada infecção é pré-determinada e auto-limitante. Como consequência, embora a imunidade se desenvolva durante a infecção primária, seus efeitos serão mais aparentes a partir de uma nova infecção do hospedeiro. Cada estágio do ciclo da *Eimeria* é uma fonte de material antigênico dos organismos, teoricamente, alvo estágio-específico das respostas protetoras do hospedeiro. A natureza do antígeno liberado, a maneira como se disponibiliza ao hospedeiro e o modo como o hospedeiro responde, devem ser expressas contra o parasito, dependendo do estágio do ciclo e sua relação com as células e tecidos do hospedeiro. Durante cada estágio do ciclo, o parasito utiliza uma variedade de nichos dentro do hospedeiro, desde a luz intestinal, os espaços extracelulares da mucosa até os meios intracelulares dos enterócitos e outras células epiteliais. A extensão de como o hospedeiro pode afetar o parasito e controlar o nível da infecção e os mecanismos efetores que podem ser usados, são definidos pelas características de cada nicho. Desta forma, na fase extracelular, os parasitos são suscetíveis à ação dos fluidos extracelulares como anticorpos, complemento, mediadores inflamatórios e citocinas bem como componentes da resistência natural (fagocitose). Dentro das células, o parasito é inacessível a muitos fatores acima, podendo ser afetados apenas por mecanismos intracelulares tais como radicais O<sub>2</sub>, enzimas lisossomais ou pela destruição da célula hospedeira parasitada por meio de alguma atividade citotóxica.

As espécies de *Eimeria* estão adaptadas para invadir e se desenvolver dentro das células epiteliais. Os métodos atuais de criação de frangos de corte favorecem a reprodução do parasito sendo necessária uma intervenção para o controle da doença. Os métodos utilizados atualmente são baseados na quimioterapia e imunização específica (vacinas vivas virulentas ou atenuadas) para o controle da coccidiose. As técnicas recombinantes, em estudo, poderão ser uma alternativa futura para esse controle.

Para melhor compreensão e aplicação das vacinas em estudo, será necessário o conhecimento básico sobre a imunidade da galinha para as sete espécies de *Eimeria* aviária, incluindo os mecanismos mediadores da imunidade protetora adquirida contra essas espécies.

Respostas imunes do hospedeiro à infecção coccidiana são complexas e envolvem fatores, tanto da imunidade humoral como celular. Embora mecanismos imunes detalhados envolvendo a resistência do hospedeiro contra o parasito ainda não estejam completamente elucidados, mecanismos imunes mediados por células desempenham o principal papel na resistência à doença.

## Relação parasita – hospedeiro

A natureza e a eficiência da imunidade dependem do parasito como estímulo antigênico e alvo e da capacidade de resposta do hospedeiro.

## Parasito

Na fase endógena do ciclo evolutivo das *Eimeria* spp., há uma diversidade na composição antigênica que permite ao parasito escapar de respostas imunes do hospedeiro, podendo completar o seu ciclo de vida, pelo menos, durante a infecção primária. A existência dessa variedade antigênica estimula uma diversidade equivalente de memória imunológica no hospedeiro

capacitando-o, com eficiência, contra uma reinfecção. Os hospedeiros totalmente sensibilizados são capazes de eliminar a infecção em estágios precoces, mas qualquer parasito que escape estará vulnerável às respostas dirigidas a etapas sucessivas. O desenvolvimento do parasito será suscetível às respostas imunes direcionadas aos antígenos presentes na superfície da célula hospedeira. Neste caso, os mecanismos efetores operam tanto diretamente através da ativação dos mecanismos de defesa intracelular, como indiretamente pela destruição da célula hospedeira através da citotoxicidade. Os antígenos de superfície dos parasitos extracelulares os tornam diretamente suscetíveis ao ataque imune, por meio de mecanismos mediados por anticorpos ou células.

## Hospedeiro

A resposta do hospedeiro às infecções intestinais para a eliminação de coccidia envolve a associação complexa de fatores solúveis, leucócitos, componentes epitelial, endotelial e fisiológico dos tecidos linfóides associados ao intestino (GALT) onde será expressa a resposta imunológica.

GALT, nas galinhas, inclui: bolsa de Fabrício, tonsila cecal (TC), placas de Peyer (PP) e linfócitos agregados intraperitonal e na lâmina própria da parede intestinal do trato gastrointestinal. Apresenta características especiais que refletem seu papel como primeira linha de defesa na superfície da mucosa, incluindo células apresentadoras de antígenos, células imunorreguladoras e tipos de células efectoras distintas do sistema imune sistêmico. GALT é definido como órgão linfóide muito eficiente contendo uma grande proporção de tecido linfóide total presente no corpo e capaz de armazenar uma variedade de respostas imunes. Estas incluem a ativação de linfócitos para a produção de citocinas, influenciando outras células, isto é, células B na produção de anticorpos e células T para exercer toxicidade. A inflamação iniciada por uma variedade de estímulos, incluindo linfocinas, também contribui para a expressão da imunidade intestinal contra as *Eimerias* (Ex.: promoção da permeabilidade vascular e epitelial, fagocitose e indução de alterações estruturais e fisiológicas no intestino).

## Mecanismos de imunidade protetora adquirida

Dois tipos básicos de linfócitos estão envolvidos nas respostas específicas dos antígenos: linfócitos B - expressando moléculas de imunoglobulina da superfície (SigG), específicas para antígenos e linfócitos T que reconhecem antígenos processados e degradados nas células apresentadoras de antígenos (APC).

Os antígenos podem estar disponíveis ao hospedeiro, pelo menos, de três modos diferentes: **(1)** pela liberação nos estágios invasivos e em desenvolvimento, **(2)** pela incorporação e expressão nas membranas da célula hospedeira e **(3)** após fagocitose e rompimento dos estágios extracelulares.

Em cada caso, os antígenos devem ser capturados e processados, intracelularmente, antes de se apresentar ao sistema imune do hospedeiro. Em muitos casos, as células que cumprem esta função de processar e apresentar são fagócitos profissionais (macrófagos, células dendríticas), ocorrendo a internalização e degradação lisossomal. A apresentação do antígeno pode se dar através de qualquer célula que divide com fagócitos a expressão das moléculas superficiais da célula por

genes classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). As moléculas da classe II se combinam com antígenos processados para criar os determinantes antigênicos que podem ser reconhecidos pelos receptores do antígeno e dos linfócitos T. Os linfócitos B que ligam antígenos via superfícies das moléculas de imunoglobulinas, interioriza o antígeno ligado, podendo agir como eficiente célula apresentadora de antígeno. Os enterócitos, em resposta às linfocinas, também podem expressar moléculas classe II, funcionando como células apresentadoras de antígenos.

## Imunidade humoral

A ativação das células B, ou seja, células T- dependentes, pode ocorrer dentro do intestino, linfonodos drenados e baço. Há um tráfico regular de plasmablastos B dos tecidos linfóides para dentro da mucosa, inicialmente das células que irão secretar IgA, quando maduros. A diferenciação em células plasmáticas ocorre dentro da parede celular dos tecidos linfóides extra-intestinais, de modo que o anticorpo pode ser liberado localmente ou entrar na mucosa, via corrente sanguínea. As moléculas de IgG são capazes de atravessar as paredes dos vasos e entrar nos fluidos teciduais. Esse transporte é aumentado quando se desenvolve a inflamação, onde ocorre a mudança na permeabilidade das paredes dos vasos. As imunoglobulinas IgA e IgM podem atravessar diretamente a superfície epitelial, sendo transportadas por secreção ativa. IgA pode, também, entrar na luz intestinal e na bile após transporte na corrente sanguínea, por meio dos hepatócitos do fígado. IgE também entra na mucosa através do sangue, mas normalmente ligada aos receptores IgE da superfície das células de mastócitos ou basófilos. Teoricamente, a ação dos anticorpos contra *Eimeria* pode incluir: opsonização por fagocitose, participação na citotoxicidade, lise por meio da ativação do complemento, prevenção da invasão pela imobilização da camada mucosa da superfície epitelial ou por interferência no processo de reconhecimento da membrana. Todas essas atividades são dirigidas contra estágios extracelulares.

As IgMs secretoras são efetivas na eliminação dos patógenos. Por outro lado, IgA secretora (sIgA) impede o influxo do antígeno do meio para os compartimentos internos do corpo, neutralizando vírus e toxinas microbianas e impedindo a aderência e a colonização dos patógenos à superfície da muco- sa, através de bloqueio direto, induzindo mudança na conformação ou redução na motilidade. Embora o papel de sIgA seja prevenir a invasão microbiana no intestino, é incerta a sua função para limitar o curso de uma infecção já estabelecida.

Os anticorpos circulantes, específicos a vários estágios do parasito, são geralmente detectáveis dentro de uma semana após a inoculação dos oocistos, alcançando o pico em um ou dois meses e declinando, apesar de persistir na circulação. O nível e a duração das respostas de anticorpos são influenciados pela idade do hospedeiro, característica genética, dose da inoculação e espécies de *Eimeria*. Anticorpos circulantes presentes no sangue e no intestino devem desempenhar algum papel durante a fase inicial da infecção. No entanto, o seu papel parece pouco significativo na imunidade protetora anti-coccídia.

## Mecanismos imunes mediados por células

Envolve componentes específicos e não- específicos, incluindo fatores solúveis, células NK (natural killer), macrófagos, células T-auxiliadora ( $T_H$ ) e linfócitos T citotóxicos (CTL).



Dois aspectos devem ser considerados: resistência natural, isto é, resposta imune não-específica que ocorre após a primeira infecção, responsável pela eliminação dos parasitos durante a fase da infecção primária e imunidade adquirida, isto é, resposta imune ao antígeno específico após infecções secundárias e subseqüentes. Imunidade contra uma infecção de desafio geralmente resulta na redução do número de oocistos e ameniza os sinais clínicos, influenciados por vários fatores associados ao parasito e ao hospedeiro. A maioria das espécies de *Eimeria* é relativamente imunogênica: uma simples infecção no hospedeiro normal irá induzir algum grau de resposta imune protetora contra re- infecção. Antígenos associados aos estágios de desenvolvimento assexuado tem se mostrado mais imunogênicos do que os estágios sexuados. Em hospedeiros imunes, os esporozoítos entram no intestino logo após a infecção, mas são impedidos de se desenvolver. Logo após a infecção, os esporozoítos são transportados em células hospedeiras, provavelmente macrófagos ou linfócitos intraepiteliais (IEL). Anticorpos monoclonais específicos detectando macrófagos e subpopulações de linfócitos para identificar as células responsáveis pelo transporte de *E. acervulina* mostraram que, logo após a infecção, a maioria dos esporozoítos localizava-se nos linfócitos intraepiteliais expressando antígeno CD8+ e macrófagos.

### Papel das células T e citocinas

A principal atividade efetora das células T é a citotoxicidade, normalmente uma propriedade dos subgrupos CD8+ ou CD4+ auxiliadora 1 (“*helper*”). A citotoxicidade é mediada pela interação da célula T/célula-alvo e requer o reconhecimento da ligação do antígeno de superfície às moléculas MHC, classe I.

A expressão da atividade direta da célula T anti- parasito mais importante é a liberação de linfocinas como INF- $\gamma$  que tem a propriedade de ativar mecanismos “killing” dentro das células que albergam o parasito. Linfocinas devem ativar diretamente as células, após ligação com receptores da superfície ou fazê-la indiretamente ativando outras células como macrófagos, para liberar citocinas (IL-1, TNF $\alpha$ ) que também podem promover a morte intracelular. A liberação de IL-1 está associada com o aumento fagocítico e atividade citotóxica nos macrófagos.

Após infecção inicial com *Eimeria* spp., o desenvolvimento de imunidade espécie-específica de longa duração caracterizada por forte resposta linfocitária antígeno-específico in vitro mostrou uma resposta detectável da célula T a antígenos de esporozoítos 10 dias PI e o pico da resposta proliferativa das células T, 14 dias PI, desaparecendo rapidamente após 21 dias PI, a menos que houvesse uma segunda inoculação.

Estudos sobre o papel da célula T na proteção contra coccidiose aviária demonstraram que a imunidade mediada por célula desempenha papel principal no desenvolvimento de resistência contra coccidiose: houve aumento no nível de células T- CD8+ no intestino da galinha imunizada com *Eimeria* spp., sugerindo um papel das células citotóxicas na proteção.

A produção de INF- $\gamma$  liberada do baço foi detectada durante a infecção com *E. tenella* 35 dias PI, sugerindo-se a importância da INF- $\gamma$  na imunidade  $\alpha$ -coccidiana. Aves tratadas com dexametasona mostraram aumento na produção de oocistos e aumento de células CD4+ (T), com diminuição de células CD8+ (Tc/s), quando comparada com aves não tratadas. Mostrou também supressão na imunidade mediada por célula e incapaz de produzir interleucina-2 e IFN- $\gamma$ . Em camundongos, a

depleção na produção de INF- $\gamma$  usando tratamento com anticorpo anti-INF- $\gamma$  mostrou aumento na produção de oocistos e mortalidade, após a infecção com *E. vermiformis*. Tratamento anti-INF- $\gamma$  aumentou a severidade da infecção após primeira infecção, mas não interferiu no desenvolvimento da resistência a infecções subseqüentes. Portanto, sugere-se que linfócitos CD8<sup>+</sup> e IFN- $\gamma$  sejam componentes importantes nas respostas imunes protetoras contra as *Eimerias*.

## Papel das células NK

Resposta imune natural para a eliminação dos parasitos envolve componentes não específicos do parasito, como as células NK ou macrófagos. Linfócitos intraepiteliais (IEL) da galinha contem células efectoras que podem mediar a atividade das células NK contra as células tumorais da galinha. Os níveis de atividade das células NK no baço e IEL aumentam acima do normal coincidindo com a eliminação do parasito. Essas células podem estar envolvidas na imunossobrevivência do hospedeiro contra *Eimeria* spp.

## Papel dos macrófagos

Macrófagos são conhecidos por exercer atividade de defesa contra vírus, bactérias e parasitos intracelulares em mamíferos e aves. Podem participar, também, na iniciação de uma resposta imune específica, processando o antígeno e apresentando-o aos linfócitos. Podem secretar citocinas que modulam outras células imunes. O papel dos macrófagos na coccidiose foi sugerido: exibem aumento de fagocitose dos esporozoítos e esporocistos na presença de soro imune, mostram aumento da citotoxicidade contra *Eimeria* spp. quando ativados por linfocinas secretadas pelos linfomas das células T, células T imunes estimuladas por esporozoítos ou merozoítos, ou células normais do baço estimuladas com concavalina A. Desta forma, macrófagos devem exercer um papel na imunidade mas parece requerer uma exposição prévia às citocinas ou ao parasito, para a sua ativação.

## Inflamação

A inflamação ocorre no intestino como resultado do dano tecidual “per se”, pela formação do complexo antígeno-anticorpo, componentes do complemento, linfocinas das células T, ativação de células contendo aminas, quando a superfície do IgE se liga com antígeno específico, reforçado pela liberação de fatores (enzimas, aminas, proteínas catiônicas, prostaglandinas) de uma variedade de células que se infiltram nos tecidos inflamados. A entrada e a proliferação de diversos tipos de células como mastócitos, basófilos, eosinófilos são fenômenos de células T-dependentes. A infiltração de células contendo aminas cria condições na qual a liberação de antígenos leva ao aumento vascular e permeabilidade epitelial, promovendo infiltração futura e facilitando a liberação de imunoglobulinas na mucosa e na luz intestinal. Há muitas alterações estruturais e mudanças fisiológicas que acompanham a infiltração intestinal, as quais, juntamente com a liberação do mediador são inimigas do desenvolvimento e sobrevivência do parasito e prejudicial ao seu bem estar. Uma mudança importante diz respeito a quantidade e qualidade do muco secretado no intestino infectado. Ocorre a hiperplasia das células goblet e mudança na natureza bioquímica do muco, aumentando sua viscosidade. A secreção do muco alterado parece influir no desenvolvimento da infecção por *Eimeria*, no intestino imune.

# Epizootia

Diversos fatores externos e internos inter-relacionados podem afetar a severidade da infecção coccidiana:

## Fatores do ambiente

Em granjas de frangos de corte, diversos fatores podem contribuir para aumentar a incidência da coccidiose nos galpões: temperatura alta, umidade excessiva, principalmente em função do tipo de bebedouro usado. O esquema de iluminação intermitente favorece o aumento da coccidiose nas aves. A manipulação vigorosa da cama durante o período iluminado favorece a esporulação e sobrevivência dos oocistos. Alta densidade de aves nos galpões favorece maior contaminação do ambiente com oocistos o que aumenta a chance da doença. Aves com deficiência locomotora tendem a permanecer num mesmo local, próximo a comedouro e bebedouro, onde podem ser os focos dos parasitos. Infecção de aves, logo após o nascimento, pode promover um equilíbrio entre a parasitose e a imunidade o que não ocorreria em aves criadas sobre camas novas. A infecção poderia ocorrer mais tarde, provocando uma doença severa em aves de mais velhas, mais suscetíveis e não expostas anteriormente à infecção por coccídia.

Medicamentos anticoccidianos são essenciais para o controle da coccidiose, mas a presença de isolados resistentes ou parcialmente resistentes aos medicamentos faz com que haja necessidade de permanente monitoração e alteração no esquema do uso de medicamentos nas granjas. Em granjas de frango de corte onde o medicamento não apresenta eficiência completa, pode ser encontrado um grande número de oocistos, esse número sendo maior em aves com idade entre 28 a 42 dias.

## Oocistos

A parede resistente do oocisto é composta de uma camada interna formada por proteínas e glicoproteínas e outra camada externa formada por ácidos graxos, fosfolipídeos e álcool-graxos. Essa estrutura torna-se extremamente refratária à maioria dos desinfetantes, os quais não apresentam nenhum efeito sobre a viabilidade dos oocistos no meio ambiente. Entretanto, essa camada é permeável a gases como brometo de metila, amônia, alguns compostos fenólicos e solventes orgânicos e sensíveis à temperatura acima de 60 °C.

A formação dos esporozoítos dentro dos oocistos que ocorre no meio ambiente é estimulada por fatores ambientais como temperatura ótima de 28 a 30 °C, umidade e oxigênio disponíveis. Esses fatores podem acelerar ou retardar a incidência dos oocistos maduros nas granjas de criação. Os oocistos permanecem viáveis por tempo determinado que parece não exceder mais de seis meses, quando mantidos a 4 °C. Nas granjas onde há presença de cama usada, pode estar ocorrendo um processo de fermentação, que pode encurtar o tempo de viabilidade dos oocistos esporulados, devido ao excesso de amônia presente no ambiente.

Os oocistos podem ser introduzidos nos galpões por meio de transporte nos calçados, roupas, pele das pessoas, equipamentos, roedores, insetos, etc.

## Potencial reprodutivo e diversidade antigênica

Cada espécie de *Eimeria* apresenta um potencial reprodutivo exponencial dos oocistos: *E. acervulina* é a espécie que produz maior quantidade de oocistos; *E. tenella* e *E. necatrix* apresentam um potencial mediano e *E. maxima* é a espécie de menor potencial reprodutivo. Deste modo, uma das espécies mais prevalentes nas granjas tem sido *E. acervulina*. *E. maxima*, apesar de ser uma espécie altamente imunogênica, induzindo proteção em parasitos homólogos, apresenta alta diversidade antigênica entre as diferentes populações. As outras espécies também apresentam esta diversidade antigênica, em menor escala, o que pode estar contribuindo para a manutenção dos isolados nas granjas.

Infecções simultâneas de *Eimeria* com outros patógenos, como vírus e bactérias, favorecem a incidência da coccidiose.

## Diagnóstico

A coccidiose poderá ser diagnosticada nas granjas de várias maneiras:

- **Pesquisa de oocistos na cama:** para verificar a simples presença de coccidiose nos galpões coletam-se amostras da cama para a pesquisa de oocistos de *Eimeria* spp., em dicromato de potássio a 2%, mantidos à temperatura entre 28 a 30 °C, por aproximadamente 48 a 72 horas. O material será filtrado em tela de metal de 50 malhas por cm<sup>2</sup>, centrifugado a 2.000rpm, durante 5 minutos, para retirada da solução de dicromato de potássio e lavado sucessivamente em água destilada até a remoção da solução. Uma alíquota do sedimento é misturada à solução saturada de cloreto de sódio. Uma gota dessa solução é colocada numa câmara de McMaster e após alguns minutos é observada ao microscópio. Os oocistos irão flutuar nessa solução. O mesmo procedimento poderá ser aplicado em amostra de fezes.
- **Observação de lesões na mucosa intestinal:** a ave suspeita será necropsiada, retirando-se o tubo digestivo e observando macroscopicamente a mucosa externa e interna, em toda a extensão do intestino. De acordo com o tipo de lesão e muco encontrados ao longo do intestino, será determinada a espécie de *Eimeria*, conforme descrito em patogenicidade. Para uma observação semi-quantitativa poderá ser usado o escore de lesão, idealizado por Johnson & Reid (1970).

## Prevenção e controle

No controle da coccidiose poderão ser considerados os seguintes aspectos: manejo (higiene), uso de medicamentos, imunidade e vacinação.

### Manejo

Apesar do uso de drogas anticoccidianas, tem sido verificada cada vez mais, a impossibilidade de se erradicar ou controlar a coccidiose nas granjas. A gravidade da infecção depende do número de oocistos ingeridos, do grau de virulência das cepas e da suscetibilidade do hospedeiro. O objetivo do bom manejo deve ser, portanto, a redução das aves à exposição de oocistos infectantes. O uso do sistema suspenso nas aves reprodutoras poderá reduzir a exposição à infecção. Alta umidade na cama deve ser evitada para prevenir a esporulação dos oocistos. Por outro lado, o uso de desinfetantes é ineficiente, pois poucos agentes são capazes de destruir os

oocistos (formaldeído ou hipoclorito de sódio são ineficazes). Gás amônia e brometo de metila matam os oocistos, porém são tóxicos e de difícil aplicação nas granjas. Recentemente surgiu um desinfetante derivado de fenol que demonstrou, in vitro, ser eficiente na destruição da parede dos oocistos.

## Uso de medicamentos

O controle da coccidiose com drogas anticoccidianas teve um custo estimado em aproximadamente 250 milhões de dólares no mundo, em 1986 e cerca de 5 milhões de libras na Grã-Bretanha, 1990. Entre as diversas drogas de uso comercial, os compostos mais usados atualmente são divididos em duas categorias: os clássicos compostos químicos sintéticos e os ionóforos poliéter produzidos por meio da fermentação de vários microorganismos. Esses dois tipos de compostos apresentam diferentes modos de ação sobre os parasitos.

Os compostos químicos como amprolium, arprinocida, clopidol, diclazuril, halofuginona, nicarbazina e robenidina possuem modo de ação bastante específico, muitas vezes com alvos apenas em uma etapa do metabolismo do parasito, capacitando-o a desenvolver resistência de forma bastante rápida. Estas drogas podem atuar como coccidiocidas (matam os parasitos) ou coccidios-táticas (interrompem o desenvolvimento dos parasitos, sem destruí-los) e podem apresentar efeitos específicos sobre o metabolismo da mitocôndria (clopidol, nicarbazina, robenidina) ou podem ser antagonistas de vitaminas (amprolium e amprolium/etopabato).

Medicamento como

nicarbazina pode estar associado à mortalidade das aves por apresentar efeito de intolerância ao calor. Desta forma, a droga não é administrada às aves nas estações quentes do ano, o que favorece o seu uso descontínuo, limitando a sua exposição prolongada nas granjas. Por este motivo, nicarbazina continua a ser usada nas granjas até hoje, principalmente em programas duais, apresentando pouca resistência aos isolados de campo, especialmente contra *E. maxima*, em certos locais. O aparecimento precoce de resistência nas drogas sintéticas fez com que esses medicamentos fossem substituídos pelos ionóforos mais eficientes, nas indústrias avícolas. No entanto, muitas dessas drogas estão sendo reativadas e usadas em programas duais, pelo fato de ter havido uma reversão na sensibilidade às *Eimerias*, por desuso desses medicamentos durante algum tempo.

Em relação aos ionóforos poliéter, existem seis compostos em uso nas granjas comerciais: maduramicina, monensina, salinomicina, narasin, lasalocida e semduramicina. Tem como modo de ação, efeito sobre o transporte de energia na mitocôndria. Formam complexos lipídeo-solúveis com cátions  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ , ou  $Mg^{2+}$  e alteram a velocidade de difusão desses complexos através das barreiras de lipídeos das membranas do parasita. Esta interação sobre a membrana resulta no inchaço, vacuolização interna e degradação dos estágios de esporozoítos e merozoítos devido ao severo dano osmótico. O segundo efeito é o estímulo na glicólise do parasito, o que leva a uma significativa depleção no armazenamento de carboidratos e sua eventual morte. A resistência aos parasitos não ocorre rapidamente nesses compostos devido ao complexo modo de ação, que dificulta a sua neutralização, pelo parasito. Mudanças fundamentais são requeridas nas propriedades biofísicas da parede celular do parasito a fim de competir com a ação bioquímica não específica nas atividades de transporte trans-membrana dos cátions dessas drogas. Esse efeito levaria muito tempo, isto é, mais de 10 anos, para o aparecimento de cepas resistentes a

drogas. Somente após esses anos de uso dos medicamentos ionóforos, começaram a surgir redução gradual na sensibilidade dos parasitos. O modo de ação similar desses compostos tem favorecido o surgimento de resistência cruzada entre eles.

A **Tabela 1** contém a lista dos principais medicamentos anticoccidianos usados na indústria avícola, o tipo de atuação e o efeito sobre os estágios de desenvolvimento dos parasitos.

<b>Tabela 1</b> - Medicamentos anticoccidianos em uso nas Granjas Comerciais e sua atuação sobre os estágios endógenos de <i>Eimeria</i> sp.		
<b>Composto</b>	<b>Tipo de atuação</b>	<b>Efeito sobre estágio do parasita</b>
Amprolium	Coccidiocida/ Coccidiostático	2 <sup>a</sup> geração de Meronte Esporulação do oocisto
Arprinocida		1 <sup>a</sup> e 2 <sup>a</sup> gerações de Meronte Esporulação do oocisto
Clopidol	Coccidiostático	Esporozoíto ou Trofozoíto
Diclazuril	Coccidiocida	Meronte, Gamonte, Zigoto
Halofuginona		1 <sup>a</sup> geração de Meronte
Nicarbazina	Coccidiostático/Coccidiocida	2 <sup>a</sup> gerações de Meronte e Merozoítos
Robenidina	Coccidiocida	1 <sup>a</sup> geração de Meronte Gamontes
Sulfonamidas (Tratamento)	Coccidiostático/Coccidiocida	2 <sup>a</sup> geração de Merontes
Lasalocida	Coccidiocida	Esporozoíto, Trofozoíto, Merozoíto
Maduramicina	Coccidiocida	Estágios precoces do ciclo
Monensina	Coccidiocida	Esporozoíto, Merozoíto

Narasin	Coccidiocida	Esporozoíto, Merozoíto
Salinomicina	Coccidiocida	Esporozoíto, Merozoíto
Semduramicina	Coccidiocida	Esporozoíto, Merozoíto

Os anticoccidianos são usados individualmente ou em associação (geralmente dois compostos distintos que apresentam sinergismo, potencializando a sua atividade). Muitas drogas são usadas profilaticamente através da sua mistura na ração, durante quase toda a vida do animal em granjas de frango de corte. Quando ocorrem surtos de coccidiose, são administrados medicamentos para o tratamento (sulfonamidas ou outros compostos sintéticos que atuam nos últimos estágios de desenvolvimento), adicionados na água.

Os medicamentos preventivos, os anticoccidianos, podem ser usados misturados à ração através de programas planejados, em granjas de frangos de corte:

- **Programa “cheio”:** uso de apenas um tipo de medicamento em todo o período da criação de frangos de corte.
- **Programa “dual”:** uso de dois tipos de drogas.
- **Rotação de drogas:** uso de determinado tipo de droga durante um período e a troca para um outro tipo depois desse período e assim por diante.
- **Uso de medicamentos em desuso:** um medicamento não usado por vários anos pode apresentar eficiência em granjas, pelo fato dos isolados resistentes terem sido substituídos por outros isolados provavelmente sensíveis a esse medicamento, durante os anos em que não tenham sido usados.

A maioria das drogas apresenta um período de retirada, antes do abate, entre três a sete dias. Quando usadas em alta concentração, podem deprimir o apetite das aves. Desta forma, as drogas devem ser usadas na concentração recomendada pelos fabricantes. Quando usadas de forma planejada, evitam o aparecimento de resistência.

A ineficiência de uma droga pode decorrer por diversas causas. A mais freqüente é a falta de incorporação na concentração correta. Outro fator é a ocorrência de resistência nos isolados encontrados numa determinada granja, a esses medicamentos. Essa resistência vem se desenvolvendo na maioria dos isolados de eiméria, em todo o mundo, com os medicamentos usados comercialmente, tanto os ionóforos como os sintéticos químicos, como foi relatado anteriormente. No entanto, há pouca estratégia para diminuir o aparecimento de resistência. Uma possibilidade seria a alternância planejada no uso de drogas.

## Imunidade

O desenvolvimento da imunidade contra a coccidiose é uma prática importante em matrizes ou reprodutoras pesadas e poedeiras comerciais criadas em contato com o chão, durante a fase de

postura. As drogas anticoccidianas são usadas durante o período inicial, com as seguintes alternativas:

- a) Uso de uma droga menos eficaz;
- b) Uso de concentração sub-ótima;
- c) Redução progressiva da concentração da droga;
- d) Tratamento das aves ao aparecimento de sinal clínico. O objetivo é a prevenção contra surtos, que possa permitir um desenvolvimento suficiente do parasito para estimular a imunidade protetora nas aves.

## Vacinação

A resposta imune protetora nas galinhas infectadas com espécies de *Eimeria* é conhecida há muito tempo (Tyzzer, 1929). A facilidade em se obter os oocistos em massa e a administração em pequena quantidade dessas formas em aves, fez com que a primeira vacina viva virulenta, com oocistos de todas as espécies de *Eimeria* de galinha, estivesse disponível no comércio em 1952, nos Estados Unidos (Coccivac). Essa vacina, denominada virulenta, caracteriza-se pela presença de cepas de campo ou laboratório sem nenhuma modificação. No entanto, até recentemente, essa vacina havia sido pouco utilizada nas granjas, em detrimento dos medicamentos anticoccidianos eficiente, como os ionóforos. Com a gradual ineficácia desses medicamentos no controle da coccidiose aviária e a necessidade de alternativa para o seu controle, surgiu no mercado uma outra vacina viva virulenta (Immucox), de origem canadense. Essas duas vacinas têm sido usadas especialmente em granjas de matrizes reprodutoras com sucesso, desde que os pintos adquiram os oocistos vacinais viáveis, em pequena quantidade, simultaneamente e de forma uniforme. Caso contrário, poderão ocorrer falta de imunização, surtos de coccidiose e necessidade do uso de quimioterápicos com conseqüente queda na qualidade das aves. Essas vacinas são utilizadas na maioria dos continentes, com exceção da Europa. Recentemente, novas vacinas foram lançadas no mercado comercial ([Tabela 2](#)).

**Tabela 2** - Características das vacinas vivas contra a coccidiose, em uso, nas galinhas.

Produto (Manufatura)	Tipo de parasito (Via de inoculação)	Tipo de ave Vacinada	Espécies Incluídas	País de origem
Coccivac® B (Schering Plough)	Virulento (Oral)	Frango de corte, reprodutora	<i>E. acervulina</i> , <i>E. maxima</i> , <i>E. mivati</i> , <i>E. tenella</i>	EUA
Coccivac® D	Virulento	Matriz,	<i>Todas as espécies</i>	EUA



(Schering Plough)	(Oral)	poedeira		
Imucox® (Vetech)	Virulento (Oral)	Frango de corte	<i>E. acervulina, E. maxima, E. necatrix, E. tenella</i>	Canadá
Imucox® (Vetech)	Virulento (Oral)	Reprodutora, poedeira	<i>Cinco espécies</i>	Canadá
ADVENT® (Novus)	Virulento (Oral)	Frango de corte	<i>E. acervulina, E. maxima, E. tenella</i>	EUA
Nobilis® COX-ATM (Intervet)	Virulento (Oral)	Frango de corte	<i>E. acervulina, E. maxima, E. tenella (ionóforo resistente)</i>	Holanda
Paracox® (Schering Plough)	Atenuado (Oral)	Todas as classes de aves	<i>Todas as espécies</i>	Reino Unido
Paracox® 5 (Schering Plough)	Atenuado (Oral)	Frango de corte, reprodutora, matrizes	<i>E. acervulina, E. maxima 2, E. tenella, E. mit.</i>	Reino Unido
Livacox® Q (Biopharm)	Atenuado (Oral)	Reprodutora, poedeira	<i>Quatro espécies</i>	República Checa
Livacox® T (Biopharm)	Atenuado (Oral)	Frango de corte	<i>E. acervulina, E. maxima, E. tenella</i>	República Checa
Eimervax® 4m (Brioproperties Pty)	Atenuado (Oral)	Reprodutora, poedeira, frango de corte	<i>Quatro espécies</i>	Austrália
Eimerivac® Plus (Guangdong Academy Agricultural)	Atenuado (Oral)	Reprodutora, poedeira, frango de corte	<i>Quatro espécies</i>	China

Sciences)				
Immuner® Gel-Coc (Vacunas Immuner)	Virulento + Atenuado (Oral)	Reprodutora, poedeira, frango de corte	<i>E. acervulina</i> , <i>E. maxima</i> , <i>E. tenella</i>	Argentina
CoxAbic® (Abic)	Antígenos mortos (Intramuscular)	Reprodutora	Uma espécie	Israel
Inovocox (Embrex)	Virulento ( <i>In ovo</i> )	Frango de corte	<i>E. acervulina</i> , <i>E. maxima</i> , <i>E. tenella</i>	EUA

### Desvantagens no uso das vacinas virulentas:

- Algumas dessas vacinas podem não conter número suficiente de espécies mais patogênicas para induzir imunidade protetora duradoura, conseqüentemente, sua eficácia depende de auto-infecção de parasitos reciclados.
- Dependendo da cepa que compõe a vacina, a patogenicidade no hospedeiro pode predominar sobre a imunogenicidade.
- Vacinas vivas podem introduzir novas espécies na granja ou patógenos não esperados na criação.
- Vacina com um tipo de cepa, pode não imunizar aves com cepas diferentes e não apresentar imunidade protetora às espécies de *Eimeria* existentes numa granja, devido a variação antigênica existente em determinadas espécies.
- Tempo de validade das vacinas pode inviabilizar os oocistos.

A necessidade em se obter vacina viva mais segura e com a mesma eficiência protetora da vacina virulenta, fez com que os pesquisadores obtivessem uma nova geração de vacina viva, com característica atenuada, conferindo imunidade protetora, porém não causando quadro clínico às aves. Com esse propósito surgiram duas vacinas: Paracox, contendo todas as espécies de *Eimeria* de galinha e Livacox, contendo as três principais espécies de *Eimeria* de galinha. Nas granjas da Europa, apenas essas vacinas atenuadas são permitidas para o uso comercial. Novas vacinas atenuadas foram introduzidas no mercado.

As principais vacinas comerciais encontram-se caracterizadas na [Tabela 2](#).

As vacinas atenuadas apresentam as seguintes características:

- Ciclo evolutivo com período reduzido (redução do período pré-patente).
- Redução dos estágios assexuados de merogonia nas células intestinais, isto é, com parasitos da “linhagem precoce”.
- Atenuação estável com produção de menor número de oocistos.

- Menor disseminação de oocistos na cama durante cada ciclo de infecção.
- Menor dano ao hospedeiro.
- Reciclagem dos isolados de *Eimeria* spp. nos galpões a cada novo lote colocado.
- Queda acentuada da virulência, sem decréscimo significativo na imunogenicidade.

**Vantagem no uso de vacinas atenuadas:** cepas precoces com espécies de *Eimeria* atenuada evitam alguns dos problemas associados com cepas patogênicas do campo.

**Desvantagem:** custo mais alto associada à baixa produção de oocistos em aves usadas para gerar a vacina.

**Precaução em relação à vacina atenuada:** cepas precoces de espécies de *Eimeria* nem sempre atenuam, isto é, não perdem a patogenicidade e não devem ser usadas como vacina, correndo o risco de causar patogenicidade nas aves, ao invés de apenas conferir imunidade protetora. Estudos sobre atenuação devem ser realizados antes de destinar a cepa como vacina.

Vacina para conferir imunidade materna através da transferência de anticorpos da mãe para os pintos foi introduzida no comércio (CoxAbic®) em 2002. Essa vacina tem como componente ativo, gametócitos mortos de *E. maxima*, administrada por via intramuscular em aves reprodutoras. Segundo testes de campo, verificou-se em frangos de corte originadas de aves vacinadas, redução de 60 a 70% no pico de produção de oocistos, quando comparado ao grupo controle não vacinado.

No Brasil, foram introduzidas comercialmente, quatro dessas vacinas.

Um dos prováveis fatores para o insucesso dessas vacinas em algumas granjas, aponta para a presença de diversidade antigênica dos isolados de *Eimeria* sp., de mesma espécie porém, de regiões geográficas diversas que não conferem imunidade cruzada com as linhagens das vacinas. Essa característica frustra a formulação de uma vacina universal de espécies múltiplas para cobrir uma vasta área geográfica. Este fator poderia ser contornado com a incorporação de variantes imunológicas nessas vacinas. Para o sucesso do uso dessas vacinas, recomenda-se um teste de imuno-sensibilidade com as vacinas vivas contra espécies das granjas locais, antes de iniciar o programa de vacinação. Portanto, o programa de vacinação de uma granja, levado para outra granja poderá não apresentar os mesmos resultados devido a diferenças entre as populações dessas granjas.

## Perspectivas futuras

Alternativas no uso de medicamentos anticocídicos e vacinas vivas de oocistos virulentos ou atenuados vêm sendo estudadas por diversos pesquisadores, baseados na imunidade. Trata-se do desenvolvimento de vacinas com subunidades do parasito, inicialmente pela caracterização de antígenos imunogênicos das formas infectantes de *Eimeria* aviária, obtenção da seqüência dos nucleotídeos e dos seus aminoácidos e a possível resposta protetora contra um desafio. Alguns desses antígenos obtidos de *E. tenella* e *E. acervulina* demonstraram proteção parcial. A caracterização de antígenos de diversos estágios de desenvolvimento realizados por diversos autores mostraram que em apenas poucos casos foram isoladas quantidades suficientes desses

antígenos ou a produção dos mesmos por tecnologia recombinante, para o uso em ensaios de imunização nas aves. Os resultados dos estudos sobre imunização são otimistas, pois em algumas linhagens de aves pode ser induzida uma proteção parcial, embora incompleta, contra até quatro espécies de *Eimeria*. São necessários maiores estudos sobre a interação da imunidade celular e esses antígenos, além da escolha de um adjuvante adequado, imuno-potenciador, bem como de vetores virais ou bacterianos para o aumento da proteção.

Estudos mais recentes sobre transfecção de alguns genes de subunidades dos parasitas vêm sendo realizados com uso de métodos como PCR (“Polymerase Chain Reaction”), EST (“Expressed Sequence Tags”) e “Phage Display”.

## Bibliografia

Castro AGM. Situação atual da coccidiose no Brasil. Importância econômica. Simpósio Internacional sobre Coccidiose; 1994; Santos, São Paulo, BRA. p.45-54.

Chapman HD. Sensitivity of field isolates of *Eimeria* species to monensin and lasarocid in the chicken. *Veterinary Science* 1989a; 46:114-117.

Chapman HD. *E. tenella*, *E. maxima* and *E. acervulina*: studies on the development of resistance to diclazuril and other anticoccidial drugs in chicken. *Parasitology* 1989b; 99:189-192.

Current WL, Upton SJ, Long PL. Taxonomy and life cycle. In: Long PL. *Coccidiosis of man and domestic animals*. Boca Raton: CRC Press; 1990. p.1-16.

Dalloul R, Lillehoj HS. Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. *Avian Diseases* 2005; 49:1-8.

Danforth HD. Uso de vacinas baseadas em oocistos vivos no controle da coccidiose aviária: visão americana. Anais do 2º Simpósio Internacional sobre Coccidiose Aviária, 1994; Foz do Iguaçu, Paraná. BR. p.71-79.

Danforth HD, Augustine PC, Jenkins MC. Desenvolvimento de vacinas: situação atual e perspectivas. Anais do 1º Simpósio Internacional sobre Coccidiose; 1994; Santos, São Paulo. BRA. p.125-140.

Dubremetz JF. Apical organelles (rhoptries, micronemes, dense granules) and host cell invasion by *Coccidia*: What do we know now? *Proceedings of the 6th Coccidiosis Conference*; 1993; Guelph, Ontario. p.3-9.

Edgar SA, Seibold CT. A new coccidium of chickens *Eimeria mivati* sp. n. (Protozoa: Eimeriidae) with details of its life history. *Journal Parasitology* 1964; 50:193-204.

Fernando MA. Pathology and pathogenesis. In: Long PL. *The biology of the Coccidia*. Baltimore: University Park Press; 1982. p. 287-327.

Johnson WT. *Coccidiosis of the chicken with special reference to species*. Bulletin of Oregon

Agriculture Experimental Station 1930; 358:325-333.

Johnson J, Reid WM. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor pen experiments with chickens. *Experimental Parasitology* 1970; 28:30-36.

Kawazoe U, Bordin EL, Lima CA, Dias LAV. Characterization and histopathological observations of a selected Brazilian precocious line of *Eimeria acervulina*. *Veterinary Parasitology* 2005; 131:5-14.

Kawazoe U, Di Fabio J. Resistance to diclazuril in field isolates of *Eimeria* species obtained from commercial broiler flocks in Brazil. *Avian Pathology* 1994; 23:305-311.

Kawazoe U, Figueiredo AC. Levantamento de coccidiose aviária em três granjas de frangos de corte da Região de Campinas, São Paulo, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 1990; 42:317-336.

Kawazoe U, Tomley FM, Frazoer JA. Fractionation and characterisation of organelles of *Eimeria tenella* sporozoites. *Parasitology* 1992; 104:1-9.

Köhler S, Delwiche CF, Denny PW, Tilney LG, Webster P, Wilson RJM, Palmer JD, Ross DS. A plastid of probable green algal origin in Apicomplexan parasites. *Science* 1997; 275:1485-1489.

Levine PP. *Eimeria hagani* n.sp. (Protozoa: Eimeriidae) a new coccidium of the chicken. *Cornell Veterinary* 1938; 28:263-266.

Levine PP. A new coccidian pathogenic for chickens *Eimeria brunetti* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae). *Cornell Veterinary* 1942; 32:430-439.

Levine ND, Corliss JO, Cox FEG. *et al.* A newly revised classification of the Protozoa. *Journal of Protozoology* 1980; 27:37-58.

Lillehoj HS. Immune responses to coccidian parasites. *Proceedings of 6th International Coccidiosis Conference*; 1993; Guelph, Ontario, CAN. p.11-18.

Long PL. Coccidiosis in poultry. *CRC Critical Review* 1987; 1:25-50.

Long PL, Jeffers TK. Control of chicken coccidiosis. *Parasitology Today* 1986; 2:236-240.

Rose ME. *Imunologia da Coccidiose*. Simpósio Internacional sobre Coccidiose; 1994; Santos, São Paulo, BRA. p.23-34.

Ruff MD, Reid WM. Avian coccidia. In: Kreier JP, editor. *Parasitic protozoa: gregarines, haemogregarines, coccidia, plasmodia and haemoproteids*. New York: Academic Press; 1977. p.33-69.

Shirley MW. A reappraisal of the taxonomic status of *Eimeria mivati* Edgar and Seibold 1964, by enzyme electrophoresis and cross-immunity tests. *Parasitology* 1979; 78:221-237.

Shirley MW. New methods for the identification of species and strains of *Eimeria*. In: McDougald LR, Long PL, Joyner LP, editors. Research in avian coccidiosis. Proceedings of Georgia Coccidiosis Conference; 1985; Athens, GEO. p.13- 35.

Shirley MW. Vacinas vivas: atenuadas e virulentas. Simpósio Internacional sobre Coccidiose; 1994; Santos, São Paulo. BRA. p.109-124.

Shirley MW, Smith AL, Tomley FM. The biology of avian *Eimeria* with an emphasis on their control by vaccination. *Advances in Parasitology* 2005; 60:285-330.

Tyzzar EE. Coccidiosis in Gallinaceous Birds. *American Journal of Hygiene* 1929; 10:269-383.

Tyzzar EE, Theller H, Jones E. Coccidiosis in Gallinaceous Birds. *American Journal of Hygiene* 1932; 15:319-393.

Wakelin D, Rose ME. Immunity to coccidiosis. In: Long LP, editor. *Coccidiosis of man and domestic animals*. Boca Raton: CRC Press; 1990. p. 282-305.

Weber GM. Optimum use of anticoccidial productis for efficacious prevention of poultry coccidiosis. *Proceeding of the 7th International Coccidiosis Conference*; 1997; Oxford, Inglaterra. p.51-52.

<b>Histórico</b>	<b>859</b>
<b>Habitat</b>	<b>860</b>
<b>Morfologia do parasito</b>	<b>860</b>
<i>Oocisto</i>	860
<i>Esporozoíto e Merozoíto</i>	861
<b>Ciclo de vida ultraestrutural</b>	<b>861</b>
<b>Prevalência</b>	<b>862</b>
<b>Patogenicidade e patologia</b>	<b>863</b>
<b>Diagnóstico</b>	<b>863</b>
<b>Tratamento e controle</b>	<b>864</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>864</b>

## Urara Kawazoe

Espécies do gênero *Cryptosporidium* (esporocisto escondido) têm sido observadas em uma variedade de animais e no ser humano, desde a sua primeira descrição em glândulas estomacais de camundongo de laboratório, por Tyzzer em 1907. Embora as infecções por espécies de *Cryptosporidium* tenham sido encontradas em mais de 30 espécies de aves, apenas três espécies têm sido encontradas até a momento, baseadas em diferenças biológicas e genéticas: *C. meleagridis*, *C. baileyi* e *C. galli*. Dentre estas espécies, sabe-se que apenas *C. meleagridis* infecta o ser humano. Estudos moleculares recentes identificaram seis genótipos em aves hospedeiras até o momento (Jellison *et al.*, 2004; Ryan *et al.*, 2003a; Zhou *et al.*, 2004 e Ng *et al.*, 2006). Esses genótipos podem ser encontrados tanto em aves domésticas como em aves silvestres.

## Histórico

A espécie tipo *Cryptosporidium muris*, foi descrita primeiramente por Tyzzer (1907) nas glândulas gástricas de um camundongo de laboratório. Parasito semelhante foi descrito no intestino delgado de camundongos pelo mesmo autor em 1912, considerando esta espécie diferente da descrita anteriormente, pelo fato de apresentar oocisto menor, o qual denominou *Cryptosporidium parvum*. *Cryptosporidium* foi primeiramente observado no epitélio cecal de galinha assintomático por Tyzzer (1929). Considerou esse parasita correlacionado com *C. parvum*. Apesar do relato de infecção por *Cryptosporidium sp.* em vários hospedeiros, a ação patogênica significativa não estava definida até 1955, quando Slavin descreveu uma nova espécie *C. meleagridis*, no intestino de peru, associada a doença clínica aguda caracterizada por severa diarreia com baixa mortalidade. Posteriormente, surgiu outro relato de interesse veterinário, com a descrição de infecção intestinal de *Cryptosporidium* em bezerros com diarreia (Pancieria *et al.*, 1971; Barker & Carbonell, 1974; Meuten, van Kruiningen & Lein, 1974). Desde então, numerosos casos de infecção por *Cryptosporidium* associados a doenças aguda e crônica em uma variedade de animais domésticos e silvestres, particularmente em neonatos, foram relatados. Em 1976, infecções por *Cryptosporidium* foram relatadas em dois pacientes humanos apresentando severa diarreia aquosa (Nime *et al.*, 1976 e Meisel *et al.*, 1976). A partir dessa data, muitos casos humanos de criptosporidiose têm sido descritos em indivíduos imunodeficientes causados pelo vírus HIV e em crianças imunocompetentes de menos de cinco anos de idade. *Cryptosporidium baileyi*, espécie isolada em granja comercial de frangos de corte, foi descrita em 1986 por Current *et al.* Esses autores consideraram a espécie suficientemente diferente de *C. meleagridis* considerando como uma nova espécie. Mais recentemente, outras espécies foram descritas para hospedeiros mamíferos e em 1999, Pavlasek encontrou uma nova espécie habitando somente o proventrículo das galinhas, diferente de *C. baileyi*, a qual denominou *C. galli*.

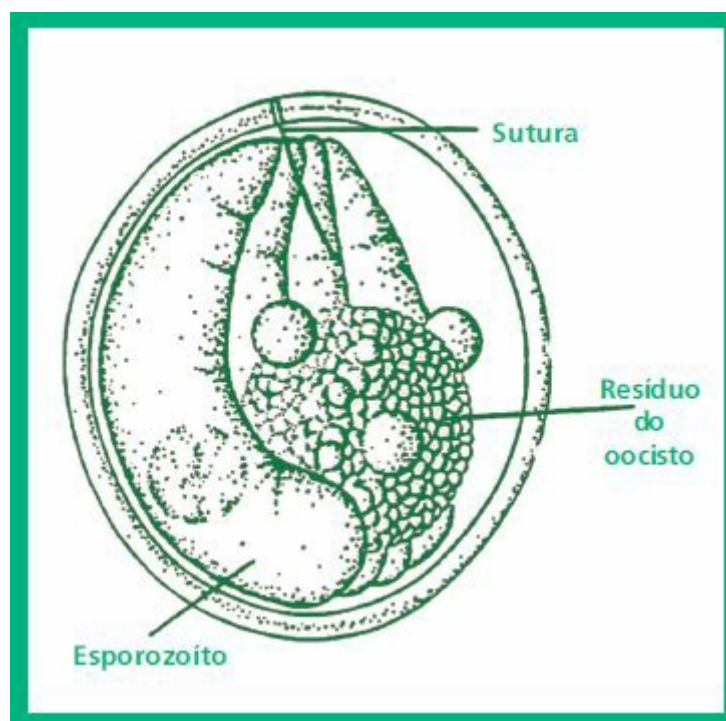
## Habitat



*Cryptosporidium meleagridis* foi encontrado no epitélio da vilosidade do terço terminal do intestino delgado do peru (Slavin, 1955). Demonstrou-se que esse parasito pode infectar outras aves como papagaio, sendo também a terceira espécie mais comum em seres humanos (Xiao *et al.*, 2004). *C. baileyi* tem sido observada nos epitélios entéricos, respiratórios e renais de galinhas. Dentro do trato entérico, o parasito foi encontrado nas glândulas salivares, proventrículo, intestino delgado, ceco, colo, cloaca e bolsa de Fabrício. No trato respiratório e tecidos óculo-nasais, os parasitos foram observados na câmara nasal, fenda palatina, seios intraorbitais, conjuntiva, laringe, traquéia, todos os níveis de brônquios e nos sacos aéreos. No trato excretório, o parasito pode estar presente na uretra, ductos coletores, túbulos coletores e túbulos distais convolutos. Essas duas espécies foram encontradas, também, em avestruz e ema (Gajadhar, 1994 e Santos, 2005). *C. galli* foi observado apenas no epitélio do proventrículo da galinha (Pavlassek, 1999), porém foi encontrado em outras espécies de aves silvestres das famílias Fringillidae, Spermestidae e espécies *Tetrao urogallus* e *Pinicola enucleator* (Ryan *et al.*, 2003).

## Morfologia do parasito

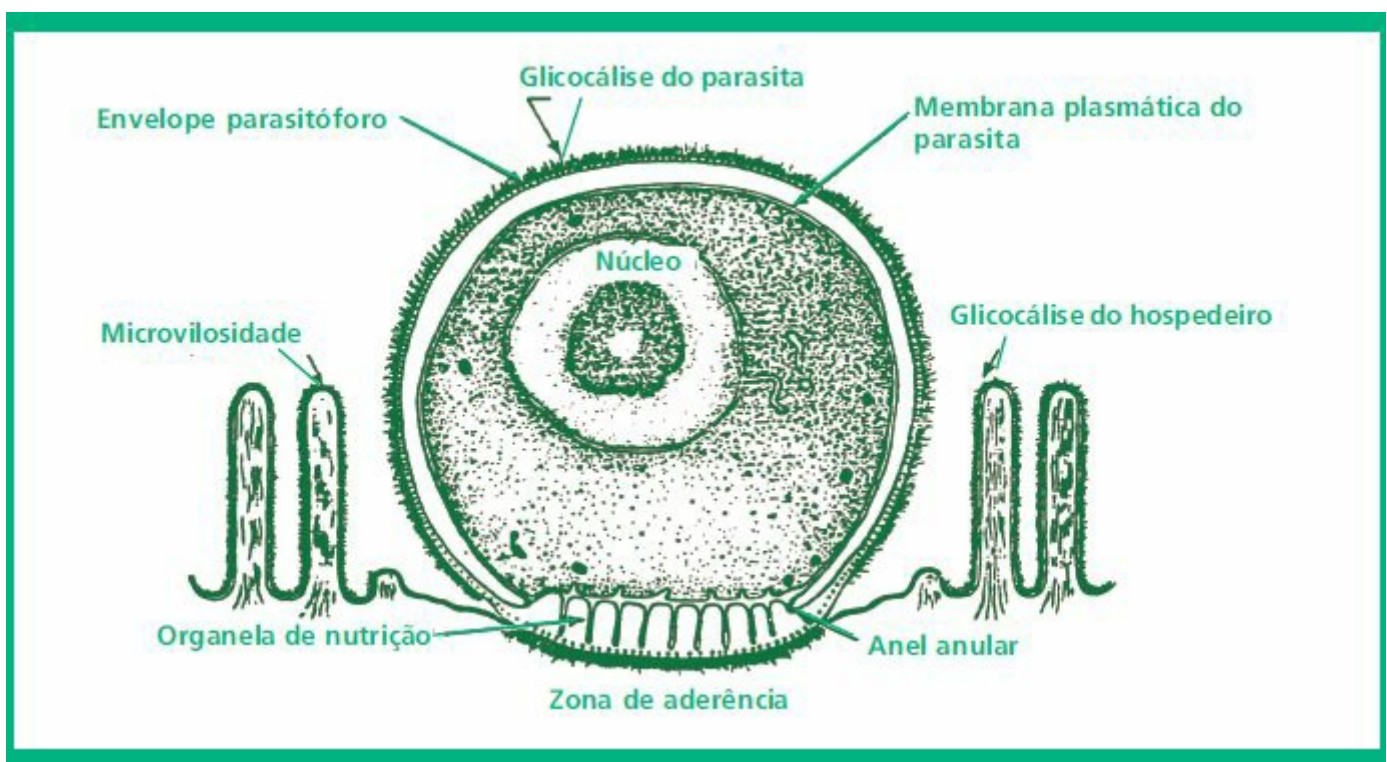
Todas as formas de desenvolvimento do *Cryptosporidium sp.* são microscópicas e menores em relação a outras espécies de coccídias entéricas. Estágios de desenvolvimento endógeno estão localizados em íntima associação com a superfície do lúmen das células epiteliais do hospedeiro. Em cortes histológicos, os parasitos aparecem como corpos basófilos pequenos, aparentemente ligados à superfície das células, às vezes, dando aparência de pontos granulares, na borda em escova da microvilosidade. As formas são esféricas ou elípticas, apresentando uma protuberância na superfície da célula. A microscopia eletrônica tem confirmado a sua localização intracelular, porém extra-citoplasmática, dentro do vacúolo parasitóforo, formado pelo envolvimento contínuo das membranas da microvilosidade. Quase todos os estágios de desenvolvimento endógeno estão confinados à superfície apical das células epiteliais, embora alguns estágios tenham sido detectados nos macrófagos, nas paredes dos capilares aéreos e no átrio das galinhas e nas células subepiteliais das membranas corioalantóides nos embriões de galinha. O parasito contém uma rara organela de aderência proeminente, na base de cada vacúolo parasitóforo. A película do parasito é dobrada repetidamente para formar uma lamela semelhante a pente denominada organela de nutrição, por Pohlenz *et al.* (1978). Esta organela está intimamente associada à zona densa de aderência, pela fusão da membrana externa da microvilosidade e da membrana plasmática epitelial. Sugere-se que a organela facilite a captura de nutrientes da célula hospedeira, pelo parasita ([Figura 1](#)).



**Figura 1** - Oocisto esporulado de *Cryptosporidium sp.*

## Oocisto

Forma final de formação do parasito na fase endógena, eliminado ao meio exterior juntamente com as fezes. A forma madura contém quatro esporozoítos alongados, sem a presença do esporocisto, uma característica deste gênero. Cada oocisto contém um resíduo que consiste de numerosos grânulos pequenos (**Figura 2**). Os oocistos de *C. baileyi* medem aproximadamente 6,2 x 4,6mm; *C. meleagridis* apresenta oocisto oval medindo 4,5 x 4,0mm (Slavin, 1955) ou 5,2 x 4,6mm (Lindsay *et al.*, 1989) em oocistos encontrados nas fezes de perus. *C. galli* apresentou oocistos de tamanhos maiores do que nas outras espécies de aves, medindo 8,25 x 6,3mm.



**Figura 2** - Representação esquemática ultraestrutural do contato hospedeiro – parasita, na superfície do epitélio intestinal, em infecção pelo *Cryptosporidium spp.* (Fonte: Pohlenz *et al.*, 1978).

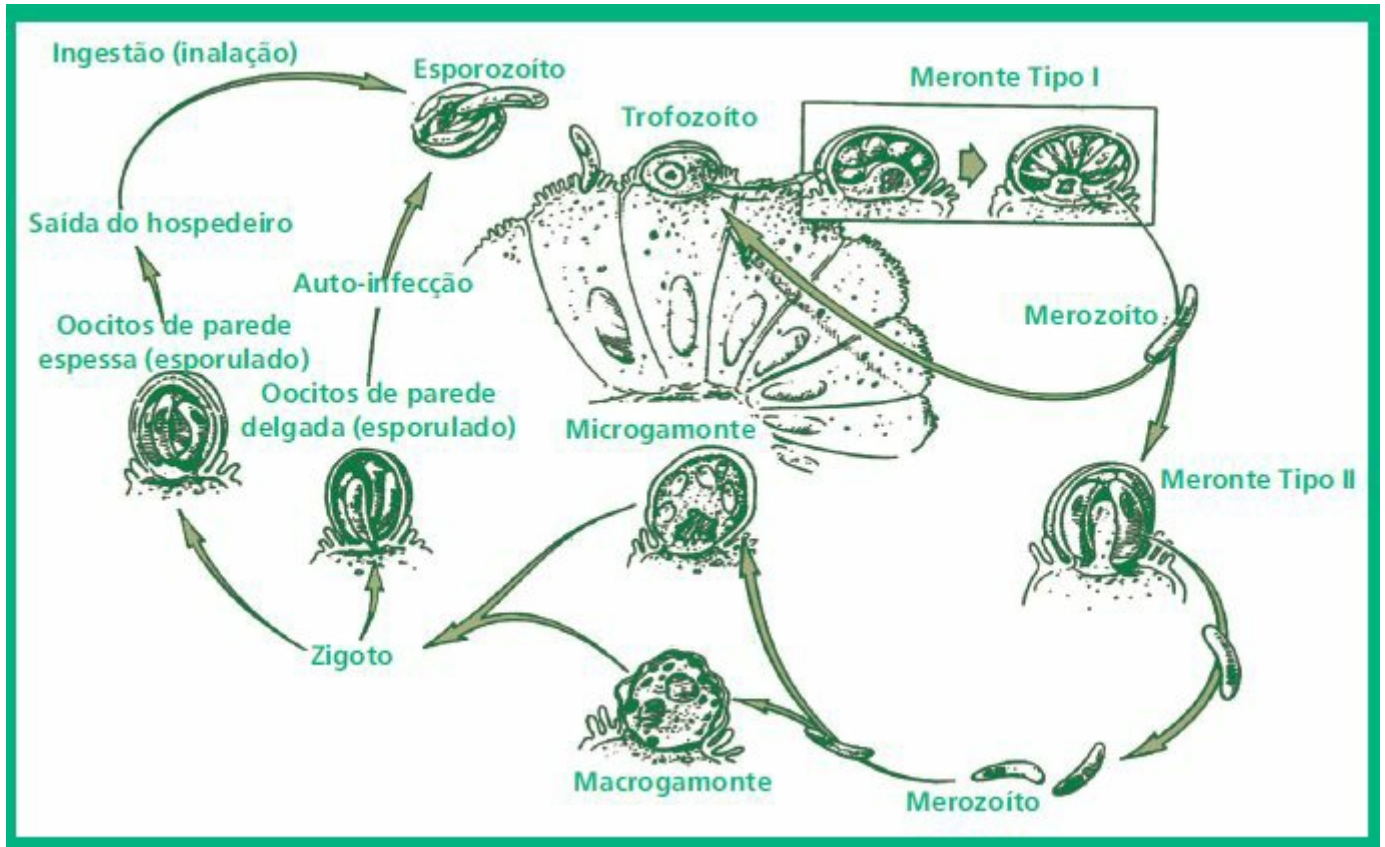
## Esporozoíto e Merozoíto

Os zoítos são semelhantes aos de outras espécies do mesmo filo, com algumas exceções: são circundados por uma película de três camadas e um complexo apical rudimentar contendo dois a três anéis apicais, apresenta estrutura elétron densa semelhante a conóide, numerosos micronemas, diversos corpos eletron densos semelhantes a roptrias e microtúbulos subpeliculares. Não contem conóide, anel polar, mitocôndria ou microporos típicos, como ocorre em outras espécies do filo Apicomplexa.

## Ciclo de vida ultraestrutural

Apresenta um ciclo monoxeno, todos os estágios de desenvolvimento (assexuados e sexuados) ocorrendo em um único hospedeiro (**Figura 3**). Os oocistos, uma vez ingeridos pelo hospedeiro, excistam no trato gastrointestinal e liberam os esporozoítos. A excistação ocorre devido a vários fatores como a redução do meio pela presença de dióxido de carbono, temperatura, enzimas pancreáticas e sais biliares. Os esporozoítos livres aderem-se às células epiteliais da bolsa de Fabrício, ceco ou traquéia. Estão encerrados dentro de um vacúolo parasitóforo de dupla membrana, conectado à membrana celular da microvilosidade. A superfície da membrana externa é formada pelo mesmo glicocálise da microvilosidade. Essas formas tornam-se arredondadas, dando origem ao trofozoíto uninucleado que desenvolve organelas de aderência e de nutrição. O trofozoíto sofre uma multiplicação assexuada dando origem ao meronte tipo I, contendo oito merozoítos em forma de banana, dentro do vacúolo parasitóforo. Os merozoítos são liberados, invadem novas células epiteliais e desenvolvem o meronte tipo II, contendo quatro merozoítos no seu interior. Esses merozoítos penetram em novas células e realizam uma terceira fase assexuada, formando o meronte tipo III contendo oito merozoítos. Posteriormente, ocorre a fase sexuada, com

formação de macrogamonte e microgamonte contendo microgametas que, após a fertilização dão origem aos oocistos. Estes desenvolvem a fase esporogônica dentro da célula hospedeira, sendo liberados à luz intestinal após a formação dos esporozoítos.



**Figura 3** - Representação Diagramática do Ciclo de Vida de *Cryptosporidium sp.* proposto por Current & Blagburn (1990). Aproximadamente 80% dos zigotos formados após a fertilização do macrogameta pelos microgametas (liberados pelo microgamonte) se desenvolvem em oocistos de parede espessa resistentes ao meio ambiente, contendo 4 esporozoítos no momento em que são liberados da célula hospedeira. Estes oocistos são as formas do ciclo de vida que transmitem a infecção a outros hospedeiros. Aproximadamente 20% dos zigotos formam oocistos de parede delgada formada por uma membrana externa com 4 esporozoítos. Estes oocistos representam as formas que realizam o ciclo de vida através da auto-infecção interna mantendo o parasita dentro do hospedeiro, sem necessidade de exposição oral no meio ambiente. O ciclo de vida do *C. baileyi*, que infecta galinha, difere do presente esquema mostrado, pela presença adicional de meronte tipo III, derivado do merozoíto tipo II.

O estudo experimental sobre o ciclo de vida de *C. baileyi*, em frangos de corte, mostrou um período pré-patente de três dias após inoculação oral (PI) para a eliminação dos oocistos e o período patente de 4 a 24 dias PI, em aves inoculadas com dois dias de idade e 4 a 14 dias em pintos inoculados com 1 e 6 meses de idade. Durante os 3 primeiros dias PI, a maioria dos estágios de desenvolvimento foi encontrado na região das microvilosidades dos enterócitos do íleo e do intestino grosso. No quarto dia PI, a maioria dos parasitas ocorreu nos enterócitos da cloaca e da bolsa de Fabrício. Merontes maduros do tipo I com oito merozoítos apareceram 12 horas PI; merontes maduros do tipo II contendo quatro merozoítos foram observados com 48 horas PI e merontes do tipo III com 8 merozoítos curtos e um grande resíduo homogêneo apareceu com 72 horas PI. Microgamontes produziram 16 microgametas sem flagelos, os quais penetraram nos macrogametas, dando origem a dois tipos de oocistos que se desenvolveram dentro da célula

hospedeira. A maioria consistia de oocistos com parede espessa, forma resistente que passa inalterado através das fezes. Alguns eram oocistos de parede delgada, cuja membrana pode se romper ao ser liberado da célula hospedeira. Esporozoítos liberados de oocistos de parede fina foram observados penetrando nos enterócitos da mucosa. Esses oocistos de parede fina, auto-infectantes e o reinício da formação do meronte tipo I, poderia explicar a razão dos pintos desenvolverem infecção intestinal severa com duração de até 21 dias. A inoculação experimental de oocistos de *C. baileyi* em outras espécies de animais como camundongo, cabra e codorna não desenvolveram a infecção nesses animais confirmando a especificidade dessa espécie apenas nas galinhas domésticas. No entanto, a infecção em peru mostrou pequeno número de formas assexuadas na bolsa de Fabrício, em 20% das aves infectadas. Dos patos e gansos jovens infectados experimentalmente, todos desenvolveram infecção severa na bolsa de Fabrício, apresentando todas as formas de desenvolvimento.

## Prevalência

Poucos estudos têm sido realizados para estabelecer a prevalência de *Cryptosporidium baileyi* em galinhas. Os levantamentos foram realizados por meio do soro da galinha, coloração das amostras de fezes por auramina-O ou através de corte histológico. O levantamento realizado com soro de frangos de corte em Delaware, Maryland e Virginia (1988) indicaram 38% de positividade em aves de 42 dias e 50% em aves de 63 dias. O exame direto do soro em 454 galpões de frango de corte foi positivo em 22% (1988). Exame de corte histológico de bolsa de Fabrício em 139 frangos de corte na Escócia foi de 18,7% de positividade (1982). Outro levantamento realizado através de corte histológico, em 1065 frangos de corte, mostrou 6,4% de positividade para *Cryptosporidium baileyi*, na Georgia, EUA (1988). Um levantamento realizado através de observação direta do parasita pelo método de auramina-O realizado na Carolina do Norte em frangos de corte (1988), mostrou positividade em 27,3% dos frangos, 10% em reprodutoras de frango de corte e 5,9% em matrizes reprodutoras. Em estudo sobre a prevalência de criptosporidiose do trato respiratório realizado na Georgia (EUA) durante o período de 1987 a 1992, demonstrou uma variação de 0,3 a 2,2% de positividade (Goodwin & Brown, 1994).

## Patogenicidade e patologia

A criptosporidiose por *C. meleagridis* em perus de 10 a 14 dias de idade, demonstrou presença de diarreia e baixa taxa de mortalidade. Por outro lado, *C. baileyi* ocorre como doença respiratória, intestinal ou renal, em galinhas. A doença respiratória é observada mais frequentemente. Sinais clínicos consistem em seqüestro respiratório pela depressão, tosse, espirro ou dispnéia. Lesões comuns observadas incluem: acúmulo de muco nas cavidades óculo-nasal, traquéia, pulmão e sacos aéreos. Aves afetadas severamente podem ficar incapacitadas quanto à locomoção, permanecendo deitadas. O lúmen dos órgãos do trato respiratório contém exudato muco-celular consistindo de células epiteliais esfoliadas, macrófagos, heterófilos, linfócitos, células plasmáticas e parasitos em desenvolvimento. Células epiteliais infetadas podem apresentar hipertrofia ou metaplasma. Frequentemente, são observados heterófilos intraepiteliais e hiperemia dos vasos. Desnudamento focal ou difuso dos cílios da traquéia resultam na diminuição ou completa perda da função respiratória muco-ciliar.

Criptosporidiose respiratória induzida experimentalmente resultou em sinais clínicos, lesões macroscópicas e microscópicas semelhantes às descritas em infecções naturais. Depressão do peso, temporariamente, foi observada durante a fase aguda da doença (duas a três semanas após infecção), embora após a recuperação não houvesse diferença significativa no peso, comparado com aves-controle não inoculadas.

Na maioria dos casos, a presença do parasito no intestino e órgãos associados, não foi acompanhada por sinais clínicos da doença. Em alguns casos, foram observadas diarreia, caquexia, fraqueza ou falha na recuperação. Nesses casos, as lesões incluíram atrofia ou achatamento da vilosidade acompanhada de infiltração das células inflamatórias na lamina própria ou vilosidade espessada e aumentada, coberto de material mucóide espesso. Criptosporidiose na bolsa de Fabrício pode resultar na hipertrofia ou hiperplasia das células epiteliais e pode estar associada com aumento na mortalidade dos frangos.

Apenas um caso de criptosporidiose renal está registrado na literatura. Os parasitos encontrados nos ureteres, ductos coletores e túbulos convolutos distais dos rins estavam associados à hiperplasia da célula epitelial e infiltração da célula inflamatória.

*C. galli* parece estar associada à doença clínica com alta taxa de mortalidade.

## Diagnóstico

O parasita poderá ser identificado através dos estágios de desenvolvimento em material fresco, fixado em formalina 10% ou acetato de sódio-ácido acético-formalina (SAF). O exame à fresco dos oocistos poderá ser feito pelo método de Sheather (flutuação em solução saturada de sacarose). A coloração dos oocistos nos fluidos exudativos ou nas fezes poderá ser realizada com corantes ácido-resistentes (Ziehl Neelson modificado, safranina-azul de metileno, auramina-O, etc). O diagnóstico poderá, também, ser realizado por meio de corte histológico do tecido infectado. Pelo fato desses exames requererem um número grande de oocistos pode-se proceder ao exame imunológico, por meio de anticorpos imunofluorescentes (IFA), utilizando anticorpos monoclonais ou policlonais. Para o método ELISA, pode-se utilizar soro anti-IgG ou anti-IgM - *Cryptosporidium*. O método tem se mostrado específico e sensível contra a fase aguda ou contra a infecção recente do hospedeiro.

Para a identificação em nível molecular, utilizada atualmente para determinar as espécies e os genótipos, são usados métodos moleculares de PCR.

## Tratamento e controle

Tentativas no tratamento efetivo da criptosporidiose com vários medicamentos como antibióticos e drogas anticoccidianas não foram eficazes. Alternativa para o controle desta doença, com a finalidade de diminuir a presença dos oocistos, foi avaliada com o uso de desinfetantes comerciais, para inviabilizar os oocistos de *C. baileyi*. A exposição dos oocistos a 50% (v/v) de amônia ou alvejante comercial em água, durante pelo menos 30 minutos, preveniu a excitação da maioria dos esporozoítos. Em um caso de diarreia e mortalidade ocorrido em codornas brancas, a prevenção foi realizada por meio de limpeza das gaiolas e exposição das mesmas em alvejantes

comerciais.

## Bibliografia

- Current WL, Blagburn BL. Cryptosporidium: Infection in man and domestic animals. In: Long PL, editor. Coccidiosis of man and domestic animals. Boca Raton: CRC Press; 1990. p. 156-185.
- Current WL, Upton SJ, Haynes TB. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *Journal of Parasitology* 1986; 33:289-296.
- Gajadjar AA. Host specificity studies and oocyst description of the *Cryptosporidium* sp. isolated from ostriches. *Parasitology* 1980; 80:316-319.
- Goodwin MA, Brown J. Incidence of respiratory cryptosporidiosis in Georgia broilers: 1987-92. *Avian Diseases* 1994; 38:358-360.
- Itakura C, Nakamura H, Uemura T, Goryo M. Ultrastructure of cryptosporidial life cycle in chicken host cells. *Avian Pathology* 1985; 14:237-249.
- Jellison KL, Distel DL, Hemond HF, Schauer DB. Phylogenetic analysis of the hypervariable region of the 18S rRNA gene of *Cryptosporidium* oocysts in feces of Canada geese (*Branta canadensis*): evidence for five novel genotypes. *Applied and Environmental Microbiology* 2004; 70:452-458.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA. Morphometric comparison of the oocysts of *Cryptosporidium meleagridis* and *Cryptosporidium baileyi* from birds. *Proceedings of Helminthological Society of Washington* 1989; 56:91-92.
- Ng J, Pavlasek I, Ryan U. Identification of novel *Cryptosporidium* genotype from avian hosts. *Applied and Environmental Microbiology* 2006; 72:7548-7553.
- O'Donoghue PJ. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *International Journal for Parasitology* 1995; 25:139-195.
- Pancieria RJ, Thomassen RW, Garner FM. Cryptosporidial infection in a calf. *Veterinary Pathology* 1971; 8:479-484.
- Pohlenz J, Bemrick WJ, Moon HW, Cheville NF. Bovine Cryptosporidiosis: a transmission and scanning electron microscopic study of some stages in the life cycle and the host-parasite relationship. *Veterinary Pathology* 1978; 15:417-427.
- Ryan UM, Xiao L, Read C, Zhou L, Lal AA, Pavlasek I. Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from the Czech Republic. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; 69:4302-4307.
- Ryan UM, Xiao L, Read C, Sulaiman IM, Monis P, Lal AA, Fayer R, Pavlasek I. The redescription of *Cryptosporidium galli* Pavlasek, 1999 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from birds. *Journal of*

Parasitology 2003a; 89:809-813.

Santos MMAB, Peiró JR, Meireles MV. Cryptosporidium infection in ostriches (*Struthio camelus*) in Brazil: clinical, morphological and molecular studies. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2005; 7:113-117.

Slavin D. *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). *Journal of Comparative Pathology* 1995; 65:262-266.

Vetterling JM, Takeuchi A, Madden PA. Ultrastructure of *Cryptosporidium wrairi* from the guinea pig. *Journal of Protozoology* 1971; 18:248-260.

Tyzzar EE. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a Coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Archive für Protistenkunde* 1912; 26:394-412.

Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clinical Microbiology Reviews* 2004; 17:72-97.

Zhou L, Kassa H, Tischler ML, Xiao L. Host-adapted *Cryptosporidium* spp. in Canada geese (*Branta canadensis*). *Applied and Environmental Microbiology* 2004; 70:4211-4215.



## Ectoparasitas e outros artrópodes importantes para a indústria avícola brasileira

<b>Introdução</b>	<b>867</b>
<b>Manejo integrado de pragas (MIP)</b>	<b>868</b>
<b>Artrópodes ectoparasitas de importância avícola</b>	<b>868</b>
<b>Artrópodes locais (Premise Pests) de importância avícola</b>	<b>868</b>
<b>Classe Arachnida</b>	<b>869</b>
<b>Ordem acarina (ácaros)</b>	<b>869</b>
<i>Ácaros hematófagos</i>	869
<i>Ácaros não hematófagos</i>	871
<b>Problemas enfrentados pelos avicultores no controle de ácaros hematófagos</b>	<b>872</b>
<b>Manejo integrado de ácaros na avicultura de postura</b>	<b>872</b>
<i>Controle cultural</i>	872
<i>Controle químico</i>	873
<i>Controle biológico</i>	874
<b>Outros métodos de controle</b>	<b>874</b>
<b>Classe insecta</b>	<b>874</b>
<b>Ordem Phthiraptera (piolhos)</b>	<b>875</b>
<i>Piolhos mastigadores</i>	875
<i>Registros de espécies de malófagos em Gallus gallus no Brasil</i>	875

<i>Importância econômica dos piolhos mastigadores</i>	876
<b>Manejo integrado de piolhos na avicultura</b>	<b>878</b>
<i>Controle cultural</i>	878
<i>Controle químico</i>	878
<i>Controle biológico</i>	879
<i>Outros métodos de controle</i>	879
<b>Ordem diptera (moscas e mosquitos)</b>	<b>879</b>
<b>Manejo integrado de moscas em aviários</b>	<b>882</b>
<i>Controle cultural</i>	882
<b>Manejo integrado de moscas em aviários</b>	<b>882</b>
<i>Controle químico</i>	884
<i>Controle biológico</i>	885
<b>Ordem Coleóptera</b>	<b>887</b>
<b>Manejo integrado do cascudinho em aviários</b>	<b>889</b>
<i>Controle cultural</i>	889
<i>Controle químico</i>	891
<i>Controle biológico</i>	892
<b>Outros métodos de controle</b>	<b>893</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>894</b>

# Ectoparasitas e outros artrópodes importantes para a indústria avícola brasileira

José Henrique Guimarães, Andreia Mauruto Chernaki Leffer

## Introdução

A produção comercial de frangos de corte e aves de postura estão entre as mais especializadas e tecnologicamente avançadas. Além de inovações tecnológicas, com automação dos setores de produção, os avanços nas áreas de nutrição e genética respondem pela maior produtividade e maior rendimento de carcaça das aves.

Os métodos para criação e alojamento desses animais são similares no que diz respeito à elevada concentração de animais por metro quadrado, havendo assim um aumento equivalente na disponibilidade de alimento (ração) e, conseqüentemente, no acúmulo de matéria orgânica.

Como exemplo, em aviários de postura as aves são confinadas em sistemas de gaiolas e nessa prática de manejo ocorre o acúmulo de esterco sob as mesmas. Em aviários de corte e de matrizes, as aves são criadas sobre a cama, composta por cepilho de madeira (ou outro material), restos de ração, penas e fezes. Como agravante, no Brasil a cama é reutilizada por até seis lotes consecutivos, que equivale a uma única troca de cama e desinfecção do aviário por ano. Nos Estados Unidos (EUA) a cama é reutilizada por 15 ou mais lotes.

O acúmulo de excretas, bem como a reutilização da cama são práticas de manejo que favorecem a entrada, permanência e multiplicação de artrópodes (do grego arthros: articulado e podos: pés, patas, apêndices).

O Filo Arthropoda é dividido em cinco classes: Arachnida, Crustacea, Diplopoda, Chilopoda e Insecta. Os artrópodes de importância em criações avícolas pertencem às classes Arachnida (ácaros da sarna e carrapatos) e Insecta (insetos). Alguns artrópodos são considerados ectoparasitas, pois passam todo ou parte do seu ciclo de vida sobre o hospedeiro onde se alimentam, como acontece com os piolhos, pulgas, percevejos e ácaros. Outros são considerados pragas locais (alojam-se nos galpões de criação) e atuam como vetores mecânicos de doenças ou causam irritação e estresse, devido a sua desagradável presença, como ocorre com as moscas, mosquitos e alguns besouros.

A presença dessas pragas avícolas aumenta os custos de produção, aumentando também os fatores que contribuem para dispersão de doenças aviárias. Nesse capítulo serão abordados temas como: distribuição, morfologia, biologia, importância econômica e controle (Manejo Integrado de Pragas - MIP) dos principais artrópodes de importância em criações avícolas.

# Manejo integrado de pragas (MIP)

O Manejo Integrado de Pragas (MIP), do inglês Integrated Pest Management (IPM) pode ser definido como o uso de todas as estratégias apropriadas para reduzir os danos causados pelas pragas, com o mínimo prejuízo ao meio ambiente. De acordo com Walker & Stachecki (1996), o estabelecimento de um programa MIP deve seguir cinco passos:



**1) Detecção.** É o primeiro passo para implementação do MIP e requer um monitoramento regular dos animais e dos alojamentos destes com relação ao aparecimento de pragas e/ou ao aparecimento de sinais ou sintomas que indiquem a presença da praga.

**2) Identificação.** Consiste em identificar a praga que está causando transtorno aos animais. O conhecimento da espécie, seu ciclo e seu comportamento são essenciais para um planejamento de controle eficaz.

**3) Importância médica e econômica.** Após detecção e identificação da espécie é importante estimar qual o prejuízo à saúde do animal e à produtividade (dano econômico) a praga pode causar.

**4) Seleção do método.** Os métodos adotados devem ser escolhidos com base na situação ou natureza do problema, onde os pesticidas podem ou não ser requeridos. As estratégias para o Manejo Interado de Pragas incluem a combinação de dois ou mais métodos de controle, tais como o método cultural, biológico ou químico.

**5) Avaliação.** É a última fase e consiste na avaliação da eficiência do método escolhido. A avaliação pode incluir a inspeção dos animais e suas instalações, com checagens regulares para saber se houve retorno das pragas e se essa ocorrência está em níveis aceitáveis.

Importante ressaltar que a diversidade de espécies de artrópodos em aviários está relacionada ao tipo de criação (postura comercial, frangos de corte, entre outros). Dessa forma, o manejo deve ser realizado de forma integrada e adaptado aos diferentes sistemas de produção para que o controle seja satisfatório.

# Artrópodes ectoparasitas de importância avícola

## 1) Classe Arachnida

### Ordem Acarina - ácaros

Famílias Dermanyssidae e Macronyssidae - Ácaros hematófagos

Família Knemidocoptidae - Ácaros da sarna

Famílias Analgidae (Analgesidae) e Pterolichidae – Ácaros das penas

## 2) Classe Insecta

### Ordem Phthiraptera - piolhos

Famílias Philopteridae e Menoponidae - Piolhos mastigadores

# Artrópodes locais (Premise Pests) de importância avícola

## 1) Classe Insecta

### Ordem Diptera - moscas

Família Muscidae

Família Calliphoridae

### Ordem Coleoptera - besouros

Família Tenebrionidae

## Classe Arachnida

Os ácaros podem ser facilmente diferenciados dos insetos mediante o reconhecimento de duas características: possuem quatro pares de pernas e corpo dividido em cefalotórax e abdome, sendo este não segmentado. Podem ser predadores ou parasitos de animais, ou podem se alimentar de matéria orgânica em decomposição, microrganismos ou vegetais. Há cerca de 35.000 espécies conhecidas no mundo, sendo cerca de 1.500 no Brasil e estimadas 5.000 no estado de São Paulo (Flechtmann & Moraes, 1999).

## Ordem acarina (ácaros)

### Ácaros hematófagos

De acordo com estatísticas da União Brasileira de Avicultura (UBA), o plantel de postura comercial foi estimado, entre janeiro e novembro de 2007, em quase 86 milhões de aves. Devido à crescente demanda por produtos avícolas, as aves de postura são criadas em regime intensivo, fornecendo ao consumidor a contínua disponibilidade de ovos em qualquer época do ano.

Em detrimento disso tem-se uma elevada densidade populacional, variável conforme o país, com cerca de 550 cm<sup>2</sup> por ave (sistemas de gaiolas convencionais), 750 cm<sup>2</sup>/ave (gaiolas enriquecidas) e 9aves por metro quadrado (sistemas de piso). A União Européia (UE) desde o ano de 2003 proibiu a construção de aviários de postura em sistema de gaiolas convencionais e até 2012 tal sistema deverá ser extinto, atendendo às legislações de bem-estar animal.

Além de prejudicar o bem-estar das aves, a elevada densidade de animais favorece a proliferação de ectoparasitas, a exemplo dos ácaros hematófagos, denominados vulgarmente de “piolhos de galinha”.

Os ácaros hematófagos são parasitos obrigatórios das galinhas e de grande quantidade de pássaros domésticos e silvestres. No Brasil as perdas causadas por esses parasitas na indústria avícola são elevadas, embora difíceis de serem estimadas por falta de coleta de dados.

Dados coletados na Geórgia, EUA, no ano de 2003 revelam que os ácaros ocupam o segundo lugar no ranking das principais pragas que causam perdas econômicas em criações de aves de postura. Os custos para controle foram estimados em 147 mil dólares e os danos por eles causados em 340 mil dólares (Guillebeau *et al.*, 2004). Na União Européia, as perdas econômicas causadas pelo ácaro vermelho são aproximadamente de 130 milhões de Euros ou 90 milhões de Libras a cada ano.

As aves parasitadas por esses ácaros apresentam-se debilitadas, com sintomas de anemia, desenvolvimento tardio e redução na produção de ovos, havendo danos indiretos, ocasionados aos operários que trabalham na granja (alergias e dermatites).

No Brasil há ocorrência de três espécies de ácaros hematófagos parasitando galinhas de postura: *Dermanyssus gallinae* (De Geer), *Ornithonyssus sylviarum* (Canestrini & Fanzago) e *O. bursa* (Berlese) (Guimarães, 1988).

### **1. *Dermanyssus gallinae***

Conhecido popularmente como “ácaro roxo”, “ácaro vermelho”, “piolho de galinha”, “pichilinga” (nordeste).

**Distribuição e ocorrência.** Cosmopolita. Descrito pela primeira vez no país em pássaros (Fonseca, 1938), no Estado de São Paulo. Em galinhas (*Gallus gallus*) foi assinalado pela primeira vez por Reis (1939), no mesmo Estado.

**Morfologia.** Apresentam escudo dorsal redondo e quelíceras que terminam em quelas (bifurcadas). A fêmea adulta mede de 0,4 a 0,7 mm de comprimento, coloração variando entre cinza e vermelho vivo, dependendo da alimentação sangüínea.

**Biologia.** Essa espécie passa a maior parte do seu ciclo fora do hospedeiro. São encontrados nos aviários formando colônias. Durante o dia agregam-se em frestas ou se abrigam sobre o esterco acumulado nas vigas do galpão, frestas das madeiras, em acúmulo de sujeiras como fezes, penas, poeira e teias de aranhas (**Figura 1**). A noite, abandonam tais esconderijos, quando procuram as aves para se alimentar, voltando ao esconderijo após o repasto sangüíneo (Harrison, 1962).



**Figura 1** - Piso de gaiola de aviário industrial de postura com colônias de *Dermanyssus gallinae* (Foto: Guimarães *et al.*, 2001).

A ovoposição inicia-se dois dias após o repasto sanguíneo e as fêmeas de *D. gallinae* são capazes de realizar até sete oviposições durante sua vida, com uma produção total de 25 ovos (Tucci *et al.*, 2005b). O ciclo biológico pode ser completado em sete dias. Os ovos dão origem a uma larva de seis pernas, que não se alimenta e após 24 horas muda para o estágio de protoninfa, que após um repasto sanguíneo, muda para o estágio de deutoninfa em 24 a 48 horas. A deutoninfa, após um curto período de descanso, muda para a fase adulta.

Esses ácaros são mais raros em construções modernas que não permitem frestas e abrigos na estrutura. Quando o hospedeiro natural não é encontrado, pode atacar outros mamíferos (incluindo o homem). Sua picada é dolorosa e irritante, provocando uma dermatite mais ou menos intensa (Hoffman, 1987). Sinais de infestação podem ser percebidos devido ao aumento do consumo de ração e diminuição da produção.

**Importância econômica.** Até o final da década de 80, essa espécie era considerada a mais importante praga da avicultura industrial de postura no Estado de São Paulo, determinando vultosos prejuízos, com redução de até 50% na produção de ovos (Guimarães, 1988).

O ataque dessa espécie, quando intenso, pode determinar anemia pela espoliação sangüínea, reduzindo a produção de ovos, podendo muitas vezes ocorrer morte das aves jovens. As aves infestadas apresentam sinais clínicos de anemia, com cristas e barbelas descoradas (**Figura 2**), perda de peso e queda na produção de ovos. Os tratadores das galinhas, quando infestados, podem apresentar irritação, alergias respiratórias e dermatites. Esses ácaros podem atuar como vetores mecânicos de doenças aviárias. Moro *et al.* (2007) comprovaram a competência vetorial do ácaro vermelho como possível veiculador de *Salmonella* Enteritidis em aviários de postura.



**Figura 2** - Anemia causada pelo ataque de *Dermanyssus gallinae* em galinhas de aviários industriais; à direita ave com crista clara, procedente de galpão infestado; à esquerda ave procedente de galpão não infestado (Foto: Guimarães *et al.*, 2001).

## 2. *Ornithonyssus sylviarum*

Conhecido como “ácaro das aves do norte”, “ácaro da pena”. Importante praga de galinhas criadas em confinamento, pombos e animais silvestres.

**Distribuição e ocorrência.** Essa espécie encontra-se distribuída em quase todas as regiões do mundo e em regiões temperadas, sendo comum em galinhas e aves silvestres. Na ausência de seu hospedeiro natural, pode algumas vezes atacar o homem, ocasionando grande prurido.

Nos Estados Unidos (EUA) é considerada a maior praga de poedeiras em gaiolas. No Brasil, foi registrada pela primeira vez em Minas Gerais, por Faccini & Massard (1974) e no Rio Grande do Sul por Ribeiro *et al.* (1996). Em levantamentos realizados em São Paulo por Tucci *et al.* (1996), esta espécie foi encontrada em 13,9 % das granjas visitadas. *O. sylviarum* passou a ser a espécie dominante de ácaro hematófago nas granjas industriais de postura no Estado de São Paulo, o que ocorreu após o espetacular sucesso alcançado no controle biológico de *Dermanyssus gallinae* com o dermáptero *Strongylopsalis mathurini* (Moreira) conhecido popularmente como tesourinha (Guimarães *et al.*, 1992).

**Morfologia.** Apresentam escudo dorsal pontiagudo e quelíceras sem quelas e finas. O adulto mede cerca de 800 µm de comprimento.

**Biologia.** Diferente do que ocorre com *D. gallinae*, esses ácaros permanecem no hospedeiro durante todo o seu ciclo de vida, formando colônias no ventre e ao redor da cloaca da ave. As penas dessas regiões ficam escurecidas devido ao acúmulo de sangue seco e de excrementos dos ácaros conferindo à ave um aspecto de suja (Matthysse, 1972) (**Figura 3**).





**Figura 3** - Região ventral de uma galinha infestada com *Ornithonyssus sylviarum* (Foto: Guimarães *et al.*, 2001).

O ciclo de vida é semelhante ao de *D. gallinae*; uma geração se completa em cinco a sete dias. Populações desse ácaro podem sobreviver além de seis semanas sem alimentação na ausência de seus hospedeiros, entretanto a média de sobrevivência é de três semanas.

**Importância econômica.** As aves infestadas apresentam sinais clínicos como anemia, com as cristas e barbelas descoradas. Os prejuízos pelo ataque de ácaros hematófagos, principalmente por *D. gallinae* no Estado de São Paulo, inclui perda de peso, queda na postura em até 30% e até a morte da ave por anemia (Tucci *et al.*, 1996).

Guillebeau *et al.* (2004) estimaram os custos causados por danos e para controle das principais pragas de animais de produção, incluindo aves, onde *O. sylviarum* ocupou o quinto lugar no ranking, com perdas de US\$ 1,6 milhão.

## Ácaros não hematófagos

### 1. *Knemidokoptes mutans*

Conhecido como “ácaro da sarna podal dos galiformes” ou “ácaro escamoso das pernas”.

**Distribuição e ocorrência.** Os ácaros da família Knemidocoptidae ocorrem provavelmente no mundo todo (cosmopolitas). No Brasil, a parasitose foi assinalada em São Paulo em 1935 e em Minas Gerais e no Rio Grande do Sul em 1943 (Guimarães *et al.*, 2001).

**Morfologia.** Os machos medem de 200 a 400  $\mu\text{m}$  e a fêmea (vivípara) 400 a 500  $\mu\text{m}$  de comprimento. Possui semelhança com *Sarcoptes scabiei*, causador da escabiose, no que se refere à forma e posição da abertura anal e genital, porém os espinhos dorsais e escamas triangulares são ausentes (Guimarães *et al.*, 2001).

**Biologia.** O ciclo biológico é semelhante ao *S. scabiei* (ciclo se completa em 10 a 13 dias). Ataca exclusivamente as pernas, provocando eriçamento, descamação, com aparecimento de crostas branco-acinzentadas, farináceas e muito aderentes (Guimarães *et al.*, 2001).

**Importância econômica.** Determinam sarnas profundas e de repercussões graves. Embora seja de

evolução lenta e pouco pruriginosa, na sua forma crônica as pernas ficam deformadas e a ave aleijada, perdendo dedos ou falanges. Os tarsos ficam com hiperqueratose, espessados e recobertos de crostas rugentas e mamelonadas.

As aves podem vir a perder o apetite e sucumbir (Guimarães *et al.*, 2001). Os ácaros da sarna podem ser diagnosticados mediante raspados profundos de pele, penas e tecido respiratório e observados ao microscópio.

## 2. *Megninia spp.*

Megninias são conhecidos como “ácaros de penas” de aves como galinhas, pombos, patos, perus e periquitos.

**Distribuição e ocorrência.** A espécie *Megninia ginglymura* (Mégnin) foi descrita na Índia, causando problemas em matrizes de corte (D’Souza *et al.*, 2001). No Brasil *M. ginglymura* e *M. cubitalis* (Mégnin) foram encontradas parasitando galinhas (Bastos & Coelho, 1962) no Estado de São Paulo (Reis, 1939; Amaral *et al.*, 1974); no Rio de Janeiro há registro de *M. ginglymura* (Waizbort *et al.*, 1987). Estudos mais recentes em uma granja de galinhas poedeiras comerciais no Município de Ourinhos - SP, revelaram intenso parasitismo por ambas as espécies (Tucci *et al.*, 2005a).

**Morfologia.** As fêmeas possuem em média 338µm de comprimento e os machos 318 µm. Nos machos o terceiro par de pernas é mais desenvolvido que as demais e os lóbulos posteriores dotados de ventosas. As pernas das fêmeas são todas similares e sem escudo histerosomal, com o bordo posterior do corpo semi-arredondado. Em ambos os sexos há apêndices em forma de espinho nos primeiros pares de pernas (Santa Cruz *et al.*, 2003).

**Biologia.** O ciclo de vida de *Megninia spp.* é ainda pouco conhecido. A maioria dos ácaros das penas é encontrada nas remiges, embora possam ser encontrados em menos abundância em retrizes e penas do corpo (Gaud & Atyeo, 1996).

**Importância econômica.** Adultos e formas jovens vivem nas penas, das quais se alimentam. As bárbulas ficam cortadas ou rarefeitas, os folículos inchados e vermelhos e o canhão recoberto de detritos (Reis, 1939).

A lesão causada pela saliva dos ácaros acarreta reações alérgicas com prurido. A serosidade que forma crostas propicia contaminação secundária bacteriana, ocorrendo frequentemente contaminação por fungos. Pode haver decréscimo de até 20% da produção de ovos devido ao parasitismo. As aves apresentam coceira constante com presença de petéquias hemorrágicas na pele e ocorrência de vesículas (D’Souza *et al.*, 2001).

Tucci *et al.* (2005a) verificaram, ao exame clínico, que aves parasitadas por megninias encontravam-se bastante debilitadas, irritadas, mal cheirosas, com penas danificadas e dermatite com secreção. Tais alterações foram encontradas na pele e penas de todo o corpo, principalmente região interna das asas. As penas haviam perdido a plumagem e em algumas regiões, como a cabeça, havia ausência de penas. Nas áreas com dermatite, a pele apresentava-se espessada, com crostas e exsudato purulento. De acordo com os dados coletados pelos autores, a queda na

produção de ovos estava na ordem de 20%.

### 3. *Struthiopterolichus* sp.

**Considerações gerais.** Alguns ácaros podem apresentar importância na avicultura. *Struthiopterolichus bicaudatus* (Gervais) (Acari: Pterolichidae) (descrito como *Gabucinia bicaudata* por Ribeiro *et al.*, 2004) foi encontrado em criações de avestruzes nos estados do Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e Minas Gerais (Faccini *et al.*, 2006). A espécie *Struthiopterolichus sculpturatus* (Hirst) foi descrita pela primeira vez por Mattos *et al.* (2007), no Rio de Janeiro em um avestruz macho, de três anos de idade, que apresentava áreas desplumadas na região das asas, com queda de penas e irritação na pele. O impacto econômico e a relação desses ácaros com seus hospedeiros são ainda desconhecidos (Faccini *et al.*, 2006).

## Problemas enfrentados pelos avicultores no controle de ácaros hematófagos

Os danos econômicos ocasionados por ácaros na indústria avícola podem ser de três tipos:

1. Estresse e anemia causados às aves, com a conseqüente redução da produtividade (queda na postura e no ganho de peso).
2. Danos diretos causados aos operários que trabalham nas granjas (irritação, alergias respiratórias e dermatites).
3. Elevados custos de controle com acaricidas, equipamentos e mão-de-obra.

## Manejo integrado de ácaros na avicultura de postura

### Controle cultural

As aves de postura são criadas em sistema fechado e por isso devem permanecer em ambientes ventilados (previne o estresse pelo calor e a disseminação de doenças) e com entrada de luz solar. Também é importante que a densidade populacional seja proporcional ao espaço e ao suprimento de alimento e água.

A troca do sistema atual de gaiolas convencionais, exigida pela União Européia, visa fornecer às aves condições de expressar comportamentos naturais como utilizar um ninho para postura, ter espaço para bater e esticar as asas, tomar banho de areia ou empoleirar. Em vista disso, as gaiolas enriquecidas e a criação de poedeiras sobre a cama são medidas mais adequadas para preservar o bem-estar das aves.

Deve ser evitado ao máximo o contato direto entre as aves parasitadas daquelas livres de ectoparasitos. Quando aves infestadas são removidas das gaiolas deve ser feita uma minuciosa limpeza e desinfecção do aviário, das gaiolas e dos equipamentos para prevenir a contaminação dos próximos lotes.

Em ácaros que vivem permanentemente sobre as aves, como *O. sylviarum* é possível monitorar as aves mediante inspeção periódica da pele, separando as penas, principalmente na região ventral da cloaca.

Importante também a inspeção dos telhados dos aviários para impedir a construção de ninhos de pombos e pardais.

Nordenfors & Chirico (2001) utilizaram armadilhas feitas com peças retangulares de papelão ondulado de três milímetros de espessura para monitorar *Dermanyssus gallinae* em aviários de postura. Segundo os autores, uma quantidade significativa de ácaros é capturada nas armadilhas, podendo ser uma alternativa viável como programa de controle.

No manejo de ácaros é também importante a manutenção da boa saúde dos animais, pois aves saudáveis são mais tolerantes a baixos níveis de ectoparasitismo que aquelas fracas ou estressadas. Dessa forma, a dieta deve ser balanceada, fornecida a intervalos regulares e em porções apropriadas.

### Controle químico

A decisão para utilização de controle químico deve ser tomada com base na idade do lote, época do ano e distribuição da infestação no aviário.

De acordo com Walker & Stachecki (1996) não é economicamente viável tratar aves velhas, pois é improvável que a população de ácaros aumente; a população aumenta em aves jovens.

Os meses mais frios do ano são aqueles que se espera uma maior infestação por ácaros porque há um maior contato corporal entre os indivíduos e também porque a concentração de calor nos ninhos favorece a procriação desses ectoparasitas.

A distribuição da infestação é igualmente importante, posto que *D. gallinae* ataca as aves somente durante a noite, enquanto *Ornithonyssus sylviarum* permanece todo o tempo sobre o corpo das aves.

Para controle de ectoparasitos de aves são utilizados, na maioria das vezes, piretróides e organofosforados.

A aplicação do inseticida (preferencialmente líquidos) para controle de *O. sylviarum* deve ser feita na região ventral, com pressão suficiente para penetrar nas penas. É recomendável fazer a aplicação no final da tarde, antes que os ovos tenham endurecido no oviduto, o que reduz o potencial de ovos trincados, garantindo sua qualidade no mercado (Walker & Stachecki, 1996).

Para controle de *D. gallinae*, que fica sobre o corpo da ave apenas durante a noite, a pulverização de inseticidas diretamente nos esconderijos, com formulações líquidas pode controlar esses ácaros sem precisar tratar as aves. Fosforados são utilizados em grande escala e de acordo com Hamscher *et al.* (2007) e Meyer-Kuehling *et al.* (2007), podem ser aplicados com sucesso para eliminar esses ácaros em aviários.

A utilização de armadilhas de papelão impregnadas com inseticidas e colocadas nos

esconderijos dos ácaros fornece bons resultados. Chirico & Tauson (2002) impregnaram armadilhas com metriphonato a 2% obtendo redução dos ácaros na ordem de 95 e 99%.

A respeito do controle se megninias D'Souza *et al.* (2001) conseguiram resultados satisfatórios mediante imersão das aves em solução de deltametrina 0,4%, pulverização das instalações com malatiom e aplicação de paratiom pó na cama das aves. O uso de cipermetrina e malatiom também fornece resultados satisfatórios, conforme Szczypel *et al.* (2003). Alguns países da América Latina têm utilizado o sulphure (azufre), produto a base de enxofre e o ácido bórico sob a forma de pulverização na cama dos aviários, para controle de Megninia.

O tratamento da sarna podal dos galiformes pode ser feito mediante imersão das pernas afetadas em solução morna de acaricida. Paralelamente se faz o tratamento do ambiente (cama, paredes, assoalhos, ninhos, madeiras e poleiros).

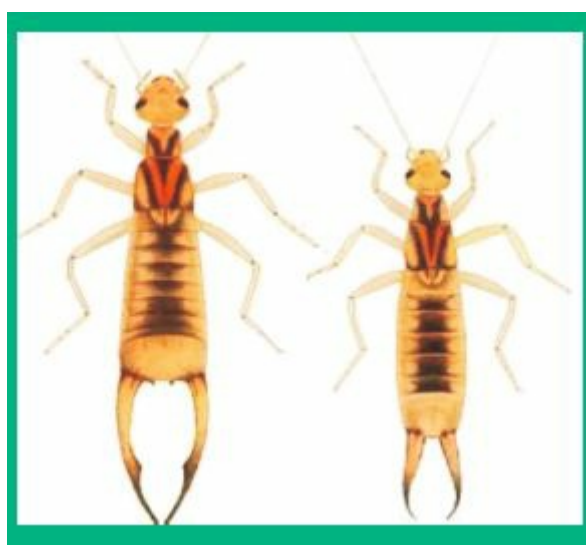
**Resistência.** A ineficácia dos acaricidas pode ocorrer por falhas na aplicação ou outros motivos, como a resistência dos ácaros aos compostos químicos. No Estado de São Paulo, *D. gallinae* apresentou resistência generalizada aos produtos químicos dos grupos dos piretróides, carbamatos e organofosforados (Guimarães, 1989). Populações de *O. sylviarum* no Sul da Califórnia apresentaram resistência ao carbaril, tetraclorvinfós, diclorvos e permetrina (Mullens *et al.*, 2004).

Além do problema de resistência, o controle químico é dificultado pela possibilidade de deixar resíduos em ovos. Segundo Hamscher *et al.* (2003), resíduos de propoxur podem ser detectados até 39 dias após o tratamento, em concentrações residuais acima do limite permitido pela União Européia (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

É importante ressaltar que o uso de químicos continua sendo uma importante ferramenta de manejo para controle de ácaros, principalmente quando os ácaros encontram-se parasitando o corpo das aves.

## Controle biológico

Na área de controle biológico, destaca-se a utilização de dermápteros predadores, conhecidos como “tesourinhas” ([Figura 4](#)).



**Figura 4** - *Labidura riparia* (Pallas) (Foto: [www.ento.csiro.au/aicn/system/c\\_1089.htm](http://www.ento.csiro.au/aicn/system/c_1089.htm) Image © free).

A Ordem Dermaptera é formada por insetos terrestres de hábitos noturnos que permanecem durante o dia em fendas na estrutura dos aviários e ao serem liberados nos galpões, passam a se alimentar dos ácaros.

A ocorrência de *Labidura riparia* Kirby (Dermaptera: Labiduridae), *Strongylopsalis mathurinii* (Moreira) (Dermaptera: Labiidae) e *Euborellia annulipes* (Lucas) (Dermaptera: Anisolabididae), em esterco de aves no Brasil foi relatada pela primeira vez por Gomes & Guimarães (1988). Prado & Gianizella (1991) confirmaram a ocorrência destas três espécies em uma granja em Monte - Mor, SP.

No fim da década de 80 foi implantado um programa de controle biológico utilizando *S. mathurinii* e com isso *D. gallinae* foi totalmente erradicado dos aviários industriais de postura no Estado de São Paulo que adotaram o programa (Gomes & Guimarães, 1988; Guimarães *et al.*, 1992; Guimarães & Tucci, 1992).

De acordo com Costa *et al.* (1994), uma outra espécie de Dermaptera, *Marava pulchella* (Serville) (Spongiphoridae) também está associada aos baixos níveis de infestação de *D. gallinae* em áreas de criação de aves de postura.

É recomendável não utilizar produtos químicos por algum tempo antes da liberação das tesourinhas nos galpões. As colônias de *Dermanyssus* aí encontradas poderão ser controladas com a aplicação do óleo mineral OPPA ou similar, a fim de reduzir a população do ácaro, não deixando, contudo, resíduos tóxicos nas instalações (Guimarães & Tucci, 1992).

As tesourinhas deverão ser liberadas nos galpões, preferencialmente no esterco seco acumulado sob as gaiolas, aonde irão se multiplicar, alimentando-se da ração que cai no piso do galpão, logo abaixo dos comedouros. Durante a noite, os dermápteros sobem pelas vigas do galpão e irão preda ativamente os ácaros que aí se encontram, reduzindo drasticamente sua população, até a sua completa erradicação no galpão.

## Outros métodos de controle

A utilização de óleo diesel ou óleo queimado nas instalações pode controlar os ácaros por até três meses, mas seu uso contínuo não é recomendado por ser tóxico às aves, podendo também deixar resíduos nos ovos.

Na Noruega, Gjevre (2002) relatou que a combinação de dióxido de sílica (SiO<sub>2</sub>) (produto à base de terra diatomácea) somado ao aquecimento do aviário durante o vazio sanitário (55°C) fornece bons resultados para o controle do ácaro vermelho.

Em Cuba, o óleo de nim (*Azadirachta indica*) foi utilizado como controle alternativo de *M. ginglymura*, obtendo-se 100% de eficácia após 30 dias de tratamento (Larramendy *et al.*, 2003; 2004). Lundh *et al.* (2005) demonstraram a eficácia do óleo de nim quando impregnado em armadilhas de papelão, com redução de 92% de *D. gallinae*.

## Classe insecta

Os insetos são animais que apresentam simetria bilateral, corpo segmentado e dividido em cabeça, tórax, abdome. Três pares de pernas (hexápodos), um par de antenas, dois pares de asas e exoesqueleto quitinoso. A classe Insecta é formada pelo grupo mais diverso de organismos terrestres, representando, aproximadamente, 80% de todas as espécies animais conhecidas.

Os insetos pragas da avicultura comercial podem ser hematófagos (alimentam-se de sangue) ou onívoros (alimentam-se de diversos alimentos animais ou vegetais) e serão descritos a seguir.

## Ordem Phthiraptera (piolhos)

Os piolhos são ectoparasitas de aves e mamíferos, pertencentes à Ordem Phthiraptera, com 4900 espécies descritas (Price *et al.*, 2003). Cerca de que 2300 ou mais espécies têm as aves como hospedeiros (Smith, 2001).

Os Phthiraptera (antiga Ordem Mallophaga) que acometem as aves comerciais de postura são os piolhos mastigadores, pertencentes às subordens Ischnocera e Amblycera.

Esses insetos possuem peças bucais adaptadas à mastigação e cabeça mais larga que o tórax, características que os diferenciam dos piolhos hematófagos, que ocorrem apenas em mamíferos.

### Piolhos mastigadores

**1. Subordem Amblycera (Família Menoponidae):** *Menacanthus stramineus* (Nitzsch); *M. pallidulus* (Neumann); *M. cornutus* (Schommer); *Menopon gallinae* (Linnaeus).

**2. Subordem Ischnocera (Família Philopteridae):** *Cuclotogaster heterographus* (Nitzsch); *Goniocotes gallinae* (De Geer); *Goniodes dissimilis* Denny; *Goniodes gigas* (Taschenberg); *Lipeurus caponis* (Linnaeus)

### Registros de espécies de malófagos em *Gallus gallus* no Brasil

A diversidade de piolhos mastigadores que afetam as aves domésticas tem sido alterada na

medida em que a indústria avícola evoluiu da criação de fundo de quintal para os modernos sistemas de confinamento. As mudanças no manejo para o sistema de confinamento foram favoráveis a algumas espécies que sobrevivem no ambiente sombreado e desfavorável para um grande número de espécies que parasitam aves criadas soltas.

Apesar dos piolhos mastigadores serem facilmente encontrados parasitando aves, os estudos das espécies que atualmente parasitam aves em aviários industriais de postura no Brasil são escassos.

Os gêneros de malófagos registrados como parasitas de aves no Brasil são *Menacanthus* (*M. stramineus*, *M. pallidulus*, *M. cornutus*), *Goniodes* (*G. gigas* e *G. dissimilis*), *Goniocotes* (*G. gallinae*), *Menopon* (*M. gallinae*), *Lipeurus* (*L. caponis*) e *Columbicola* (Reis *et al.*, 1934; Vaz, 1935; Oliveira & Ribeiro, 1990).

Figueiredo *et al.* (1994) estudaram a biologia e ecologia de malófagos em 44 aviários de postura comercial no Estado de São Paulo, verificando que *M. cornutus* foi a espécie mais prevalente, seguido por *M. stramineus*, *M. gallinae* e *M. pallidulus*. *M. cornutus* foi registrado no Rio Grande do Sul por Oliveira & Ribeiro (1990).

Em Campo Grande - MS, há registro das espécies *Goniodes*, *Goniocotes*, *Lipeurus*, *Menacanthus* e *Menopon* em *Gallus gallus* (Araujo *et al.*, 1999). No Rio de Janeiro as espécies registradas são *M. gallinae*, *G. gallinae*, *G. dissimilis*, *Colpocephalum turbinatum*, *Cuclotogaster heterographus* e *M. pallidulus* (Oliveira *et al.*, 1999).

Em São Paulo e Rio de Janeiro, Pinto *et al.* (2001) estudaram a ocorrência de piolhos mastigadores em galinhas caipiras, relacionado com a cor da plumagem. *M. stramineus*, *G. gigas*, *G. dissimilis* e *L. caponis* foram encontrados, sendo que *M. gallinae* foi a espécie mais frequente e ocorreu principalmente em galinhas de plumagem branca.

No Rio Grande do Sul, município de Arroio Grande, foram registradas as espécies *G. gallinae*, *Lipeurus* sp. e *M. gallinae* em *Numida meleagris* (Linnaeus, 1758) (Galinha d' Angola) (Ribeiro *et al.*, 2003).

Em Minas Gerais, Santos-Prezoto *et al.* (2003) fizeram um estudo sobre ectoparasitas em galinhas domésticas, relacionando com os locais do corpo onde os insetos foram encontrados, observando diferenças. Dos exemplares de *M. gallinae* coletados, 52,07% estavam localizados no peito e 19,92% nas coxas. Na espécie *G. gallinae* 60,72% estavam concentrados no peito e 18,26% nas coxas. *G. gigas* estavam mais concentrados no peito (76,29%) e dorso (21,02%), enquanto que *L. caponis* foi encontrado exclusivamente nas penas do pescoço, asas e cauda.

Os relatos mais recentes, com levantamento da entomofauna de piolhos mastigadores no Brasil se referem às aves silvestres (Silva *et al.*, 2004; Valin *et al.*, 2006), demonstrando a necessidade de maiores estudos sobre piolhos mastigadores na avicultura comercial no Brasil.

Trabalhos mais recentes a respeito de malófagos podem ser encontrados na literatura internacional (Naheed *et al.*, 2004; Vazirianzadeh *et al.*, 2007). Cooper & El-Doumani (2006) descreveram o piolho *Struthiolipeurus struthionis* que parasita penas de avestruzes, resultando em lesões de pele, prurido e excessiva perda de penas.



## Importância econômica dos piolhos mastigadores

Os malófagos são insetos altamente especializados para viver sobre seus hospedeiros e essa alta especificidade não é vista na maioria dos outros insetos ectoparasitos. Alimentam-se de descamações epiteliais, penas, secreções sebáceas e, em algumas espécies, de sangue (Wilson, 1933; Crutchfield & Hixson, 1943).

A importância econômica dos piolhos varia de acordo com a espécie e também de acordo com o estado geral das aves (Cicchino & Castro 1998).

Na Georgia, EUA os custos para controle de piolhos em criações de aves de postura no ano de 2003 foram de US\$ 21 mil, porém os custos relativos aos danos não foram relatados (Guillebeau *et al.*, 2004).

Os estudos referentes ao efeito do parasitismo dos piolhos sobre as aves de postura são conflitantes, o que muitas vezes dificulta a contabilização dos danos. Autores como Warren *et al.* (1948) e Stockdale & Raun (1960) não detectaram diferenças na produção de ovos entre aves infestadas e aves não infestadas por *Menacanthus stramineus*. Gless & Raun (1959) observaram uma queda na produção de ovos de 15%, em um período de 14 semanas, por infestação com essa espécie, sem se registrar, contudo, variação no peso dos ovos. De Vaney (1976) observou, em condições de laboratório, que galinhas confinadas em gaiolas apresentavam queda no consumo alimentar, com perda de peso e redução na postura quando parasitadas por malófagos.

Em linhas gerais, o parasitismo intenso por piolhos determina uma irritação contínua devido à intensa coceira, contribuindo para a diminuição no consumo de alimento e conseqüentemente perda de peso, redução da postura e baixa resistência a doenças.

Além do dano direto os piolhos podem atuar como vetores de doenças. Prelezov & Lyutskanov (2002) estudaram a microflora bacteriana externa e interna das espécies *M. gallinae*, *M. stramineus*, *M. cornutus* e *Goniocotes gallinae*. Foram isolados da superfície do corpo e das vísceras dos piolhos, respectivamente, cinco e três gêneros de bactérias, porém nenhuma considerada patógeno de importância aviária.

Nyaile *et al.* (2003) relacionaram a existência de infestações por ectoparasitas à infecções devido à bronquite infecciosa viral. Os ectoparasitas encontrados foram os piolhos *M. gallinae*, o ácaro vermelho *Dermanyssus gallinae* e a pulga *Echidnophaga gallinacea* e 52% das amostras de soro de aves testadas foram positivas para o vírus da bronquite infecciosa.

Além de atuar diretamente como vetor, o aparecimento de doenças pode ocorrer simplesmente pela atividade dos piolhos sobre as aves, que ficam irritadas, debilitadas e, conseqüentemente, imunocomprometidas. A megabacteriose, causada pelo fungo *Macrorhabdus ornithogaster* é uma doença que causa até 100% de mortalidade e tem sido diagnosticado em aves imunodeprimidas, devido a doenças ou devido a infestação de piolhos ou ácaros (Martins *et al.*, 2006).

O sistema de criação de aves em confinamento, em gaiolas, agrava o efeito negativo do parasitismo por ectoparasitas (Figueiredo *et al.*, 1993). Segundo Fabiyi (1980), as aves criadas no sistema intensivo possuem menor diversidade de espécies de malófagos e um maior nível de

parasitismo. As aves criadas no sistema extensivo em terreiro possuem maior diversidade de parasitos, mas, em compensação, menor índice de parasitismo.

Os fatores que aumentam os efeitos adversos do parasitismo incluem:

- a) Alta densidade de aves no sistema de confinamento.
- b) Debicagem.
- c) Retirada de alimento para aumentar o período de postura.
- d) Baixa luminosidade solar.
- e) Impossibilidade das aves tomarem banhos de terra.

Com relação ao item debicagem, aves debicadas apresentam maior grau de infestação por *M. stramineus* quando comparadas com aves com bicos intactos (Brown, 1972). Quanto maior a deformidade causada pela debicagem, maior o grau de parasitismo.

A prática de manejo de muda forçada em poedeiras comerciais também influencia o grau de parasitismo. Figueiredo *et al.* (1993) verificaram que galinhas que passavam por muda forçada, nas quais ocorria grande perda de pena, havia posteriormente maior número de parasitos. Segundo esses autores, as penas recentes, além de constituírem novos locais de postura para os piolhos, possibilitavam melhores condições para eclosão do que as penas antigas já tomadas por ovos ou suas cascas.

## 1. *Menacanthus stramineus*

**Distribuição e ocorrência.** Cosmopolita. Conhecido como “piolho do corpo”, essa espécie parasitava originalmente perus (Emerson, 1956). Figueiredo & Guimarães (1989) coletaram uma ave fortemente parasitada com 1082 piolhos dessa espécie. Nos EUA é considerado, juntamente com *Menopon gallinae* a espécie de maior importância econômica (De Vaney, 1986).

**Morfologia.** Adultos possuem 3 a 4 mm de comprimento, coloração amarelo-pálida, com duas fileiras de cerdas longas e curtas nos segmentos abdominais; Tórax mais largo que abdômen; Fronte provida de processo espinhoso recurvos para trás e para baixo; Abdome alargado na extremidade posterior; Antenas com quatro artículos; Possuem palpos.

**Biologia.** O ciclo completo (ovo, ninfa I, II, III e adulto) ocorre sobre o hospedeiro, com duração de duas a três semanas. Os ovos ficam aderidos à base das penas, principalmente na região ventral, eclodindo entre quatro a sete dias e passando por três estágios ninfais. Alimentam-se das barbas e bárbulas das penas, porém, Nelson (1972) relaciona dois autores que observaram que os malófagos podem se alimentar de sangue ao perfurar a pele das aves.

Em altas infestações os piolhos são observados no peito, cabeça, embaixo das asas e outras regiões do corpo, como a cloaca. A transmissão ocorre por contato direto entre as aves. Pode ocorrer anemia devido às lesões provocadas.

**Importância econômica.** A infestação por piolhos, conhecida como pediculose, causa severa irritação nas aves. Populações de *M. stramineus* podem alcançar até mais de 35 mil indivíduos por ave. A pele fica inflamada, com formação de crostas. Em elevadas infestações ocorre perda

de peso, atraso no desenvolvimento e morte de aves jovens. Nesses casos observam-se fissuras e microhemorragias na região da cloaca. Essa espécie e *Menopon gallinae* podem veicular o vírus Bedsonia, responsável pela ornitose das galinhas (Linardi, 2001).

Alterações hematológicas em aves devido ao parasitismo por *M. stramineus*, *M. cornutus*, *M. gallinae* e *Goniocotes gallinae* foram estudadas por Prelezov *et al.* (2002) em *Gallus gallus domesticus*. Os autores detectaram alterações qualitativas e quantitativas nas células sangüíneas, sendo estas, mais evidentes no período onde houve uma maior infecção por piolhos, o que ocorreu no mês de setembro.

Prelezov *et al.* (2006) estudaram a taxa de mortalidade e mudanças patomorfológicas nos tecidos de galinhas infectadas com piolhos das espécies *M. stramineus*, *M. cornutus*, *M. gallinae* e *G. gallinae*. A taxa de mortalidade foi de 25% e múltiplas feridas e hemorragias foram macroscopicamente observadas na superfície da pele. Histologicamente, em todas as camadas cutâneas foram observados hiperemia dos tecidos, hemorragias, hemosiderose, pseudo eosinofilia e infiltração histiocítica. Também ocorreu inflamação do intestino. Os autores relataram que as alterações sistêmicas de sensibilização e intoxicação que ocorreram no organismo das aves resultaram da infestação dos piolhos.

Em aves em confinamento, essa espécie é a que ocasiona maiores prejuízos econômicos.

## 2. *Menacanthus cornutus*

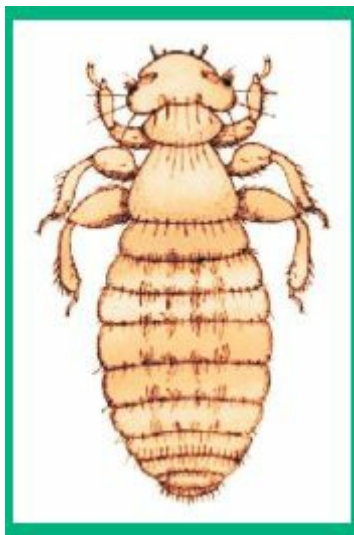
**Considerações gerais.** Essa espécie é um ectoparasita específico de *Gallus gallus* (Emerson, 1956). A postura é realizada nas penas próximas à pele e parece estar bem adaptada ao parasitismo de aves criadas em gaiolas ou ambientes sombreados.

Em aviários industriais no Brasil essa espécie é a mais comum. Figueiredo *et al.*, (1993) observaram que 89% das aves de postura em Bastos, SP, estavam parasitadas por essa espécie. Segundo Njunga (2003), o tratamento contra *M. cornutus* apenas pode aumentar a produção de ovos em

## 3. *Menopon gallinae*

**Considerações gerais.** Essa espécie conhecida popularmente como “piolho da haste” é encontrada preferencialmente ao longo das hastas das penas do peito ou das coxas, embora Sayeed *et al.* (2005) encontraram essa espécie pelo corpo inteiro em aves domésticas. É uma das espécies mais frequentes em galinhas, sobretudo as adultas. Raramente é patogênica, mas em altas infestações danificam as penas.

Na presença da luz, *M. gallinae* (**Figura 5**) abandona rapidamente as penas e caminha rapidamente sobre a pele dos hospedeiros. Alimenta-se de sangue e bárbulas das penas. Seegar *et al.* (1976) consideram essa espécie como hematófaga.



**Figura 5** - *Menopon gallinae* (Linnaeus). (Foto: [www.ento.csiro.au/aicn/system/c\\_1089.htm](http://www.ento.csiro.au/aicn/system/c_1089.htm). Image © free).

#### 4. *Lipeurus caponis*

**Considerações gerais.** Conhecido como piolho da asa, provavelmente cosmopolita. Sua ocorrência no Brasil foi registrada nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro (Pinto *et al.*, 2001) e Mato Grosso do Sul (Araújo *et al.*, 1999). É um inseto pouco ágil, sendo encontrado frequentemente preso às bárbulas da pena da asa próximo à haste. Islam *et al.* (1999) diagnosticaram infestações de *L. caponis* em poedeiras resultando em 100% de morbidade. As aves apresentaram queda na produção de ovos de 10,2% a 24,5%.

## Manejo integrado de piolhos na avicultura

### Controle cultural

O controle cultural, como abordado para manejo dos ácaros, inclui prover as aves de alimentação e nutrição adequadas, alojamentos respeitando a densidade de aves por metro quadrado, ambiente limpo, arejado, com baixa umidade.

Outro fator de importância em ambientes confinados é separar os animais infestados daqueles livres de piolhos.

As aves criadas em regime extensivo sofrem menos parasitismo por piolhos que as criadas confinadas devido aos seguintes fatores, que contribuem para um controle natural dos piolhos:

- a) Manutenção dos bicos intactos: em poedeiras, a prática da debicagem favorece o parasitismo, pois as aves não conseguem retirar os insetos.
- b) Presença de luz solar.
- c) Possibilidade das aves tomarem banhos de terra.
- d) Baixa densidade populacional.

Sendo a debicagem um fator relevante para o aumento populacional dos piolhos, Mullens (2006) conduziu testes utilizando linhagens criadas para serem dóceis, de maneira que possam ficar junto

às outras em gaiolas sem necessidade de fazer a debicagem. O autor observou que as galinhas com bicos intactos foram hábeis a manter a população de piolhos e também de ácaros a níveis três a 10 vezes mais baixo que aquelas com bicos cortados. O desenvolvimento de linhagens mais dóceis está sendo investigado, mas o autor acredita que esta seria uma maneira de reduzir custos com a debicagem, custos de aplicação de inseticidas, bem como reduzir a exposição dos animais e do homem a esses químicos.

## Controle químico

O uso de inseticidas para o controle destes parasitos se faz necessário em caso de parasitismo intenso, aproveitando-se o manejo indicado para o controle dos ácaros.

O período reprodutivo das aves é considerado de grande importância na infestação de piolhos, pois há um maior contato corporal entre os indivíduos e também porque a concentração de calor nos ninhos favorece a procriação dos insetos (Chandra *et al.*, 1988). Embora as temperaturas elevadas favoreçam o processo reprodutivo destes ectoparasitos, nos meses de inverno se observa maiores infestações.

Muito antes de surgir a polêmica sobre os prejuízos econômicos causados pelos malófagos, vários autores já se preocupavam com seu controle. Os banhos de pó, indicados antigamente, não se mostravam eficazes e recomendações drásticas passaram ser feitas, como o uso do fluoreto de sódio (Edgar *et al.*, 1949).

Atualmente uma variedade de agentes químicos é usada para controle de infestações de piolhos em aves domésticas, tais como os carbamatos (carbaril), piretróides (cipermetrina, permetrina), organofosforados (triclorfom, diclorvós, malatim coumafós), DDT em pó, lindano e BHC, fenol, cresóis, pestoban e diversos produtos herbáceos (Khan *et al.*, 2003).

Os compostos organoclorados como o DDT e o lindano, embora considerados ultrapassados por causa de sua toxicidade, resistência adquirida, elevado poder residual e outros efeitos adversos ainda são utilizados para o controle de pequenos insetos como piolhos, pulgas e percevejos. Em 1995 foi publicado pela OMS um informe técnico declarando que o DDT pode continuar sendo utilizado no controle de mosquitos vetores da malária e outras doenças transmitidas por artrópodes, desde que se cumpram as seguintes condições: seja empregado unicamente em interiores; seja eficaz; sejam adotadas as regras de segurança necessárias; sejam levados em conta o custo do produto a ser utilizado, a disponibilidade de inseticidas alternativos e a possibilidade do aparecimento de insetos resistentes (OMS, 1995).

Compostos clorados como o lindano e BHC são tradicionalmente empregados para controle da pediculose. Em galinhas é recomendável sua utilização na concentração de 0,003% para banhos e 0,8% para pulverização (Linardi, 2001). Islam *et al.* (1999) relataram que um único tratamento, por imersão, com hexacloro gama benzeno 1% foi efetivo para o controle de *L. caponis*. Misturas de inseticidas são eficazes (Frolov *et al.*, 1979) e o uso de ivermectinas também é recomendado para controle da pediculose (Hotson, 1982).

Os piolhidas apresentados sob forma de pó molhável ou concentrado emulsionável são aplicados diretamente sobre o corpo das aves. Inseticidas em pó ou outras formulações devem ser

aplicados nas gaiolas, ao mesmo tempo em que as aves são tratadas, caso contrário não haverá um controle efetivo. Os tratamentos são feitos duas vezes por semana, durante três a quatro semanas.

**Resistência.** Em diversos países os piolhos apresentam resistência ao DDT, carbaril, lindano, malatim e permetrina.

## Controle biológico

O controle biológico de piolhos em aves é pouco empregado. Alguns trabalhos foram realizados utilizando *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) (Hoffman & Gingrich, 1968; Lonc & Lachowicz, 1987).

De acordo com Almeida (2006), os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., ambos pertencentes à família Moniliaceae, representam também uma boa alternativa de controle de piolhos em animais domésticos.

## Outros métodos de controle

Figueiredo & Guimarães (1989) testaram, com grande sucesso em laboratório, a sílica aerogel sobre malófagos em galinhas de postura.

Das *et al.* (1993) verificaram a eficiência do Pestoban-D, composto herbáceo contendo extrato de *Cedrus deodara*, *Azadirachta indica* e *Embelia ribes*. Os autores verificaram mortalidade de até 100% de adultos e ninfas de *M. gallinae* e *L. caponis* 24 h após o tratamento.

Inseticidas compostos por uma série de nitrovinil furano sintetizado do furfural foram testados em diferentes concentrações contra *M. gallinae* em laboratório, obtendo-se 100% de mortalidade duas horas após a aplicação, cujo efeito se estendeu por 12 horas. Resultados similares foram obtidos usando extrato de nicotina obtido de sobras de indústrias de tabaco (Rodriguez-Antelo *et al.*, 1997).

O óleo de Nim foi avaliado para controle de *M. gallinae* em galinhas, com eficácia de controle de 100% obtida após 30 dias do último tratamento (Larramendy *et al.*, 2004).

Waka *et al.* (2004) em um estudo etnobotânico para testar plantas tradicionalmente usadas contra insetos em três regiões da Eritrea, Africa, avaliaram as plantas *Neorautanenia mitis* e *Calpurnea aurea* (Fabaceae) no controle de piolhos em animais, concluindo que apesar de apresentarem pouca atividade sobre piolhos mastigadores, as plantas têm um potencial para o controle como complemento de outros métodos estratégicos de combate a tais artrópodes.

A planta medicinal *Tagetes minuta* (Asteraceae) possui atividade inseticida contra o piolho humano, *P. humanus capitis* (Cestari *et al.*, 2004). Geralmente, os mesmos métodos de controle para anopluros podem ser empregados para os piolhos mastigadores.

## Ordem diptera (moscas e mosquitos)

A Ordem Diptera é composta por insetos conhecidos como moscas e mosquitos. Esses insetos

desenvolveram, ao longo dos anos, estreitas relações com o ambiente urbano, tornando-se sinantrópicos. O termo sinatropia ou domiciliação pode ser definido com a habilidade de algumas espécies em conviver em condições ambientais criadas ou modificadas pelo homem (Nuorteva, 1963).

Os insetos sinantrópicos apresentam importância médica e veterinária, estando associados à veiculação de patógenos ao homem e animais (Chow, 1940).

No meio rural, os sistemas de criação de produção de animais em confinamento em altas densidades favorece a ambientalização de moscas. Muitas espécies se criam no esterco acumulado, representando ameaça à saúde humana e animal por serem vetoras de germes patogênicos e causadores de incômodo.

A presença de moscas em aviários é mais comum em aviários de postura que em aviários de corte. Esse fato se deve ao fato de que as moscas necessitam de matéria orgânica com elevado teor de umidade (acima de 70%) para completar o desenvolvimento de sua fase larval (Peck & Anderson, 1969). Em criações de aves de postura comercial isso é conseguido pelo acúmulo de excrementos depositados abaixo das gaiolas de confinamento, o que não ocorre em aves criadas sobre a cama, desde que esta esteja com baixa umidade.

Em aviários de postura a maior produção de moscas ocorre:

- a) Em fezes acumuladas recentemente sob as gaiolas, que apresentam alto teor de umidade.
- b) No esterco acumulado que se forma abaixo dos pisos dos galinheiros de matrizes.
- c) Nos restos de esterco que são deixados embaixo dos aguadores nas criações de perus, matrizes e poedeiras.
- d) Nas áreas onde o esterco é molhado pela água da chuva ou por vazamentos no sistema de aguamento.
- e) Nos pontos úmidos onde caem restos de ração e nos pontos onde caem e se quebram ovos no chão e no esterco.

A espécie mais comum em aviários e áreas urbanas é a *Musca domestica*. Entretanto, outras espécies também ocorrem em aviários de postura comercial.

Avancini & Silveira (2000) descreveram a presença das seguintes espécies da família Muscidae: *M. domestica* (Linnaeus), *Muscina stabulans* (Fallén) e *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus) e da família Caliphoridae: *Chrysomya putoria* (Wiedemann) e *C. megacephala* (Wiedemann) em um aviário de postura comercial em Monte Mor, Estado de São Paulo. Outra espécie da família Muscidae encontradas em abundância em granjas avícolas é *Ophyra aenescens* Wiedemann, 1830 (Moon & Meyer, 1985).

Califorídeos do gênero *Cochlyomyia* foram registrados por Araujo *et al.* (1999).

Monteiro & Prado (2000; 2006) capturaram a espécie *Fannia pusio* da família Fanniidae e moscas da família Sepsidae.

Larvas de *Hermetia illucens* (Stratiomyidae) também são comumente encontradas em esterco

úmido (Monteiro & Prado, 2006).

No Rio Grande do Sul, Bicho *et al.* (2004) estudaram a flutuação populacional de dípteros em um galpão de poedeiras. As espécies encontradas foram: *Coproica* sp. Rondani, *Telomerina flavipes* (Meigen) e *Ischiolepta scabricula* (Haliday), pertencentes à família Sphaeroceridae; *Drosophila repleta* Wollaston e *D. melanogaster* Meigen, da família Drosophilidae; *Dohrniphora cornuta* (Bigot) (Phoridae); *Lestodiplosis* sp. (Cecidomyiidae); *Muscina stabulans*, *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans* (Muscidae); *Telmatoscopus albipunctatus* Williston (Psychodidae); *Rhegmoclema* sp. (Scatopsidae) e *Fannia canicularis* (Fanniidae).

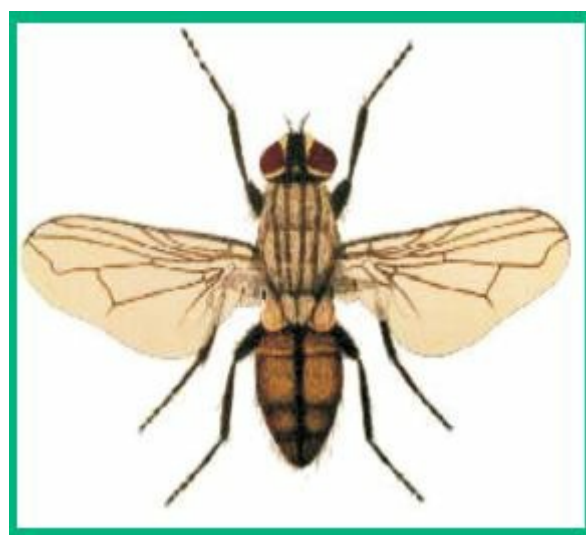
Além de moscas a presença de mosquitos pode comprometer a saúde das aves. Em criações de perus George *et al.* (2004) observaram uma persistente infestação de *Stomoxys* sp. durante o dia e de mosquitos da espécie *Culex pipiens* (Culicidae) durante a noite. Os autores descreveram a presença de outros dípteros incluindo *Simulium* sp., *Aedes* sp., *Culicoides* sp., sendo as espécies mais comuns *M. domestica* durante o dia e *Culex pipiens* durante a noite.

As principais moscas presentes em aviários serão descritas a seguir. Ênfase será dada ao manejo integrado de moscas em aviários de postura comercial.

## 1) *Musca domestica*

**Distribuição e ocorrência.** Cosmopolita. A mosca doméstica é a espécie de mosca mais comum e a mais importante associada aos aviários em todo o mundo.

**Morfologia.** Os adultos podem ser facilmente identificados dos restantes dos Muscidae, por apresentar um forte ângulo na quarta veia da asa e quatro faixas escuras longitudinais no mesonoto (**Figura 6**).



**Figura 6** - *Musca domestica* (Linnaeus). (Foto: [http://www.ento.csiro.au/aicn/system/c\\_1218.htm](http://www.ento.csiro.au/aicn/system/c_1218.htm) Image © free).

**Biologia.** A fêmea inicia a postura poucos dias após a emergência do pupário, realizando um total de cinco a seis posturas de 75 a 100 ovos cada. Os ovos são dispostos em pencas na superfície do esterco e eclodem dentro de 12 a 24 horas, dando origem à larva de primeiro instar, que subsequentemente muda para larva de segundo e terceiro instares. O desenvolvimento larval se



completa em quatro a sete dias, seguido pelo estágio pupal que leva de três a quatro dias. Na fase de pupa, a mosca não se alimenta e sofre complexas transformações até chegar à forma adulta. O ciclo biológico de ovo a adulto tem duração de 10 dias à temperatura de 29°C, 21 dias à 21°C e 45 dias à 15°C. A longevidade é de três a quatro semanas, podendo alcançar até oito semanas (Keiding, 1986).

**Importância econômica.** Sua importância está relacionada a sua capacidade de veicular mecanicamente, através das patas ou aparelho bucal, diversos agentes patogênicos aos animais e ao homem, tais como bactérias, vírus, protozoários, ovos de helmintos.

Watson *et al.* (2007) avaliaram experimentalmente o potencial de *M. domestica* como vetor do vírus da deonça de Newcastle (cepa mesogênica NDV), verificando que é possível albergarem o vírus, mas são pobres como vetoras, pois carregam títulos insuficientes do vírus para causar infecção nas aves.

Dhillon *et al.* (2004) sugerem que *M. domestica* atue como vetor mecânico de *Clostridium perfringens*. Os autores isolaram *C. perfringens* de *M. domestica* coletadas em aviários de postura onde algumas aves apresentavam quadro de enterite necrótica, com alta mortalidade.

Sua importância econômica também está associada à redução na qualidade e contaminação dos ovos, por defecarem e regurgitarem sobre os mesmos. Também podem deixar manchas nos equipamentos da granja, como instalações luminosas, causando redução no nível de iluminação (Axtell & Arends, 1990).

No Brasil os custos para controle e devido aos danos causados pela *M. domestica* não têm sido publicados. No ano de 2003, na Georgia (EUA), Guillebeau *et al.* (2004) estimaram as perdas em custos para controle e devido aos danos causados pela presença dessa praga em aviários de postura, ao que verificaram um custo de US\$ 322 mil (controle) e US\$ 302 mil (danos).

## 2) *Muscina stabulans*

**Considerações gerais.** Espécie não hematófaga é conhecida como falsa mosca dos estábulos. Apresenta o ápice do escutelo e patas com coloração alaranjada; quarta veia longitudinal ligeiramente curvada no ápice. Espécie algumas vezes abundante nos aviários, criando-se de fezes de consistência semilíquida. A larva tem sido registrada como predadora de outras espécies de moscas, entretanto tal atividade é limitada e parece não ser de importância em controle biológico. Além da transmissão de diversos patógenos, *M. stabulans* pode causar miíases intestinais e miíases secundárias cutâneas (Greenberg & Povolny, 1971).

## 3) *Stomoxys calcitrans*

**Considerações gerais.** Mosca hematófaga de distribuição cosmopolita. A mosca dos estábulos tem tamanho aproximado ao da mosca doméstica, é facilmente identificada por sua tromba rígida de cor preta ([Figura 7](#)), com a qual perfura a pele dos animais e de humanos para sugar-lhes o sangue. As larvas desenvolvem-se em muitos tipos de substratos orgânicos, incluindo fezes de eqüinos, bovinos e aves. Guimarães (1984a) registraram surtos de infestação desta espécie atacando bovinos e eqüinos no sudeste brasileiro, cujas larvas se criam preferencialmente em

esterco de aves.



**Figura 7** - *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus). Fêmea (Foto: De Greenberg, 1971. In: Guimarães *et al.*, 2001).

#### 4) *Chrysomya putoria*

**Considerações gerais.** Essa espécie, pertencente à família Calliphoridae, é de origem africana, tendo sido introduzida no Brasil. Os adultos apresentam coloração verde metálica com reflexos azulados; espiráculos brancos. Desenvolvem-se com frequência nos aviários em fezes liquefeitas, ovos quebrados ou carcaças de aves (Guimarães, 1984b).

### Manejo integrado de moscas em aviários

A Região Sudeste conta com o maior plantel de poedeiras do País. De janeiro a outubro de 2007 o alojamento de comerciais foi estimado em aproximadamente 22 milhões de aves produtoras de ovos brancos e 4,7 milhões de produtoras de ovos vermelhos (Fonte: UBA), todas criadas em sistema de confinamento.

Tais sistemas de criação animal representam um grande avanço tecnológico possibilitando grande eficiência na produção, porém dificulta extraordinariamente o controle das moscas e a melhoria das condições de higiene.

Isto ocorre porque a massa de esterco formada atrai grande quantidade de moscas, que procuram tal substrato para deposição de seus ovos e alimentação de suas larvas.

Segundo Hogsette (1993), uma galinha com peso médio de 1,8 kg produz aproximadamente 113 g de esterco diariamente, o que representa 11,340 kg por dia ou 4,563 toneladas por ano, para cada 100.000 aves confinadas. Essa quantidade é suficiente para alimentar 100 larvas de moscas domésticas por dia (Gianizella & Prado, 1998).

O controle de moscas em aviários de postura é dificultado pela diversidade de instalações, tipos de manejo das granjas, variações climáticas e principalmente pela rápida capacidade de resistência das moscas aos inseticidas.

Entre os fatores que têm forçado a elaboração de programas integrados de controle de moscas, podemos citar:

- a) Número limitado de inseticidas e de métodos de aplicações eficazes.
- b) Rápido desenvolvimento da resistência a certos grupos de inseticidas existentes no mercado.
- c) Preocupação em se evitar resíduos de inseticida nos ovos e na carne.
- d) Tendência na utilização na técnica de confinamento, geralmente próximo às áreas urbanas, facilitando a infestação de moscas nas residências.
- e) Preocupação com os custos de produção e conformismo ante as dificuldades naturais em se obter níveis de controle das moscas.

O objetivo do manejo integrado não é a erradicação das moscas e sim a diminuição da população desses insetos a níveis toleráveis. A escolha das medidas de controle deve ser feita à luz dos conhecimentos da biologia e ecologia das espécies de moscas, bem como das características de manejo dos sistemas de produção avícola.

Algumas medidas, se adotadas, proporcionam um controle eficiente de moscas nas instalações avícolas. Como regra geral, quanto mais diversificada forem as medidas de controle adotadas nos aviários, maior será a probabilidade de obter-se um nível de controle satisfatório.

O manejo do esterco é a chave para controle de moscas em criações em confinamento, sendo tão importante quanto os cuidados com a alimentação, coleta de ovos e vacinação das aves. Além de minimizar a proliferação de moscas de modo a evitar reclamações dos vizinhos e promover melhores relações comunitárias, o adequado manejo do esterco reduz a produção de pó, penas e odores desagradáveis, mantém o valor do esterco como fertilizante e evita a poluição das superfícies e do lençol subterrâneos.

## Controle cultural

O controle cultural de moscas é fundamentado no manejo do esterco (coleta, processamento e armazenagem) e na sanitização (remoção diária de aves mortas, ovos quebrados, ração derramada).

## Manejo do esterco

O manejo do esterco é o caminho mais eficaz para controle de moscas. Cerca de 1000 ou mais moscas domésticas podem se desenvolver em 450g de esterco. O esterco fresco contém 75 a 80% de umidade, o ideal para o desenvolvimento desses dípteros. A prática de reduzir a umidade do esterco para 30% ou menos reduz significativamente o problema com moscas em aviários, além de que o esterco seco exala um menor odor.

**a) Coleta do esterco.** A frequência das coletas do esterco acumulado sob as gaiolas varia consideravelmente de granja para granja, existindo os dois extremos: a remoção frequente e a acumulação prolongada. O ideal seria se o intervalo fosse de cinco dias, pois não iria permitir

que a mosca completasse seu ciclo.

O esterco pode ser retirado manualmente, com auxílio de pás e enxadas. Algumas granjas adotam sistemas de remoção automática do esterco por esteira, onde a retirada é diária. Outras utilizam gradeado de madeira sob as gaiolas, prática que facilita a remoção do esterco, bem como sua secagem.

Caso não haja sistema de remoção do esterco, deve ser feita uma observação diária do vazamento dos bebedouros, tratando os pontos de esterco molhado com cal, que impede a postura e desenvolvimento larval das moscas.

O piso sob a gaiola é de grande importância no manejo do esterco. Ele deve apresentar a inclinação correta e ter valas de drenagem para impedir a umidade excessiva e facilitar a secagem das fezes. O piso de chão batido não é adequado, pois são formados buracos durante as sucessivas operações de retirada do esterco. O piso de tijolo, embora facilite a retirada das fezes, apresenta reentrâncias que dificultam a total eliminação do material, podendo ainda facilitar a instalação de ninhos de ratos. O piso de cimento é ideal para limpeza, mas em regiões úmidas dificulta a secagem das fezes por ser impermeável. O piso de madeira, bem afastado do solo, parece ser o ideal, pois favorece a secagem e a retirada.

O esterco não deve ser totalmente retirado sob as gaiolas, devendo-se deixar um 33% de esterco seco para possibilitar a recolonização dos inimigos naturais das moscas.

**b) Processamento do esterco (ventilação e secagem).** Essa operação tem como objetivo retirar o máximo de umidade do esterco. A secagem é feita espalhando-se o esterco em pátios afastados da área de criação, onde será desidratado pelo sol.

Durante a noite ou em épocas de chuva, o esterco deverá ser coberto com lençóis de plástico negro. Em criações com remoção automática do esterco o proprietário poderá dispor de outras tecnologias como a compostagem em leito fixo com aeração passiva (natural) ou com aeração mecânica (Mazzuco *et al.*, 2006). Após a secagem, o esterco deve ser levado para os galpões de armazenamento.

**c) Armazenagem.** O esterco seco continua sua fermentação quando em grandes montes e deve ser armazenado em galpões altos cobertos ou protegido com lençóis plásticos. A temperatura durante a fermentação pode chegar a até 80°C e os gases produzidos durante essa fase matam todas as larvas que possam estar presentes. O esterco acumulado pode permanecer estocado por muitos meses até ser comercializado como adubo orgânico. Algumas granjas incorporam serragem ou palha de arroz ao esterco acumulado para reduzir a umidade e facilitar sua retirada.

**d) Utilização do esterco como fertilizante.** A disposição final do esterco no campo para a adubação da lavoura é de grande importância no controle das moscas. O esterco deve ser incorporado no solo, evitando-se formar grandes amontoados desse material ao se adubar as culturas, o que constitui fonte de proliferação de moscas, especialmente de *Stomoxys sp.*

**e) Manejo de dejetos líquidos.** No manejo de dejetos líquidos em fosso sob as gaiolas é necessário manter uma lâmina d'água sobre o esterco, o que evita a proliferação de moscas.

**f) Manejo da água.** As granjas devem possuir um sistema apropriado de fornecimento de água às aves para impedir que o esterco fique molhado. Deve-se inspecionar freqüentemente todo sistema de fornecimento de água nos galpões, consertando ou substituindo os bebedouros que vazam. A construção de beirais com largura mínima de 0,50 m e a instalação de cortina no limite do beiral impede que o esterco seja molhado com a água da chuva (Mazzuco *et al.*, 2006).

## Sanitização

A sanitização em aviários envolve a utilização de produtos sanitizantes, além de outras práticas como:

**a) Eliminação da vegetação e ervas daninhas que crescem ao redor das granjas.** Tal procedimento facilita a ventilação e penetração do sol sob as gaiolas e a secagem do esterco. Esta limpeza reduz ainda a sua contaminação com sementes de ervas daninhas. Árvores frutíferas nas cercanias da granja favorecem a proliferação de *Chrysomya*.

**b) Remoção imediata das aves mortas.** Aves mortas deverão ser trabalhadas em câmaras de compostagem, colocadas em fossa séptica ou incineradas. Algumas granjas aproveitam as aves mortas para a alimentação de suínos. A compostagem permite a produção de biofertilizante sólido, que pode gerar renda adicional. Entretanto os cuidados com manejo da compostagem são importantes uma vez que este é um método aeróbio e a ausência do oxigênio (anaerobiose) pode levar a um processo de degradação inadequado e com a emissão de maus odores. A inadequada cobertura das carcaças pode promover a criação de moscas.

**c) Coleta dos ovos quebrados ou de casca mole.** Ovos descartados não devem ficar junto às fezes, pois favorecem o desenvolvimento de moscas, especialmente de *Chrysomya*.

**d) Eliminação dos locais de pouso das moscas, facilitando o controle químico.** Certas granjas utilizam uma aplicação rápida de vassoura de fogo nos telhados dos galpões ao entardecer e nos pontos onde as moscas se agregam como fios elétricos. Tal prática reduz consideravelmente a população de moscas nos aviários.

## Controle químico

O controle químico pode continuar a ser uma alternativa viável de controle, desde que associado às outras áreas do MIP.

Os métodos usados incluem a utilização de inseticidas utilizados sob a forma de iscas, pulverizações ou como aditivos na ração para que se consiga manter o nível de infestação abaixo do nível de incômodo.

De acordo com Pedroso-Paiva (1998), como os problemas de criação de moscas ocorrem quando o esterco demora a secar, ou seja, em épocas de chuvas, no início de lote e na fase de muda (forçada ou natural), os produtos podem ser estrategicamente utilizados nesses períodos e se prolongar até que sejam formados os montes de esterco, pois a secagem do material impossibilita a criação de moscas.

**Inseticidas químicos.** O termo adulticida é utilizado com objetivo de separar os grupos de

inseticidas que atuam somente sobre larvas, como é o caso dos Reguladores de Crescimento dos Insetos, daqueles que atuam sobre formas adultas. Entretanto os “adulticidas” também atuam sobre as formas imaturas (larvas e ninfas de insetos).

Os inseticidas empregados no controle de moscas são os piretróides, organofosforados, neonicotinóides e spinosinas. Podem ser aplicados mediante pulverizações espaciais com produtos de ação residual nos pontos onde as moscas permanecem durante a noite (paredes, telhados e vigas) ou em forma de iscas.

Os inseticidas encontrados em forma de iscas podem estar associados à feromônios, como o Z-9-Tricoseno (Muscalure), feromônio de atração sexual da mosca doméstica. Essas iscas quando aplicadas em locais protegidos frequentados pelas moscas podem atrair e eliminar grande parte da população.

Exceto para os inibidores de crescimento, que atuam apenas sobre formas imaturas, os inseticidas não devem ser aplicados sobre o esterco, pois eliminam a fauna de inimigos naturais.

**Resistência.** Nos EUA foi descrito o aparecimento de resistência aos organofosforados e piretróides usados no controle de moscas em 75% dos estados da região leste (Hogsette, 1993). A resistência a inseticidas é comprovada em diversas linhagens de *Musca domestica*.

Akiner & Caglar (2006) estudaram linhagens de *M. domestica* resistentes aos piretróides permetrina e cipermetrina e ao organofosforado fenitrotiom. Os autores observaram que as razões de resistência foram mais altas em populações coletadas na primavera (estação com maior frequência de aplicações de inseticidas) que aquelas coletadas no outono, o que indica a presença de uma forte pressão de seleção em tais populações. Qiu *et al.* (2007) descreveram populações de *M. domestica* resistentes a deltametrina.

*M. domestica* também apresenta resistência ao indoxacarb (oxadiazina), de acordo com Shono *et al.* (2004).

Alekseev & Roslavtseva (2006) estudaram a possibilidade de resistência da mosca doméstica às avermectinas, verificando que a resistência do inseto a esses componentes se desenvolve lentamente.

O endosulfan é um inseticida antigo no mercado, do grupo dos ciclodienos. Pertencem também a esse grupo, inseticidas relativamente novos, como os fenil-pirazóis (fipronil). Gao *et al.* (2007) verificaram a possibilidade de redução na eficácia do fipronil devido ao extensivo uso de ciclodienos no passado (resistência cruzada). Os autores estudaram linhagens de *M. domestica* dos EUA que há décadas não eram submetidas a tratamento com ciclodienos. Verificaram ser muito baixa a frequência de alelos de resistência aos ciclodienos, sugerindo que o fipronil possa ser um promissor inseticida para controle de moscas domésticas. Este trabalho demonstra claramente a necessidade de rotação de ingredientes ativos de inseticidas, posto que a rotatividade diminui sensivelmente a pressão de seleção sobre populações de insetos resistentes, aumentando assim a vida útil dos inseticidas.

Para linhagens de moscas domésticas resistentes na Argentina, Crespo *et al.* (2002) verificaram que o melhor controle ocorreu utilizando-se a combinação de controle biológico (soltura dos parasitóides *Spalangia endius* e *Muscidifurax raptor*), cultural (aplicação de cal sobre o esterco úmido) e químico (ciromazina, diclorvós e azametifós).

**Larvicidas.** O completo tratamento do esterco e de outros locais de criação de moscas com inseticidas é uma técnica onerosa e se forem utilizados produtos de largo espectro, haverá certamente a destruição dos inimigos naturais. Alguns produtos são seletivos e têm ação apenas no controle das moscas, não afetando os inimigos naturais, como ocorre com os Reguladores de Crescimento de Insetos (RCI), que atuam inibindo a formação de cutícula dos insetos.

Os RCI utilizados no controle de *M. domestica* são o diflubenzurom, triflumurom e ciromazina.

A ciromazina afeta o metabolismo da epiderme interferindo com o processo de esclerotização da cutícula. Em virtude de sua extrema facilidade e segurança, pode ser incorporado à ração (premix), sendo ingerido pelas aves, daí passando para o trato digestivo e eliminado com as fezes. A ciromazina tem ação seletiva contra as larvas de moscas e não afeta o desenvolvimento dos parasitóides e predadores que ocorrem no esterco (Axtell, 1986a). Ciromazina também é utilizada na formulação granulada, solúvel em água, para aplicação tópica sobre o esterco.

O diflubenzurom é também utilizado para controle de *M. domestica*. De acordo com Pinto *et al.* (2003) sua utilização apresenta bons resultados para controle de moscas em aviários de postura.

**Resistência.** O uso inapropriado dos RCI levou ao aparecimento de resistência à ciromazina em linhagens de *M. domestica* dos EUA e Europa (Pinto & Prado, 2001). De acordo com Prado (1997), em países onde a ciromazina é liberada para uso como feedtrough, o aparecimento da resistência ocorre entre dois e cinco anos. No Brasil, estudos de detecção e documentação da resistência, feitos em laboratório com moscas de granjas avícolas dos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, demonstraram que, após mais ou menos seis anos de uso como feedtrough, desenvolve-se a resistência.

## Controle biológico

No esterco acumulado encontra-se um grande número de inimigos naturais que pertencem a duas categorias: predadores e parasitóides.

Entre os predadores, aparecem os ácaros, coleópteros e larvas de algumas espécies de moscas, que exercem uma ação supressiva na população de moscas em aviários.

Os parasitóides são insetos da Ordem Himenóptera, pequenas vespas cujas larvas se desenvolvem no corpo de outro artrópodo, usualmente outro inseto, acarretando sua morte. Os parasitóides importantes em avicultura parasitam pupas de moscas, perfurando-as com o ovipositor e depositando um ovo. O ovo eclode e passa por três estádios larvais, e as larvas alimentam-se do conteúdo da pupa. O estágio pupal ocorre dentro do pupário da mosca e o adulto emerge através de um orifício circular.

A técnica de controle biológico consiste na liberação ou preservação dos inimigos naturais

normalmente encontrados no esterco.

## Predadores

**Ácaros.** No esterco de aves ocorrem três famílias de ácaros predadores de ovos e larvas de moscas: Macrochelidae, Uropodidae e Parasitidae. Das três famílias, a primeira é a mais importante e mais estudada. Duas espécies são freqüentemente encontradas, *Macrocheles muscaedomestica* (Scopoli) e *Fuscoropoda vegetans* (De Geer), ambas cosmopolitas (Axtell, 1986a).

**Besouros.** Entre os coleópteros, as famílias mais importantes são Histeridae e Staphylinidae, cujos adultos e larvas são excelentes predadores de larvas de moscas. Algumas espécies da família Tenebrionidae também são apontadas como predadoras.

Larvas de *Alphitobius piceus* (Tenebrionidae) foram descritas como predadoras de larvas de moscas após serem encontradas em dejetos acumulados sob gaiolas de poedeiras, onde não se desenvolviam larvas de moscas (Neves *et al.*, 1987).

Achiano & Giliomee (2006) apontam *Philonthus sordidus* (Gravenhorst) (*Bisnius sordidus*) (Staphylinidae) como consumidor de todos os estágios imaturos *M. domestica* e *Fannia canicularis* (Linnaeus). *Carcinops pumilio* (Erichson), *C. troglodytes* (Paykull) (Histeridae), *Oxytelus sculptus* (Gravenhorst) (Staphylinidae) e *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Tenebrionidae) se alimentam apenas de ovos e larvas de primeiro instar. Esses predadores, principalmente *C. pumilio*, podem ser importantes no controle natural da mosca doméstica.

**Moscas.** Larvas de terceiro instar de muscídeos do gênero *Ophyra* são predadoras facultativas e estão associadas a fezes de animais de produção, como aves de corte e poedeiras (Axtell, 1999). Possuem basicamente o mesmo ciclo e comportamento de *M. domestica* (Axtell & Arends, 1990).

No Brasil, ocorrem cinco espécies de *Ophyra*: *O. aenescens* (Wiedemann), *O. capensis* (Wiedemann), *O. chalcogaster* (Wiedemann), *O. albuquerquei* (Lopes), *O. solitaria* (Albuquerque), sendo que as duas últimas ocorrem exclusivamente no Brasil (Carvalho *et al.*, 1993).

*O. leucostoma* (Wiedemann) é o mais importante predador em fezes de aves na Califórnia. Os hábitos carnívoros das espécies de *Ophyra* foram registrados pela primeira vez nessa espécie em 1923, podendo uma larva preda duas a 20 larvas de *M. domestica* por dia (Anderson & Poorbaugh, 1964).

Larvas de *Hermetia* sp. (Stratiomyidae), comuns no esterco úmido, não atuam como predadoras, porém sua ação ativa sobre o esterco provoca mudanças de fatores químicos e físicos do mesmo, liquefazendo-o com seu extenso ciclo de vida (40-50 dias), o que comprovadamente diminui a população das larvas de *M. domestica* (Axtell & Arends, 1990). No entanto, não deve ser utilizada em controle biológico, pois o esterco adquire aspecto desagradável e espalha-se pelos corredores dos galpões, ficando em condições impróprias para ser removido (Axtell, 1986b).

## Parasitóides



Os parasitóides mais importantes associados a moscas sinantrópicas são os microhimenópteros da família Pteromalidae, pertencentes aos gêneros *Muscidifurax*, *Pachycrepoideus* e *Spalangia* (Hymenoptera: Pteromalidae).

As espécies mais encontradas e de importância no controle biológico são: *Muscidifurax raptor* (Girault & Sanders), *Spalangia endius* (Walker), *S. cameroni* (Perkins), *S. nigroaenea* (Curtis) e *Pachycrepoideus vindemiae* (Rondani). O parasitismo pupal por uma ou mais destas espécies pode alcançar até 40% nos locais de confinamento.

*Muscidifurax uniraptor* (Kogan & Legner) é um dos principais parasitóides responsáveis pela redução populacional de mosca doméstica em aviários no Estado de São Paulo (Thomazini & Berti Filho, 2001).

Monteiro & Prado (2000; 2006) registraram pela primeira vez a ocorrência de *Trichopria* sp. (Nixon), himenóptero da família Diapriidae predando pupas de *Chrysomya pectoria* (Wiedemann) em uma granja Monte Mor, SP.

Costa *et al.* (2004) fizeram um levantamento dos parasitóides de imaturos de *Musca domestica*, *Stomoxys calcitrans* e *Muscina stabulans* (Diptera: Muscidae) em uma granja de galinhas poedeiras de Echaporã, SP mediante coleta de pupas que ocorriam naturalmente no esterco sob as gaiolas das aves, onde *Tachinaephagus zealandicus* (Encyrtidae) foi responsável pelo maior parasitismo nos três hospedeiros estudados, sendo a principal espécie de parasitóide coletada.

Marchiori (2006) encontraram parasitóides de *Musca domestica* coletados em fezes de galinha em Itumbiara - Goiás, dos gêneros *Pachycrepoideus* e *Spalangia*.

No Brasil, embora se tenha conhecimento da fauna de inimigos naturais das moscas em aviários, são escassas as publicações a respeito de controle biológico. Entretanto, práticas simples podem ser adotadas para implantação do controle biológico em granjas avícolas, como por exemplo:

- a) Deixar uma parte do esterco, cerca de 5 cm, quando é feita a sua retirada durante o período de produção (em geral com 46 semanas).
- b) Colocar uma camada de esterco velho (com cascudinhos e outros insetos predadores) no início de um novo lote.
- c) Utilizar serragem no início do lote para facilitar a secagem do esterco e criação de predadores.
- d) Não aplicar inseticidas não seletivos sobre o esterco para preservar os insetos predadores.

## Ordem Coleóptera

Na ordem Coleóptera existe cerca de 370.000 espécies descritas, sendo algumas comuns em granjas avícolas.

Em um levantamento realizado por Neves *et al.* (1993), 16 famílias de coleópteros foram descritas em granjas de aves poedeiras criadas em sistema de gaiolas no Estado de São Paulo:

Histeridae, Staphylinidae, Anobiidae, Carabidae, Cerylonidae, Cucujidae, Curculionidae, Dytiscidae, Dermestidae, Elateridae, Hydrophilidae, Mycetophagidae, Nitidulidae, Rhizophagidae, Scarabaeidae e Tenebrionidae.

Bicho *et al.* (2005) estudaram a flutuação populacional de coleópteros em granjas de aves poedeiras criadas em cama com maravalhas, no Rio Grande do Sul e encontraram menor diversidade de espécies, porém algumas comuns ao levantamento anterior, além de três outras famílias: Ptinidae, Trogossitidae e Scolytidae.

Embora seja grande a diversidade de coleópteros em granjas avícolas, apenas o tenebrionídeo *Alphitobius diaperinus* tem se destacado como praga avícola, com relevante importância econômica e sanitária. Esses insetos podem ser encontrados em galpões de frangos de corte (principalmente), galinhas de postura, em galpões de matrizes e em criações de perus.

### **Alphitobius diaperinus (Panzer)**

**Distribuição e ocorrência.** Conhecido como cascudinho ou besouro-da-cama, *A. diaperinus* é um inseto cosmopolita, com origem no leste africano, citado como praga de produtos em más condições de armazenamento (Back & Cotton, 1962), sendo também encontrado em ninhos de pássaros e guanos de morcegos (Vaughan *et al.*, 1984).

Sua introdução em sistemas de produção animal ocorreu por meio de ração contaminada (O'Connor, 1987), dispersando-se rapidamente pela prática agrícola de utilização da cama como adubo (Le Torc'h, 1979). Em 1950 foi registrado pela primeira vez infestando aviários (Gould & Moses, 1951) e apresenta-se atualmente distribuído em várias regiões do Brasil e do mundo, em altas populações (**Figura 8**).



**Figura 8** - Colônia de *Alphitobius diaperinus* em cama de aviário. Foto: Chernaki-Leffer (2004).

**Morfologia.** Adultos de *A. diaperinus* possuem corpo ovalado, tegumento marrom escuro, quase negro, brilhante, comprimento entre 6,0 a 6,8 mm. O dimorfismo sexual nos adultos é imperceptível ao olho nú, mas difere pelos esporões localizados nos ápices das tíbias das pernas médias e posteriores, que é curvo nos machos e reto nas fêmeas. Os ovos possuem cório translúcido e frágil, de coloração branco leitosa, com substância adesiva por meio da qual se

aderem entre si ou ao substrato, medindo de 1 a 1,2 mm de largura. As larvas são elateri- formes, corpo alongado e afilado, sendo que as de último instar possuem tegumento de coloração marrom, esclerotizado, medindo de 10,3 a 13,8 mm. As pupas são do tipo exarata, medindo de 6,4 a 6,7 mm de comprimento, coloração amarela pálida, tornando-se mais escura em algumas partes do corpo, inclusive com pigmentação visível dos olhos, ao final do desenvolvimento. Possuem acentuado dimorfismo sexual na região ventral: nas fêmeas projeções musculares esclerotizadas e nos machos pequenas papilas, sem nenhuma projeção definida (**Figura 9**) (Chernaki & Almeida, 2001a).

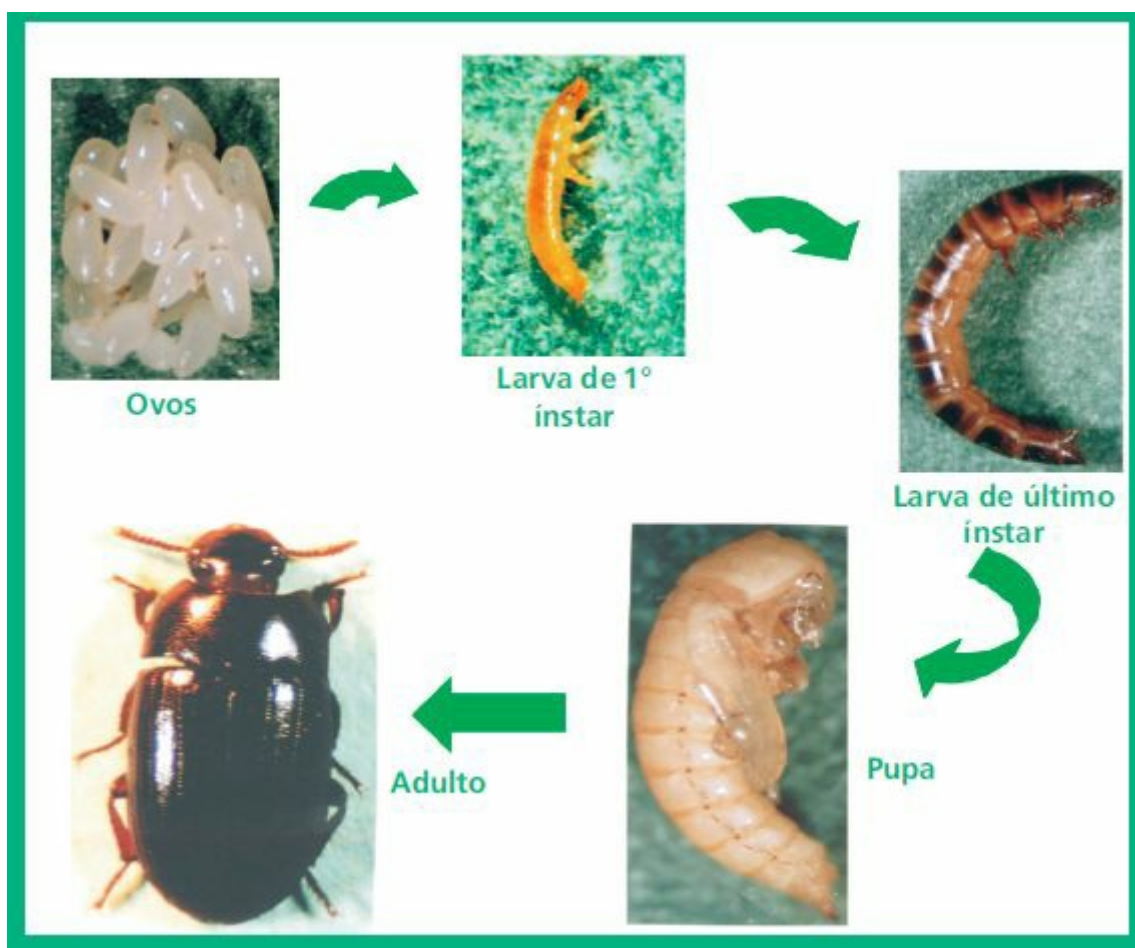


**Figura 9** - Pupa de *Alphitobius diaperinus*, vista ventral, região posterior do macho (esquerda) e da fêmea (direita) em microscopia de varredura. Fotos: Chernaki- Leffer *et al.* (2001a).

**Biologia.** Os coleópteros possuem ciclo holometabólico, com os estágios de ovo, larva, pupa e adulto. As fêmeas adultas de *A. diaperinus* procuram frestas e orifícios para realizar a oviposição, com produção de cerca de 2000 ovos (Steelman, 1996).

O período de incubação pode levar entre três e nove dias às temperaturas de 31 e 22°C, respectivamente (Chernaki & Almeida, 2001b). A fase larval passa por oito a 11 estádios (ou instares), com dependência da temperatura e duração média de 18,6 (31°C) a 70,1 (22°C) dias (Chernaki & Almeida, 2001b). A larva de último instar cessa a alimentação e enterra-se no solo para empupar. O período pupal pode durar em média quatro (31°C) e 9,7 (22°C) dias (Chernaki & Almeida, 2001b).

O ciclo de ovo a adulto de *A. diaperinus* (**Figura 10**), em condições de laboratório, se completa dentro de 88,7 a 25,6 dias (22 e 31°C, respectivamente), com sobrevivência superior a 66,7%. Ovos, larvas e adultos não se desenvolvem a temperaturas abaixo de 16,5°C (Chernaki & Almeida, 2001b). Assim, é possível inferir que as temperaturas no interior dos galpões de criação de frangos de corte (21 e 33°C; zona de conforto térmico), estão sempre em um patamar que possibilita o ótimo desenvolvimento de *A. diaperinus*.



**Figura 10** - Ciclo completo (holometabolia) de *Alphitobius diaperinus*. Fotos: Chernaki-Leffer (2004).

**Importância econômica.** O cascudinho é responsável por diversos problemas que afetam direta ou indiretamente as aves. Esses insetos servem como alimento alternativo para as aves, sendo importante em aves jovens, que diminuem o consumo de ração, ingerindo menor quantidade de nutrientes necessários, resultando em queda no ganho de peso quando comparadas às aves que se alimentam normalmente de ração balanceada (Axtell & Arends, 1990).

Adultos e larvas são capazes de perfurar a pele com suas mandíbulas na base dos pés dos frangos, onde se alimentam do exsudato sanguíneo, podendo também levar à morte pintinhos recém-eclodidos (Kumar, 1986) ou confinados em pequenos espaços. Podem causar também obstrução intestinal nas aves, já que essas não possuem a enzima quitinase que degrada a quitina presente no tegumento dos insetos. Além disso, a atividade de procura pelos besouros sobre a cama, desenvolvida pelas aves, pode aumentar sua suscetibilidade a agentes de doenças devido à irritação do trato respiratório causada pelo pó (McCreary & Catts, 1954).

Despins (1987) relatou que perus com dois a 10 dias de idade submetidos à escolha entre ração e larvas de cascudinho consumiram cada ave, de 174 a 221 larvas do inseto por dia. Esse comportamento das aves jovens, naturalmente mais suscetíveis à infecções, favorece a contaminação por patógenos aviários. Diversos autores relataram o potencial desse inseto como vetor de doenças ([Tabela 1](#)).

**Tabela 1** - Microorganismos isolados de *Alphitobius diaperinus* (infecção natural ou experimental).

### **Bactérias**

*Campylobacter* spp. (Bates *et al.*, 2004); *Escherichia coli* (Segabinazi *et al.*, 2005); *Salmonella* spp. (Skov *et al.*, 2004; Chernaki-Leffer *et al.*, 2002, 2006b).

### **Cestódeos**

*Choanotaenia infundibulum*; *Subulura brumpti* e *Metroliasthes coturnix* (Elowni & Elbihari, 1979; Karunamoorthy *et al.*, 1994).

### **Fungos**

*Aspergillus* spp.; *Fusarium* spp. (De Las Casas *et al.*, 1970; Voris *et al.*, 1994). A micotoxina F-2 produzida pelo fungo *Fusarium roseum* pode persistir no inseto durante a metamorfose. Desta forma, a ocorrência de passagem transestadial pode explicar porque certas doenças são tidas como endêmicas em algumas unidades, apesar dos esforços em limpeza e desinfecção dos aviários.

### **Protozoários**

*Eimeria* spp. (Protozoa: Eimeriidae) (Reyna *et al.*, 1983).

### **Vírus**

Doença infecciosa bursal (doença de gumboro); “fowlpox”; doença de Newcastle; leucose aviária (doença de Marek) Coronavírus dos perus (Eidson *et al.*, 1966; Mcallister *et al.*, 1995; Goodwin & Waltman, 1996; Watson *et al.*, 2000).

As pesquisas com *A. diaperinus* declinaram quando a vacina de Marek foi desenvolvida em 1972 (Vaughan *et al.*, 1984). Contudo, devido à alta densidade populacional estimulada por práticas de manejo, como o longo período de acúmulo do esterco e da cama em aviários, *A. diaperinus* tornou-se uma praga estrutural em países de clima temperado, devido aos danos que as larvas de último ínstar causam ao perfurar as placas de poliestireno utilizadas como isolamento térmico nas paredes dos galpões de criação de aves e suínos (Arends, 1987). Os custos em reparos nas edificações resultantes dos danos causados pelos besouros são avaliados como 67% maiores que

em aviários onde não ocorrem danos (Geden & Hogsette, 1994).

Guillebeau *et al.* (2004), em uma pesquisa sobre os principais insetos praga de aves e outros animais de produção, enquadraram o cascudinho como a praga que causa os mais elevados custos para controle, bem como a que ocasiona os maiores danos. As perdas estimadas em 2003, relacionada aos custos de controle e aos danos, na Georgia, EUA, foram de US\$ 121 mil em criação de poedeiras, US\$ 236 mil em criação de matrizes e US\$ 9,6 milhões em criação de aves de corte.

Outros problemas estão associados a esses insetos, como por exemplo, alergia em humanos devido à exposição ocupacional (Schroeckenstein *et al.*, 1988). Também causam problemas para moradores ao redor dos aviários, pois uma vez atraídos pela luz, invadem as residências em numerosa quantidade.

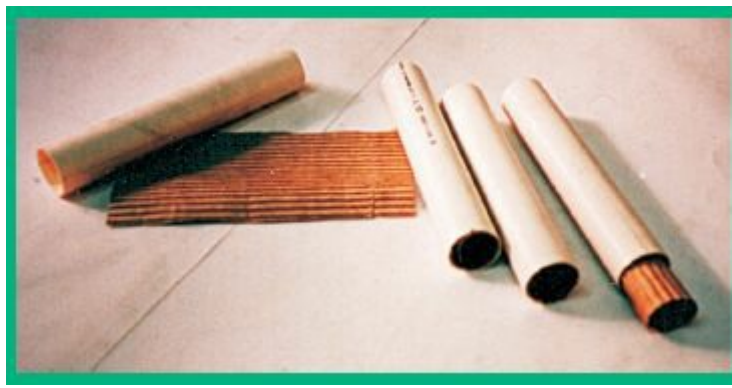
## Manejo integrado do cascudinho em aviários

### Controle cultural

O controle cultural baseia-se no manejo da cama do aviário. Além da densidade de material de cama, que proporciona refúgio, temperatura e umidade ideais para os cascudinhos, esses insetos possuem o hábito de esconderem-se em frestas e orifícios, dificultando o controle.

A troca de cama a cada saída de lote de frangos é a melhor maneira de controlar essa praga. Infelizmente esse tipo de manejo, além de dispendioso, é inviável em muitas regiões do Brasil onde a matéria-prima (maravalha) é escassa e muito cara. A troca de cama a cada lote representa para ao avicultor um aumento de custo de 76,9% (Marcolin, 2006). Nesses casos outras medidas podem ser tomadas, como:

- a) Remoção dos cascões que se formam sobre a cama.
- b) Revolver a cama periodicamente evitando sua compactação, que cria boas condições para as larvas procurarem abrigo e empupar.
- c) Enleirar a cama no intervalo entre lotes, cobrindo com lona preta para que ocorra fermentação e morte dos insetos.
- d) Evitar desperdício de ração e água, ao que fiquem derramados sobre a cama.
- e) Remoção mecânica dos insetos, que pode ser feita utilizando-se armadilhas de Arends (**Figura 11**). Os insetos removidos podem ser aproveitados para alimentação de peixes em açudes ou para colonizar o esterco acumulado em criações de poedeiras comerciais, auxiliando assim no controle biológico de moscas.



**Figura 11** - Armadilha de Arends modificada.

Essas armadilhas consistem de um tubo de polivinilcloro (PVC) de 4,0 cm de diâmetro por 23 cm de comprimento, contendo em seu interior papel corrugado (20 x 20 cm), com ondulações dispostas longitudinalmente ao tubo. As armadilhas tubo consistem em um método bastante fácil e eficiente para o monitoramento de *A. diaperinus* em granjas avícolas (Safrit & Axtell, 1984) e também têm sido usadas na Carolina do Norte e Virgínia para avaliar inseticidas para controle destes insetos (Turner, 1986).

**f)** Os galpões com piso de terra podem ser modificados para pisos cimentados lisos, sem frestas que impossibilitam a formação de galerias no solo.

Quanto mais superfícies lisas o galpão tiver, menor a chance dos insetos se esconderem e, inversamente, maiores as chances de serem atingidos pelo tratamento com inseticidas (**Figura 12**).

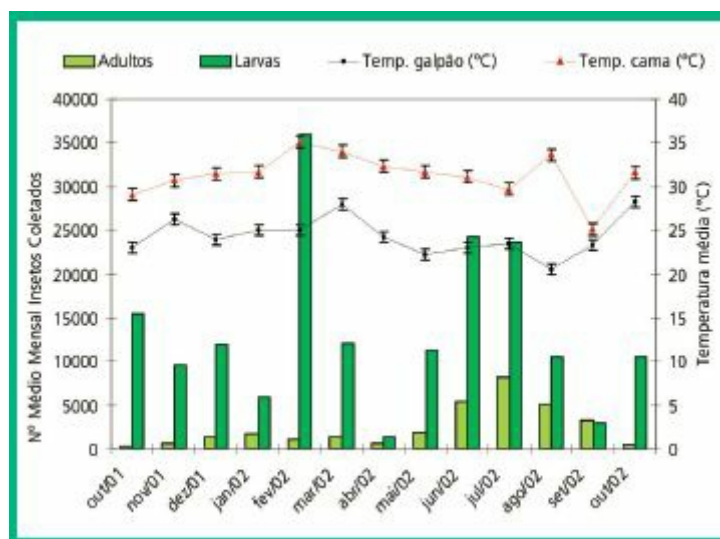


**Figura 12** - Pilar de sustentação do aviário com frestas, facilitando o esconderijo de *Alphetobius diaperinus*.

Há uma tendência no crescimento populacional de *A. diaperinus* à medida que se acumula o material de cama, mesmo nos meses de inverno. Isso ocorre porque a sobreposição de camas favorece a manutenção de temperaturas elevadas para o inseto em todas as épocas do ano, devido à fermentação oriunda do acúmulo de gases como a amônia (produto do acúmulo de fezes e urina das aves) e ao aumento da espessura da mesma, resultando no aumento populacional destes insetos.

Em uma pesquisa realizada em aviário de corte no oeste do Paraná, Chernaki-Leffer *et al.* (2007a)

observaram durante seis lotes de frangos sobre cama reutilizada que as variações de temperatura não são estatisticamente significativas ao longo do ano no interior do galpão (20,5° - min. a 28,3°C - max.) e na cama (25,1° - min. a 35,1°C - max.) (**Figura 13**).



**Figura 13** - Flutuação populacional de *Alphitobius diaperinus* coletados de outubro de 2001 a outubro de 2002 em granja avícola em Cascavel, Paraná.

Considerando que a temperatura da cama permaneça, em média, a 28°C (temperatura que possibilita o desenvolvimento de ovo a adulto em um período médio de 42,5 dias), é possível inferir que as condições de temperatura da cama e a duração do período de crescimento das aves (aproximadamente 50 dias) permitem a formação de uma nova geração de insetos durante a permanência de um único lote de frangos.

### Controle químico

As infestações de *A. diaperinus* em aviários estimularam estudos para seu controle no final da década de 50 (Harding & Bissel, 1957).

O controle químico de *A. diaperinus* é comumente realizado com piretróides (principalmente), organofosforados e reguladores de crescimento de insetos (triflumurom). Nos EUA são também utilizados carbamatos (carbaril) (Vaughan & Turner, 1984) e boratos (ácido bórico).

Quando se aplica um inseticida é importante considerar a localização dos insetos devido à profundidade da cama do aviário, que possibilita o escape dos mesmos. Portanto, elevadas doses do produto leva ao desperdício quanto à utilização. A persistência de resíduos deve igualmente ser considerada, pois o uso de inseticidas como os organofosforados ficam restritos em aviários, pela possibilidade de deixar resíduos na carcaça de frangos.

Faz-se importante o monitoramento dos locais com altas infestações de insetos, com aplicações de inseticidas somente nessas áreas. As coletas utilizando armadilhas de Arends são extremamente eficientes para monitorar larvas e adultos, podendo atrair cerca de 11 mil larvas e seis mil adultos por armadilha (Chernaki-Leffer *et al.*, 2007a).

**Resistência.** De acordo com Salin *et al.* (2003), a primeira ocorrência de resistência de *A. diaperinus* foi descrita por Cogan & Wakefield em 1996, no Reino Unido. Posteriormente a



resistência de *A. diaperinus* a piretróides e organofosforados foi comprovada por diversos autores (Lambkin, 2001; Chernaki-Leffer, 2004; Lambkin & Rice (2006); Hamm *et al.*, 2006).

A resistência à inseticidas se manifesta em populações naturalmente resistentes (é uma característica hereditária e intra-específica) devido aos seguintes fatores (Georghiou, 1983):

- a) Aplicação freqüente de pesticidas, determinando uma pressão de seleção contínua.
- b) Aumento na dosagem do produto.
- c) Uso de misturas indevidas de produtos.
- d) Substituição por um outro produto, geralmente de maior toxicidade.

A evolução da resistência pode ser evitada se forem aplicados alguns procedimentos, sugeridos por Roush (1989), com modificações aplicadas à espécie em questão:

- a) **Preservação de indivíduos suscetíveis (ausência de pressão de seleção).** Inclui processos como evitar ou reduzir a aplicação de inseticidas e utilizar baixas doses, evitando gastos desnecessários com uso de inseticidas, poluição do ambiente e o aparecimento de indivíduos resistentes na população. A ausência de pressão de seleção desacelera o processo de resistência.
- b) **Aplicação de inseticidas que não apresentam evidências de problemas com resistência cruzada.** Resistência cruzada refere-se aos casos em que um único mecanismo de resistência confere resistência a dois ou mais compostos químicos (produtos estes geralmente relacionados, por exemplo: deltametrina e permetrina que são produtos do grupo dos piretróides). Pode também ocorrer resistência múltipla, quando pelo menos dois diferentes mecanismos de resistência coexistentes conferem resistência a dois ou mais compostos químicos geralmente não relacionados (por exemplo, deltametrina e azametifós, pertencentes ao grupo dos piretróides e organofosforados, respectivamente).
- c) **Aplicação de inseticidas através de misturas, em alternância ou em mosaicos.** O princípio da rotação de produtos é baseado no fato de que a freqüência de resistência a um produto (piretróides, por exemplo) diminui quando produtos alternativos (por exemplo, organofosforados) são utilizados (Roush, 1989). O sistema de mosaicos consiste em aplicações de inseticidas (adulticidas) onde houver maior concentração de adultos e de inseticidas reguladores de crescimento (larvicidas), onde houver maior concentração de larvas. Em aviários de corte, quando é introduzido o primeiro lote sobre cama reutilizada, é comum ocorrer agregação de adultos abaixo de cascões de cama nas áreas do aviário onde não há pintinhos. Em contrapartida, observa-se grande número de larvas na região de alojamento de pintinhos, onde a temperatura é mais elevada. O monitoramento e observação desse comportamento podem auxiliar no manejo da resistência.
- d) **Diminuição do número de aplicações de inseticidas.** Deve ser realizada em locais com resistência comprovada em bioensaios laboratoriais ou quando a substituição de produtos inseticidas não for possível. Paralelamente, pode-se fazer o acompanhamento dos níveis de controle e dos fatores de resistência, através de bioensaios das populações de campo. Uma vez

detectado problema de resistência, deve-se iniciar a tomada de providências, associado a um programa de conscientização de empresas e de produtores avícolas.

**Larvicidas.** As benzoilfeniluréias ou uréias substituídas são inseticidas inibidores da formação de cutícula dos insetos. Vários trabalhos foram realizados sobre a eficácia dos Reguladores de Crescimento dos Insetos (RCIs) contra larvas de *A. diaperinus* (Edwards & Abraham, 1985; Weaver & Kondo, 1987; Miller & Redfern, 1988; Salin *et al.*, 2003).

Chernaki-Leffer *et al.* (2006a) testaram sob condições de laboratório as benzoilfeniluréias (ou uréias substituídas): clorfluazurom, lufenurom, triflumurom, diflubenzurom, além do ecdisteróide metoxifenoziide (agonista da ecdisona dos insetos), via ração, contra larvas do cascudinho. Observaram maior mortalidade de larvas que receberam clorfluazurom e lufenurom, enquanto que metoxifenoziide apresentou baixa atividade.

A ação dos RCIs provoca morte das larvas por ocasião da muda (**Figura 14**) ou na fase de transformação de pupa para adulto (**Figura 15**).



**Figura 14** - Larvas de *Alphitobius diaperinus* com deformações e rompimento da cutícula dorsal seguido de morte na ocasião da muda (Foto: Chernaki-Leffer, 2004).



**Figura 15** - Deformidades de pupas de *Alphitobius diaperinus* na passagem para o estágio adulto (Foto: Chernaki-Leffer, 2004).

No Brasil algumas granjas avícolas fazem uso do triflumurom. Este composto tem sido aplicado sob pulverização sobre a cama dos aviários para controle de larvas. Vale salientar que esse método de aplicação leva ao desperdício do inseticida, o que pode ser relevante quanto ao custo-benefício para o produtor e empresas. A aplicação desses produtos incorporados à ração pode ser um método mais eficiente para controle de *A. diaperinus*, pois possibilita uma maior ingestão do ingrediente ativo e, conseqüentemente, maior mortalidade de insetos e menor perda de produto.

## Controle biológico

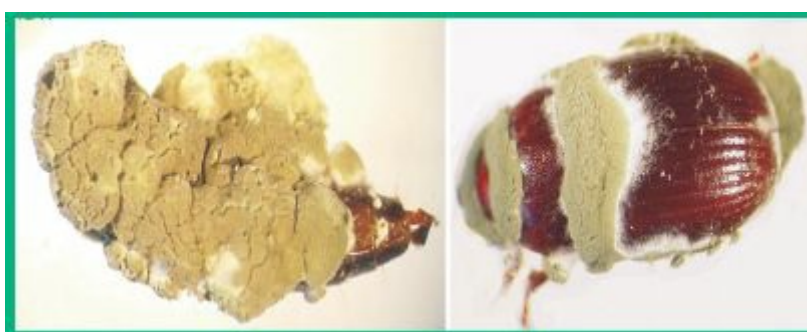
**Predadores.** A relação de *A. diaperinus* com inimigos naturais é pouco conhecida, entretanto Steinkraus & Cross (1993) descreveram o ácaro *Acarophenax mahunkai* (Acari: Acarophenacidae) parasitando ovos do cascudinho e ocasionando uma redução do número de insetos de 72,7% para 23,9%. Predadores generalistas e himenópteros parasitas também ocorrem em esterco de galinhas poedeiras e podem causar substancial mortalidade em moscas domésticas, porém é desconhecida a ação destes sobre *A. diaperinus* (Hinton & Moon, 2003).

**Protozoários.** Infecções por protozoários são comuns em *A. diaperinus* coletados em aviários na Carolina do Norte. Steinkraus *et al.* (1992) e Apuya *et al.* (1994) descreveram populações de *A. diaperinus* infectados com gregarinas (Protozoa: Apicomplexa), eugregarinas como *Gregarina alphitobii* (Eugregarinorida: Gregarinidae) e neogregarina *Farinocystis tribolii* (Neogregarinorida: Lopotrophidae).

Bala *et al.* (1990) encontraram *A. diaperinus* na África, Ásia, Europa e EUA parasitados pelos protozoários *G. alphitobii* e *Mattesia alphitobii*, sendo este último altamente infectante e patogênico, destruindo a camada lipídica dos insetos e reduzindo a fecundidade e longevidade.

**Nematóides entomopatogênicos.** Alguns nematódeos entomopatogênicos apresentam potencial para controle de *A. diaperinus*, tais como *Steinernema feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae) (Geden & Axtell, 1988). No Brasil, estudos com *Steinernema carpocapsae*, *Heterorhabditis* sp., *Steinernema* sp. e *S. feltiae* demonstraram que larvas de *A. diaperinus* são mais suscetíveis aos parasitas e que adultos são pouco afetados (Alves *et al.*, 2005a).

**Fungos entomopatogênicos.** Epizootias naturais dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman (Molinales: Moniliaceae) foram observadas em populações de *A. diaperinus* em aviários nos EUA (Steinkraus *et al.*, 1991; Castrillo & Brooks, 1998) e no Brasil (Alves *et al.*, 2005b). Da mesma forma, o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Moniliales: Moniliaceae) (**Figura 16**) também foi encontrado naturalmente em aviários (Alves *et al.*, 2004). Há também descrição do fungo entomopatogênico do gênero *Acremonium* como patogênico para o cascudinho (Steenburg & Humbert, 1999).



**Figura 16** - Conidiogênese de *Metarhizium anisopliae* sobre larva (esquerda) e adulto (direita) do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Fotos: Chernaki-Leffer, 2004).

A suscetibilidade de *A. diaperinus* a *B. bassiana* foi confirmada em bioensaios laboratoriais por Steinkraus *et al.* (1991), Geden *et al.* (1998), Santos *et al.* (2006) e de campo (Geden & Steinkraus, 2003). Entretanto, há grande variação na virulência, sendo sempre maior em larvas e que além do fator virulência, o tipo de bioensaio determina diferenças consideráveis na mortalidade dos insetos (Santoro *et al.*, 2007; Chernaki-Leffer *et al.*, 2007b). A realização de bioensaios laboratoriais com concentrações de conídios excessivamente elevadas, com desconhecimento do número de conídios que entram em contato com o inseto são de utilidade para diferenciar a virulência de isolados, mas não são indicadores do seu potencial como agentes de controle microbiano no campo.

O controle de *A. diaperinus* em granjas avícolas através do emprego de entomopatógenos necessita ainda de apuradas pesquisas de campo (aviário), levando sempre em consideração a relação custo- benefício e a real suscetibilidade da praga ou virulência do patógeno como agente de controle.

A utilização de armadilhas de Arends impregnada de conídios pode ser uma técnica apropriada para controle, já que disponibiliza que um grande número de conídios entre em contato com um grande número de insetos.

**Bacillus thuringiensis.** Toxinas de linhagens da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) foram testadas contra *A. diaperinus*. Dez linhagens de Bt da Polônia e dois produtos comerciais foram testados em bioensaios em laboratório e os insetos mostraram reduzida suscetibilidade às linhagens ou formulações comerciais (Lonc *et al.*, 2001).

## Outros métodos de controle

**Terra Diatomácea.** A terra diatomácea (TD) ou dióxido de sílica é um produto natural que possui propriedades inseticidas atuando na proteção física, causando abrasão no tegumento dos insetos e provocando a morte por desidratação.

Alves *et al.* (2006) comprovaram em laboratório, a ação inseticida da TD sobre o cascudinho obtendo 78% de mortalidade dos adultos de cascudinho quando tratados com TD na concentração de 172 gramas por metro quadrado. De acordo com Oliveira & Alves (2007), a combinação de terra diatomácea e *Beauveria bassiana* constituem uma boa estratégia para controle de *A. diaperinus* em aviários.

**Cunila angustifolia (Lamiaceae) – vassourinha.** Plantas desse gênero produzem óleos voláteis com propriedades antimicrobianas, inseticidas e repelentes. Estas substâncias voláteis podem ser detectadas pelas antenas ou tarsos de insetos.

De acordo com Prado (2007), a bioatividade inseticida do óleo essencial de *C. angustifolia* (vassourinha) para controle de *A. diaperinus* é caracterizada pela presença de monoterpenos oxigenados, principalmente pulegona, apresentando-se como uma alternativa viável para controle natural do inseto em aviários. Aparentemente sua ação inseticida seria decorrente da inibição da acetilcolinesterase nos insetos, o que já foi observado para a 1,2-epóxi-pulegona, tida como principal agente inseticida de *Lippia stoechadoifolia* (Verbenaceae) (Godfrey, 1994).

**Nim (Azadirachtina).** *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), árvore conhecida como “nim” tem sido testada em diferentes países em lugar dos inseticidas convencionais, pois não causam problemas de poluição, resíduos e resistência, por ser um produto natural. Tabassum *et al.* (1998) testaram uma formulação de nim contra adultos de *Alphitobius diaperinus* e observaram mortalidade de 70% quando comparada à mortalidade causada pelo uso de um piretróide sintético (88%). Embora haja formulações comerciais contendo o nim como ingrediente ativo, ainda não é bem conhecido o efeito desta planta sobre o cascudinho, tão pouco sua viabilidade de aplicação em aviários.

**Ácido bórico.** Nos EUA o ácido bórico é encontrado em formulações comerciais, sendo utilizado com sucesso para controle de *A. diaperinus* em aviários.

**Feromônios.** Feromônios são substâncias químicas secretadas que provocam alterações comportamentais, servindo como forma de comunicação entre os insetos. Poucos estudos têm sido realizados com *A. diaperinus* com respeito a esse tema, podendo ser citados os trabalhos de Falomo (1986), Weaver (1989) e Calibeo (2002). Os feromônios podem ser usados para monitorar ou controlar insetos.

## Bibliografia

Achiano KA, Giliomee JH. Feeding behaviour of the potential predators of the house flies, *Musca domestica* L. and *Fannia canicularis* (L.) (Diptera: Muscidae). *African Entomology* 2006; 14(1):69-75.

Akiner MM, Caglar SS. The status and seasonal changes of organophosphate and pyrethroid resistance in Turkish populations of the house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Journal y Vector Ecology* 2006; 31(2):426-432.

Alekseev AA, Roslavl'tseva SA. Development of resistance of house fly (*Musca domestica* L. Diptera: Muscidae) to avermectins A(1) and A(2). *Agrokhimiya* 2006; 1:71-76.

Almeida VF. Ação de fungos entomopatogênicos sobre *Bovicola caprae* (Phithraptera: Mallophaga, Ewing, 1936) em caprinos naturalmente infestados em clima de semi-arido [dissertação]. Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande; 2006.

Alves LFA, Bressan DF, Alves VS, Neves PMOJ, Alves SB. Ocorrência de *Metarhizium*

- anisopliae (Metsch.) Sorok. (Moniliales: Moniliaceae) em adultos de cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em aviários comerciais em Cascavel, PR. *Neotropical Entomology* 2004; 33(6):793-795.
- Alves LFA, Buzarello GD, Oliveira DGP, Alves SB. Ação da terra de diatomácea contra adultos do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera:Tenebrionidae). *Arquivos do Instituto Biológico* 2006; 73(1):115-118.
- Alves LFA, Gassen MH, Pinto FGS, Neves PMOJ, Alves SB. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman (Moliniales: Moniliaceae) sobre o cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em avário comercial em Cascavel, PR. *Neotropical Entomology* 2005b; 34(3):507-510.
- Alves LFA, Rohde C, Alves VS. Patogenicidade de *Steinernema glaseri* e *S. carpocasae* (Nematoda: Rhabdita) contra o Cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotropical Entomology* 2005a; 34 (1):139-141.
- Amaral V, Santos SM, Rebouças MM, Chiarelli V. Nota sobre a ocorrência de *Megninia cubitalis* (Méglin, 1877) (Acarina, Analgidae) em *Gallus gallus domesticus* (L.) no Estado de São Paulo, Brasil. *Biológico* 1974; 40:296-300.
- Anderson JR, Poorbaugh JHP. Biological control possibility for house flies. *California Agriculture* 1964; 18(9):2-4.
- Araujo FR, Perez MCL, Werneck R, Araujo CP, Chaves E. Parasites of fowls (*Gallus gallus domesticus*) kept in the backyard, sold in Campo Grande, MS. *Ensaio e Ciência: Série Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde* 1999; 3(2):197-203.
- Araujo FR, Perez MCL, Werneck R, Araujo CP, Chaves E. Parasites of fowls (*Gallus gallus domesticus*) kept in the backyard, sold in Campo Grande, MS. *Ensaio e Ciencia: Serie Ciencias Biologicas, Agrarias e da Saude* 1999; 3(2): 197-203.
- Arends JJ. Control management of the litter beetle. *Poultry Digest* 1987; 44:172-175.
- Avancini RMP, Silveira GAR. Age Structure and Abundance in Populations of Muscoid Flies from a Poultry Facility in Southeast Brazil. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz* 2000; 95(2):259-264.
- Axtell RC, Arends JJ. Ecology and management of arthropod pests of poultry. *Annual Review of Entomology* 1990; 35:101-126.
- Axtell RC. Fly control in confined livestock and poultry production [technical monograph]. Greensboro: Ciba-Geigy; 1986a.
- Axtell RC. Fly management in poultry production: cultural biological and chemical. **Poultry Science** 1986b; 65:657- 667.
- Axtell RC. Poultry integrated pest management: status and future. *Integrated Pest Management Reviews* 1999; 4:53-73.

Back EA, Cotton R. Stored grain pests. Washington: U.S. Department of Agriculture; 1960.

Bala P, Kaur D, Lipa JJ, Bhagat RC. Gregarina alphetobii spp. n. and Mattesia alphetobii sp. n., parasitizing Alphetobius diaperinus Panz. (Tenebrionidae, Coleoptera). Acta Protozoologica 1990; 29(3):245-256.

Bastos WDA, Coelho MP. Primeira constatação no Brasil de Megninia cubitalis parasitando Galus domesticus de Salvador, Bahia. Boletim do Instituto Biológico da Bahia 1962; 6:26-31.

Bates C, Hiatt KL, Stern NJ. Relationship of *Campylobacter* isolated from poultry and from darkling beetles in New Zealand. **Avian Diseases** 2004; 48:138-147.

Bicho CL, Almeida LM, Ribeiro PB, Silveira Júnior P. Flutuação populacional circanual de coleópteros em granja avícola, em Pelotas, RS, Brasil. Iheringia, Série Zoologia 2005; 95(2):205-212.

Bicho CL, Almeida LM, Ribeiro PB, Silveira Júnior P. Flutuação de Diptera em granja avícola, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Iheringia 2004; 94(2):205-210.

Brown NS. The effect of the host beak condition on the size of *Menacanthus stramineus* populations of domestic chickens. **Poultry Science** 1972; 51:162-64.

Bruno TV, Guimarães JH. Moscas sinantrópicas (Diptera) e seus predadores que se criam em esterco de aves poedeiras confinadas, no Estado de São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Entomologia 1993; 37(3):577-590.

Calibeo DR. Role and mitigation of two vectors of turkey coronavirus, *Musca domestica* L and *Alphetobius diaperinus* Panzer [thesis]. Raleigh: Faculty of Carolina do Norte State Universty; 2002.

Carvalho CJB, Pont AC, Couri MS, Pamplona D, Lopes SM. Part II. Muscidae. In: Carvalho CJB, editor. A catalogue of the Fanniidae and Muscidae (Diptera) of the Neotropical Region. São Paulo: Sociedade Brasileira de Entomologia; 1993. 201p.

Castrillo LA, Brooks WM. Identification of *Beauveria bassiana* isolates from the darkling beetle, *Alphetobius diaperinus* using isozyme and RAPD analyses. Journal Invertebrate Pathology 1998; 72:190-194.

Cestari IM, Sarti SJ, Waib CM, Branco AC Jr. Evaluation of the potential insecticide activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against the head lice *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). Neotropical Entomology 2004; 33(6):805-807.

Chandra S, Agarwal GP, Saxena AK. Seasonal changes in the population of Mallophaga on *Acridothores tristis*. In: Lyra-Neves RM, Farias AMI, Telino-Júnior WR. Interações entre Phthiraptera (Insecta) e aves (Emberizidae) de Mata Atlântica, Pernambuco, Brasil. Ornithologia 2005; 1(1):43-47.

Chernaki-Leffer AM, Ferreira CSA, Ferreira AJP, Kuttel J, Pedroso AC, Martins LM.

Competência vetorial de *A. diaperinus* na transmissão de *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte 2006b [cited 2007 dez 15]. Available from:

[http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=21447&tipo\\_tabela=cet&categoria=saude\\_animal](http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=21447&tipo_tabela=cet&categoria=saude_animal).

Chernaki-Leffer AM, Almeida LM, Sosa-Gómez DR, Anjos A, Vogado KM. Populational fluctuation and spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in poultry house on Cascavel Parana State. *Brazilian Journal of Bioogy* 2007a; 67(2):209-213.

Chernaki-Leffer AM, Almeida LM. Morfologia dos Estágios Imaturos e do Adulto de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 2001a; 18(2):2351-363.

Chernaki-Leffer AM, Almeida LM. Exigências Térmicas, período de desenvolvimento e viabilidade dos estágios imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotropical Entomology* 2001b; 30(3):365-368.

Chernaki-Leffer AM, Biesdorf SM, Almeida LM, Leffer EVB, Vigne F. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no Oeste do Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira Ciência Avícola* 2002; 4(3):243-247.

Chernaki-Leffer AM, Sosa-Gómez DR, Almeida LM. Suscetibilidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) a Reguladores de Crescimento de Insetos (RCI). *Arquivos do Instituto Biológico* 2006a; 73(1):51- 55.

Chernaki-Leffer AM, Sosa-Gómez DR, Almeida LM. Selection for entomopathogenic fungi and LD50 of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok for the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Brazilian Journal of Poultry Science* 2007b; 9(3):187-191.

Chernaki-Leffer AM. Dinâmica populacional, estimativa da resistência a inseticidas e suscetibilidade do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) a inseticidas reguladores de crescimento e a fungos entomopatogênicos [tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2004.

Chirico J, Tauson R. Traps containing acaricides for the control of *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Parasitology* 2002; 110(1-2):109-116.

Chow CY. The commom blue bottle fly *Chrysomya megacephala* as a carrier of pathogenic bacteria in Peiping. *China's Medicine* 1940; 57:145-153.

Cicchino AC, Castro D. Biodiversidad de artrópodos argentinos. La Plata: Ediciones Sur; 1988.

Cooper RG, El Doumani HAA. The presence of quill mites (*Gabucinia bicaudata*) and lice (*Struthiolipeurus struthionis*) in ostrich wing feathers. *Journal South African Veterinary Association* 2006; 77(1):9-11

Costa VA, Berti Filho EB, Silveira Neto SS. Parasitóides (Hymenoptera: Chalcidoidea) de moscas sinantrópicas (Diptera: Muscidae) em aviários de Echaporã, SP. *Arquivos do Instituto*



Biológico 2004; 71(2):203-209.

Costa VA, Berti-Filho E, Makhoul MF. Marava sp. (Dermoptera: Labiidae), predator of haematophagous mites in chicken housing. *Revista de Agricultura* 1994; 69(2):230-242.

Crespo DC, Lecuona RE, Hogsette JA. Strategies for controlling house fly populations resistant to cyromazine. *Neotropical Entomology* 2002; 31(1):141-147.

Crutchfield CM, Hixson H. Food habits of several species of poultry lice with special reference to blood consumption. *Florida Entomologist* 1943; 26(4):63-6.

Das SS, Bhatia BB, Kumar A. Efficacy of Pestoban-D against common poultry lice. *Indian Journal Veterinary Research* 1993; 2(2):25-26.

De Las Casas EC, Harein BS, Mirocha CJ. Detection of the mycotoxin F-2 in the confused flour beetle and the lesser mealworm. *Journal Economic Entomology* 1970; 63:412-415.

DeVaney JA. Ectoparasites. **Poultry Science** 1986; 65:649-56.

Despins JL. Investigations of the destructive behavior, and methods for control of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Dissertation Abstracts International* 1987; 48:334-B.

DeVaney JA. Effects of chicken body louse, *Menacanthus stramineus* on caged layers. **Poultry Science** 1976; 55:430- 435.

Dhillon AS, Parimal R, Lauerman L, Schaberg Dennis, Weber S, Bandli D, Wier F. High mortality in egg layers as a result of necrotic enteritis. **Avian Diseases** 2004; 48(3):675-680.

D'Souza PE, Murthy KS, Jagannath MS. Feather mite infestation in a broiler breeder farm. *Veterinary Record* 2001; 149 (25):777.

Edgar SA, Walsh WL, Johnson L. Comparative efficacy of several insecticides and methods of application in control of lice on chickens. **Poultry Science** 1949; 28:320-38.

Edwards JP, Abraham I. Laboratory evaluation of two insect juvenile hormone against *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal Stored Products Research* 1985; 21:189-194.

Eidson CS, Schmittle SC, Goode RB, Lal JB. Induction of leucosis tumors with the beetle *Alphitobius diaperinus*. *American Journal of Veterinary Research* 1966; 27:1053-1057.

Elowni EE, Elbihari S. Natural and experimental infection of the beetle *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Choanotaenia infundibulum* and other chicken tapeworms. *Veterinary Science Communications* 1979; 3:171-173.

Emerson KC. Mallophaga (chewing lice) occurring on the domestic chicken. *Journal of the Kansas Entomological Society* 1980; 29 (2):63-79.

Fabiya JP. Survey of lice infesting domestic fowl on the Los Plateau, Northern Nigeria. *Bulletin of Animal Health Production África* 1980; 28(3):215-8.

Faccini JLH, Massard CL. Nota sobre a ocorrência de *Ornithonyssus sylviarum* (Canestrini & Fanzago) (Mesostigmata: Macronyssidae) em *Gallus gallus* no Brasil. *Arquivos da Universidade Federal Rural* 1974; 4:39-40.

Faccini JLH, Verocai GG, Lopes LN, Souza CP. Occurrence of *Struthiopterolichus bicaudatus* (Acari; Pterolichidae) in Southeastern Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2006; 58(5):959-960.

Falomo AA. The Pheromone Biology of the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer), (Coleoptera: Tenebrionidae) [tesis]. Madison: University of Wisconsin; 1986.

Figueiredo SM, Guimaraes JH, Gama NMSQ. Biologia e ecologia de malófagos (Insecta, Phthiraptera) em aves de postura de granjas industriais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 1993; 2(1):45-51.

Figueiredo SM, Guimarães JH. Controle do *Menacanthus stramineus* (Nitzsch) com sílica aerogel em aves de postura. *Resumos do 12º Congresso Brasileiro de Entomologia*; 1989; Belo Horizonte, MG. p.475.

Flechtmann CHW, Moraes GJ. Biodiversidade de ácaros no estado de São Paulo. In: Brandão RF, Cancellato EM, editores. *Biodiversidade do estado de São Paulo, Brasil: Síntese do conhecimento ao final do século XX: invertebrados terrestres*. São Paulo: FAPESP; 1999. 279p.

Fonseca F. Notas de acarologia. *Boletim Biológico* 1938; 3:132.

Frolov BA, Tonkonozhenko AP, Kachekova SH. Study of the effectiveness of Thurigen mixed with low doses of coumaphos and Sevin against bird lice (Mallophaga) on poultry. *Problems in Veterinary Sanit.* 1979; 58:92-96.

Gao JR, Kozaki T, Leichter CA. The A302S mutation in *Rdl* that confers resistance to cyclodienes and limited cross-resistance to fipronil is undetectable in field populations of house flies from the USA. *Pesticide Biochemistry Physiology* 2007; 88(1):66-70.

Gaud J, Atyeo WT. Feather mites of the world (Acarina, Astigmata): the supraspecific taxa. Part I. *Annales Musée Royal de L'Afrique Centrale, Sciences Zoologiques, Tervuren* 1996; 277:1-187.

Geden CJ, Arends JJ, Rutz DA, Steinkraus DC. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), in poultry litter, soil, and a pupal trap. *Biology and Control* 1998; 13:71-77.

Geden CJ, Axtell RC. Effect of temperature on nematode (*Steinernema feltiae* [Nematoda: Steinernematidae]) treatment of soil for control of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in turkey houses. *Journal Economic Entomology* 1988; 81:800-803.

Geden CJ, Hogsette JA. 2001. Research and extension needs for integrated pest management for

arthropods of veterinary importance [cited 2007 nov 30]. Available from:  
<http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=10139>.

Geden CJ, Steinkraus DC. Evaluation of three formulations of *Beauveria bassiana* for control of lesser mealworm and hide beetle in Georgia poultry houses. *Journal Economic Entomology* 2003; 96:1602-1607.

George BDJ, Sa'Idu L, Abdu PA. A review and case reports of parasitic arthropods infesting local poultry and their roles in the transmission of haemoparasites in Nigeria. *Tropical Veterinary* 2004; 22(2):61-71.

Georghiou GP. Management of resistance in arthropods. In: Georghiou GP, Saito T, editors. *Pest resistance to pesticides*. New York: Plenum; 1983. p. 769-792.

Gianizella SL, Prado AP. Levantamento e Sazonalidade de Coleópteros (Histeridae) em Criação de Aves Poedeiras. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 1998; 27(4):551-557.

Gjevre AG. Ectoparasites of Norwegian poultry, with emphasis on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Norsk Veterinaertidsskrift* 2002; 114(10):763-769.

Gless EE, Raun ES. Effects of chicken body louse infestation on egg production. *Journal Economic Entomology* 1989; 52:358-9.

Godfrey CRA. *Agrochemical from natural products*. New York: Marcel Dekker; 1994.

Gomes JPC, Guimarães JH. Inimigos naturais de *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) em aviários de postura no Estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico* 1988; 55(Suppl.):30.

Goodwin MA, Waltman WD. 1996. Transmission of *Eimeria*, viruses, and bacteria to chicks: darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. *Journal Applied Poultry Research* 1996; 5:51-55.

Gould GE, Moses HE. Lesser mealworm infestation in a brooder house. *Journal Economic Entomology* 1951; 44:265.

Greenberg B, Povolny D. Bionomics of flies. In: Greenberg B, editor. *Flies and disease: ecology, classification and biotic association*. Princeton: Princeton University Press; 1971. p.56-83.

Guillebeau P, Hinkle N, Roberts P. Summary of losses from insect damage and cost of control in Georgia 2004 [cited 2007 out 31]. Available from:  
<http://entomology.ent.uga.edu/pubs/SurveyLoss04.pdf>

Guillebeau P, Hinkle N, Roberts P. Summary of losses from insect damage and cost of control in Georgia 2004 [cited 2007 out 31]. Available from:  
<http://entomology.ent.uga.edu/pubs/SurveyLoss04.pdf>.

Guillebeau P, Hinkle N, Roberts P. Summary of losses from insect damage and cost of control in

Georgia 2004. [cited 2007 out 31]. Available from:  
<http://entomology.ent.uga.edu/pubs/SurveyLoss04.pdf>.

Guimarães JH, Tucci EC, Barros-Battesti DM. Ectoparasitos de importância veterinária. São Paulo: FAPESP; 2001.

Guimarães JH, Tucci EC, Gomes JPC. Dermoptera (Insecta) associados a aviários industriais no Estado de São Paulo e sua importância como agentes de controle biológico de pragas avícolas. *Revista Brasileira de Entomologia* 1992; 36(3):527-534.

Guimarães JH, Tucci EC. Avaliação da eficiência do óleo mineral no controle do *Dermanyssus gallinae* (De Geer) (Acari, Dermanyssidae) em condições de campo e laboratório. *Revista Brasileira de Entomologia* 1992; 36(4):859-862.

Guimarães JH. Ácaros hematófagos em aviários de postura no Estado de São Paulo. *Agrotécnica Ciba Geigy* 1988; 14-19.

Guimarães JH. Considerações gerais sobre moscas do gênero *Chrysomya* no Brasil. *Agroquímica Ciba Geigy* 1984 b; 24:8-12.

Guimarães JH. Controle do *Dermanyssus gallinae* (De Geer), (Acari: Dermanyssidae) com óleo mineral OPPA em aviários de postura no Estado de São Paulo. *Anais do 12º Congresso Brasileiro de Entomologia*; 1989; Belo Horizonte, MG. Brasil. Belo Horizonte: SEB; 1989. p. 284.

Guimarães JH. Mosca dos estábulos, uma importante praga para o gado. *Agroquímica Ciba-Geigy* 1984a; 23:10-4.

Hamm R, Kaufman PE, Reasor CA, Rutz DA, Scott JG. Resistance to cyflthrin and tetrachlorvinphos in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, collected from the eastern United States. *Pest Management Science* 2006; 62:673-677.

Hamscher G, Priess B, Hartung J, Nogossek MI, Gluender G, Nau H. Determination of propoxur residues in eggs by liquid chromatography-diode array detection after treatment of stocked housing facilities for the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Analitica Chimica Acta* 2003; 483(1-2):19-26.

Hamscher G, Priess B, Nau H. Determination of phoxim residues in eggs by using high-performance chromatograph diode array detection after treatment of stocked housing facilities for the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Analitica Chimica Acta* 2007; 586(1-2):330-335.

Harding WC, Bissel TC. Lesser mealworm in a brooder house. *Journal Economic Entomology* 1958; 51:112.

Harrison IR. The biology of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and its control with contact and systemic insecticides. *Proceedings of the 11th International Entomology Congress*; 1962; Vienna. p.469-73.

Hinton JL, Moon RD. Arthropod populations in high-rise, caged-layer houses after three manure

cleanout treatments. *Journal Economic Entomology* 2003; 96:1352-1361.

Hoffman GV. Vogelmilben als Lästlinge, Krankenheisserzeuger und Vektoren bei Mensch und Nutztier. *Deutsche Tierarztl Wochenschr* 1987; 95:7-10.

Hoffman RA, Gingrich RE. Dust containing *Bacillus thuringiensis* for the control of the chicken body, shaft and wing lice. *Journal Economic Entomology* 1968; 61:85-8.

Hogsette JA. The influence of poultry operations on the urban fly problem in the eastern United States. In: Thomas GD, editor. *Rural flies in the urban environment*. Lincoln: University of Nebraska; 1993. p.17-22.

Hotson IK. The avermectins: a new family of antiparasitic agents. *Journal South African Veter.Association* 1982; 53(2):87-90.

Islam MK, Mondal MMH, Rahman MM, Haque AKMF, Chowdhury MAA. Effects of *Lipeurus caponis* Linnaeus, 1758 (Mallophaga: Philopteridae) on laying hens. *Vet. Rev. Kathmandu* 1999; 14:32-33.

Karunamoorthy G, Chellappa DJ, Anandan R. The life history of *Suburula brumpti* in the beetle *Alphitobius diaperinus*. *Indian Veterinary Journal* 1994; 71:12-15.

Keiding J. *The house-fly: biology and control* [WHO/VBC/86. 937]. Geneva: OMS; 1986.

Khan MN, Nadeem M, Zafar I, Sajid MS, Abbas RZ. Lice infestation in poultry. *International Journal of Agriculture and Biology* 2003; 5(2):213-216.

Kumar P. Flesh eating behaviour of *Alphitobius diaperinus* Panz. (Tenebrionidae: Coleoptera). *Indian Journal Entomology* 1986; 48:113-115.

Lambkin TA, Rice SJ. Baseline responses of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to cyfluthrin and detection of strong resistance in field populations in eastern Australia. *Journal Economic Entomology* 2006; 99: 908-913.

Lambkin TA. Investigations into the management of the darkling beetle. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Publication N° 01/151. RIRDC Project N° DAQ-244J [cited 2003 out 15]. Available from: [www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf](http://www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf).

Larramendy R, Zczypel SB, Hernández M, Valdés L, Llanes Y, Estrada J. Neem: its natural products for the control of poultry parasites, beetles, and housefly larvae. *Revista Cubana de Ciências Avícolas* 2004; 28(1):1-6.

Larramendy R, Zczypel SB, Hernández M, Valdés L, Llanes Y. El Nim: sus productos naturales para el control de parásitos de las aves, coleópteros y larvas de la mosca doméstica. *Revista Cubana de Ciências Avícolas* 2003; 27:1-6.

Le Torc'h JM. A new pest of rearing buildings (*Alphitobius diaperinus* in pigstyes, Brittany).

Phytoma 1979; 308:31-33.

Linardi PM. Piolhos: sugadores e mastigadores. In: Marcondes CB. Entomologia médica e veterinária. São Paulo: Ed. Atheneu; 2001. 431p.

Lonc E, Lachowicz TM. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* subspecies against *Menopon gallinae* (Mallophaga: Menoponidae). *Angewandte Parasitologie* 1987; 28:173-6.

Lonc E, Mazurkiewicz M, Doroszkiewicz W, Kolpa A, Manka M. Microbial control of coleopteran larvae of *Alphitobius diaperinus* and *Tenebrio molitor* - grain pests. *Medycyna Weterynaryjna* 2001; 57(4):258-262.

Lundh J, Wiktelius D, Chirico J. Azadirachtin-impregnated traps for the control of *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Parasitology* 2005; 130(3-4):337-342.

Marchiori CH. Microimenópteros de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) coletados em diferentes substratos em Itumbiara, Goiás. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2006; 58(3):447-449.

Marcolin SD. Processos de tratamento para reutilização de camam de aviário: aspectos econômicos. *Anais da Conferência APINCO 2006 de Ciência e Tecnologia Avícolas*; 2006; Campinas. p.25-31.

Martins NRS, Horta AC, Siqueira AM, Lopes SQ, Resende JS, Jorge MA, Assis RA, Martins NE, Fernandes AA, Barrios PR, Costa TJR, Guimarães LMC. *Macrorhabdus ornithogaster* in ostrich, rhea, canary, zebra finch, free range chicken, turkey, guinea-fowl, columbina pigeon, toucan, chuckar partridge and experimental infection in chicken, japanese quail and mice. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2006; 58 (3):291-298.

Matthysse JG. External parasites. In: Calnek BW, editor. *Diseases of poultry*. 6th ed. Ames: Iowa State University Press; 1972. p.815-20.

Mattos Júnior DG, Amaral JA, Porto M, Fedullo LPL, Balthazar LMC, Tucunduva P. Registro de ácaros em avestruz no estado do Rio de Janeiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2007; 59(2):536-538.

Mazzuco H, Kunz A, Paiva DP, Jaenisch FRF, Palhares JCP, Abreu PG, Rosa PS, Ávila VS. Boas práticas de produção na postura comercial [circular Técnica, 49]. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves; 2006.

McAllister JC, Steelman CD, Newberry LA, Skeeles JK. Isolation of infectious bursal disease virus from the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). ***Poultry Science*** 1995; 74:45-49.

McCreary D, Catts EP. Ectoparasites of Delaware poultry including a study of litter fauna. *Delaware Agricultural Experimental Station Bulletin* 1954; 307:1-22.

Meyer-Kuehling B, Pfister K, Mueller-Lindloff J, Heine J. Field efficacy of phoxim 50%

(ByeMite((R))) against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* in battery cages stocked with laying hens. *Veterinary Parasitology* 2007; 147(3- 4):289-296.

Miller RW, Redfern RE. Feed additives for control of lesser mealworm (Coleoptera; Tenebrionidae) in poultry broiler houses. *Journal Economic Entomology* 1988; 81:1137-1139.

Monteiro MR, Prado AP. Ocorrência de *Trichopria* sp. (Hymenoptera: Diapriidae) atacando pupas de *Chrysomya putoria* (Wiedemann) Diptera: Calliphoridae) na granja. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 2000; 29(1):159-167.

Monteiro MR, Prado AP. Moscas sinantropicas (Diptera: Cyclorhapha) e seus parasitoides microhimenopteros (Insecta: Hymenoptera) num plantel avicola de Monte Mor, Sao Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 2006; 15(2):49-57.

Moon RD, Meyer HJ. Nonbiting flies. In: Williams RE, Moonhall RD, Broce AB, Scholl PJ, editors. *Livestock entomology*. Canada: John & Williams; 1985.

Moro CV, Fravallo P, Amelot M, Chauve C, Zenner L, Salvat G. Colonization and organ invasion in chicks experimentally infected with *Dermanyssus gallinae* contaminated by *Salmonella* Enteritidis. *Avian Pathology* 2007; 36(4):307.

Mullens BA, Velten RK, Hinkle NC, Kuney DR, Szijj CE. Acaricide resistance in Northern fowl mite (*Ornithonyssus sylviarum*) populations on caged layer operations in Southern California. *Poultry Science* 2004; 83(3):365-374.

Mullens BA. Cultural control of poultry ectoparasites. Riverside: Department of Entomology; 2006.

Naheed A, Bibi A. Chewing lice (Insecta: Mallophaga) of domestic chickens at Jand (district Attock). *Proceedings of Pakistan Congress of Zoology* 2004; 24:115-123.

Nelson WA. A revision of the New World species of *Ricinus* (Mallophaga) occurring on Passeriformes (Aves). *University of California Publications in Entomology* 1972; 68:1-130.

Neves DP, Souza FTP, Silva JML, Cunha HC. Controle de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) em dejetos de galinhas poedeiras, por larvas de *Alphitobius piceus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 1987; 39(4):547-551.

Njunga GR. Ecto and haemoparasites of chickens in Malawi with emphasis on the effects of the chicken louse, *Menacanthus cornutus* [cited 2007 nov 22]. Available from: [http://www.poultry.life.ku.dk/upload/poultry/master\\_theses/njunga.pdf](http://www.poultry.life.ku.dk/upload/poultry/master_theses/njunga.pdf).

Nordenfors H, Chirico J. Evaluation of a Sampling Trap for *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Journal Economic Entomology* 2001; 94(6):1617-1621.

Nuorteva P. Synanthropy of blowflies (Dipt., Calliphoridae) in Finland. *Annales Entomologici Fennici* 1964; 29:1-49.

- Nyaile SFC, Thekiso MM, Bisschop SPR, Mbatia PA. A diagnostic survey of avian parasitic infections from village poultry in Qwa-Qwa, South Africa. *Journal of Protozoology Research* 2003; 13(3-4):44-50.
- O'Connor JP. *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Col. Tenebrionidae) damaging polystyrene insulation in Irish piggery. *Entomologist's Monthly Magazine* 1987; 123:50.
- Oliveira CMP, Ribeiro VLS. Ocorrência de *Menacanthus cornutus* (Mallophaga: Menoponidae) em galinhas do Rio Grande do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 1990; 42(2):121-126.
- Oliveira DGP, Alves LFA. Interação do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. com *Terra Diatomácea* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), o Cascudinho dos Aviários. *BioAssay* 2007; 2:6.
- Oliveira HH, Ferreira I, Serra-Freire NM. Mallophaga found to be ectoparasitic on *Gallus gallus* L. and *Columba livia* L. sampled in Rio de Janeiro - Brazil. *Entomologia y Vectores* 1999; 6(5):509-515.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. Lucha antivectorial aplicada al paludismo y a otras enfermedades transmitidas por mosquitos [série de informes técnicos]. Ginebra; 1995.
- Peck JH, Anderson JR. Arthropod predators of immature Diptera developing in poultry droppings in Northern California Part I. Determination of seasonal abundance and natural cohabitation with prey. *Journal of Medical Entomology* 1969; 6:163-167.
- Pedroso-Paiva D. Controle integrado de moscas em avicultura intensiva de postura [cited 2007 nov 27]. Available from: <http://www.cnpsa.embrapa.br>.
- Pinto C, Possati M, Villaca A, Guerim L, Sa-Freire L, Serra-Freire NM. The occurrence of Mallophaga on rural hens and its relationship to plumage colour. *Entomologia y Vectores* 2001; 8(3):295-301.
- Pinto Jr. AR, Pereira PRVS, Maccari Jr. A. Avaliação da eficácia de diflubenzurom no controle de moscas (*Musca domestica* Linnaeus) (Diptera: Muscidae) em aviários de postura. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais* 2003; 1(2):55-62.
- Pinto MC, Prado AP. Resistance of *Musca domestica* L. populations to cyromazine (Insect Growth Regulator) in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2001; 96:729-732.
- Prado AP, Gianizella SL. Distribuição sazonal e abundância de Dermaptera e Coleoptera associados à fezes de aves poedeiras em Monte Mor, SP. *Resumos da 4ª Reunião Anual do Instituto Biológico*; 1991 nov 25-29; São Paulo, SP. Brasil. p.29.
- Prado AP. Moscas domésticas. *Biológico* 1997; 59(2):7-9.
- Prado GP. Caracterização química e bioatividade do óleo essencial de *Cunila angustifolia* Benth (Lamiaceae) sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)



[dissertação]. Chapecó: Universidade Comunitária Regional de Chapecó; 2007.

Prelezov P, Gundasheva D, Groseva N. Haematological changes in chickens experimentally infected with biting lice (Phthiraptera-Insecta). *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 2002; 5(1):29-37.

Prelezov P, Lyutskanov M. Bacterial microflora of biting lice in an experimental mixed invasion in chickens. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 2002; 2:135-140.

Prelezov PN, Groseva NI, Goundasheva DI. Pathomorphological changes in the tissues of chickens, experimentally infected with biting lice (Insecta: Phthiraptera). *Veterinarski Arhiv* 2006; 76(3):207-215.

Price RD, Hellenthal RA, Palma RL, Johnson KP, Clayton DA. The chewing lice: world checklist and biological overview [special publication, 24]. Illinois: Natural History Survey; 2003.

Qiu X, Li M, Luo H. Molecular analysis of resistance in a deltamethrin-resistant strain of *Musca domestica* from China. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2007; 89(2):146-50.

Reis J, Reis AS, Nobrega P. Moléstias das aves observadas em São Paulo. *Archivos do Instituto Biológico* 1934; 5:41- 9.

Reis J. Alguns parasitas de *Gallus gallus* (L.) verificados em São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico* 1939; 10:147- 153.

Reyna PS, McDougald LR, Mathis GF. Survival of coccidia in poultry litter and reservoirs of infection. *Avian Diseases* 1983; 27:464-473.

Ribeiro PB, Costa PRP, Kruger RF, Bicho CL. Ocorrência de *Goniocotes gallinae* (De Geer, 1778), *Lipeurus* sp. (Mallophaga, Philopteridae) e *Menopon gallinae* (Linnaeus, 1758) (Mallophaga, Menoponidae), em *Numida meleagris* (Linnaeus, 1758) (Galinha d' Angola), em Arroio Grande, RS, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico* 2003; 70(2):227.

Ribeiro VLS, Ribeiro MM, Peruzzi J. *et al.* Ocorrência de *Gabucinia bicaudata* (Acari: Gabuciniidae) em *Struthio camelus* (Struthioniformes: Struthionidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 2004; 13(supl. 1):346.

Ribeiro VLS, Salle CTP, Ferreira MG, Guahyba AS. Ocorrência de *Ornithonyssus sylviarum* (Canestrini & Fanzago, 1877) (Gamasida: Macronyssidae) em *Gallus gallus* L. no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária* 1996; 24(1):107-113.

Rodriguez-Antelo R, Diaz G, Martin EL. Preliminary results at laboratory scale of control of *Menopon gallinae*, an ectoparasite of the hen. *Revista Cubana de Ciências Avícolas* 1997; 21(2):115-117.

Roush RT. Designing resistance management programs: how can you choose? *Pesticide Science* 1989; 26:423-441.

- Safrit RD, Axtell RC. Evaluations of sampling methods for darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) in the litter of turkey and broiler houses. *Poultry Science* 1984; 63:2368-75.
- Salin C, Delette YR, Cannavacciuolo M, Vernon P. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. *European Journal Soil Biology* 2000; 36:107- 115.
- Salin C, Delette YR, Vernon P. Controlling the Mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler and turkey houses: field trials with a combined insecticide treatment: insect growth regulator and pyrethroid. *Journal Economic Entomology* 2003; 96:126-130.
- Santa Cruz AMC, González AO, Agüero MC, Cayo D, González JA, Ortiz JC, Comolli JA, Roux JP, Toccalino PA, Navías J. Descripción de la Morfología externa por microscopia de luz y electronica de barrido de *Megninia ginglymura*, Megnin, 1877 en faisán de collar (*Phasianus torquatus*), en un criadero de corrientes. XXIV Sesión de Comunicaciones Científicas 2003. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nordeste [cited 31 out 2007]. Available from: <http://www.vet.unne.edu.ar/ComCientificas/sesion-03/posters/SesionCom43.doc>.
- Santoro PH, Neves PMOJ, Alexandre TMA LFA. Interferência da metodologia nos resultados de bioensaios na seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2007; 42:(483- 489).
- Santos JC, Alves LFA, Rohde C, Bonini AK. Efeito da combinação de espécies de fungos entomopatogênicos e de temperatura de incubação na mortalidade de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). *Semina: Ciências Agrárias* 2006; 27:525-532.
- Santos-Prezoto HH, Silva MO, Daemon E, D'Agosto M, Prezoto F. Places of localization of ectoparasites on *Gallus gallus* Linnaeus, 1758. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2003; 5(1):129-135.
- Sayed K, Rizvi AS, Naz S. Seasonal effects on population of chicken lice (Mallophaga: Insecta). *International Journal of Biology and Biotechnology* 2005; 2(4):921-924.
- Schroeckenstein DC, Meier-Davis S, Graziano FM, Falomo A, Bush RK. Occupational sensitivity to *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (lesser mealworm). *Journal Allergy Clinical Immunology* 1988; 82:1081-1088.
- Seegar WS, Schiller EL, Sladen WJL, Trapis MA. Mallophaga, *Trinoton anserinum* as cyclodevelopmental vector for a heartworm parasite of water fowl. *Science* 1976; 194:739-41.
- Segabinazi SD, Flores ML, Barcelos AS, Jacobsen G, Eltz RD. Bactérias da família Enterobacteriaceae em *Alphitobius diaperinus* oriundos de granjas avícolas. *Acta Scientiae Veterinariae* 2005; 33:51-55.
- Shono T, Zhang L, Scott JG. Indoxacarb resistance in the house fly, *Musca domestica*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2004; 80(2):106-12.
- Silva SO, Oliviera HH, Friccielo RH, Serra-Freire NM. Malofagos parasitas de aves campestres

cativas do Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba, Estado de São Paulo, Brasil. *Entomologia y Vectores* 2004; 11(2):333- 339.

Smith VS. Avian louse phylogeny (Phthiraptera: Ischnocera): a cladistic study based on morphology. *Zoological Journal Linnean of the Society* 2001; 132:81-84.

Skov MN, Spencer AG, Hald B, Petersen L, Nauerby B, Carstensen B, Madsen M. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. *Avian Diseases* 2004; 48:9-18.

Steelman D. Darkling beetles are costly pests. *Poultry Digest* 1996; 55(10):22-23.

Steenburg T, Humbert RA. Entomopathogenic potential of *Verticillium* and *Acremonium* species (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Journal Invertebrate Pathology* 1999; 73:309-314.

Steinkraus DC, Brooks WM, Geden CG. Discovery of the neogregarine *Farinocystis tribolii* and an eugregarine in lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. *Journal Invertebrate Pathology* 1992; 59:203-205.

Steinkraus DC, Cross EA. Description of life history of *Acarophenax mahunkai*, n. sp. (Acari, Tarsonemina: Acarophenacidae), an egg parasite of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America* 1993; 86:239-249.

Steinkraus DC, Geden CJ, Rutz DA. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae): effects of host stage, substrate, formulation, and host passage. *Journal Medical of Entomology* 1991; 28:314-321.

Stockdale HJ, Raun ES. Economic importance of the chicken body louse. *Journal Economic Entomology* 1960; 53 (3):421-3.

Szczypel B, Larramendy R, Hernández YM. Evaluación de distintos insecticidas frente a ectoparásitos de la gallina doméstica. *Revista Cubana de Ciências Avícolas* 2003; 26:121-124.

Tabassum R, Naqvi SNH, Jahan M, Nurulain SM, Khan MF, Azmi MA. Determination of the Toxicities of Fenpropathrin (Pyrethroid) and Neem Formulation (RB-a+PBO+Tx-100) Against *Alphitobius diaperinus* Adults and Their Effects on Transaminases. *Turkish Journal of Zoology* 1998; 22:319-322.

Thomazini MJ, Berti Filho E. Ciclo biológico, exigências térmicas e parasitismo de *Muscidifurax uniraptor* em pupas de mosca doméstica. *Scientia Agricola* 2001; 58(3):469-473.

Tucci EC, Guastali EAL, Rebouças MM, Mendes MC, Gama NMSQ. Infestação por *Megninia* spp. Em criação industrial de aves produtoras de ovos para consumo. *Arquivos do Instituto Biológico* 2005a, 72(1):121-124.

Tucci EC, Guimarães JH, Bruno TV, Gama NMSQ, Santos AMM. Ocorrência de ácaros hematófagos em aviários de postura no Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Parasitologia* 1996; 5(2):95-102.

Tucci EC, Prado AP, Araújo RP. Fecundidade de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae) em laboratório. Arquivos do Instituto Biológico 2005b; 72(1):29-32.

Turner EC Jr. Structural and litter pests. **Poultry Science** 1986; 65: 644-648.

UBA: União Brasileira de Avicultura [cited 2007 nov 15]. Available from: <http://www.uba.org.br>.

Valin MP, Raposo MAE, Serra-Freire NM Associações entre malófagos (Insecta, Phthiraptera) e albatrozes e petréis (Aves, Procellariiformes) capturados no Brasil. Revista Brasileira de Zoologia 2006; 23(4):1111-1116.

Vaughan JA, Turner EC Jr. Residual and topical toxicity of various insecticides to the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal Economic Entomology 1984; 77:216-220.

Vaughan JA, Turner Jr. E, Ruzler PC. Infestation and damage of poultry house insulation by the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). **Poultry Science** 1984; 63:1094-1100.

Vaz Z. Ectoparasitas de animais domésticos observados no Estado de São Paulo. Arquivos do Instituto Biológico 1935; 6(2):29-33.

Vazirianzadeh B, Rahdar M, Molaee SM. Mallophaga of domestic birds of Ahwaz, Iran. Journal of Experimental Zoology 2007; 10(1):75-77.

Voris JC, Meyer JA, Pfoest R, Woodbury R. Temperature affects lesser mealworm populations in turkey brooder houses. California Agriculture 1994; 48:18-21.

Waizbort RF, Duarte MJF, Araújo LG, Silva RCF, Bonaccorsi RA. Ocorrência de *Megninia ginglymura* em *Gallus gallus* no Estado do Rio de Janeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 1987; 22(8):855-858.

Waka M, Hopkins RJ, Curtis C. Ethnobotanical survey and testing of plants traditionally used against hematophagous insects in Eritrea. Journal of ethnopharmacology 2004; 95:95-101.

Walker E, Stacheki J. Livestock Pest Management. MSU manual number: E-2601. MSU Pesticide Education Program Prepares you for: Michigan Category 1D exam on livestock pest management [cited 2007 dez 07]. Available from: <http://www.pested.msu.edu/Resources/bulletins/E2601.html>.

Warren DC, Eaton R, Smith H. Influence of infestation of body lice on egg production in the hen. **Poultry Science** 1948; 27:641-2.

Watson DW, Guy JS, Stringham SM. Limited transmission of turkey coronavirus in young turkeys by adult *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal Medical Entomology 2000; 37:480-483.

Watson DW, Nino EL, Rochon K, Denning S, Smith L, Guy JS. Experimental evaluation of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) as a vector of Newcastle disease virus. Journal Medical Entomology 2007; 44(4):666-671.

Weaver DK. The role of selected frass chemicals and cuticular lipid components in the orientation of certain larval tenebrionidae [tesis]. Quebec: McGill University; 1989.

Weaver JE, Kondo VA. Laboratory evaluation of insect growth regulators in producing lesser mealworm mortality and egg infertility. **Journal Agricultural of Entomology** 1987; 4:233-245.

Wilson FH. A louse feeding on the blood of its host. **Science** 1933; 77(2003):490.

## Ectoparasitas e outros artrópodes importantes para a indústria avícola brasileira

<b>Introdução</b>	<b>909</b>
<b>Principais helmintos parasitos de aves</b>	<b>909</b>
<i>Classe Cestoda - Filo Platyhelminthes</i>	909
<b>Principais espécies de cestódeos parasitos de aves</b>	<b>910</b>
<i>Amoebotaenia cuneata (Linstow, 1872) - Família Dilepididae</i>	910
<i>Choanotaenia infundibulum (Bloch, 1779) Família - Dilepididae</i>	910
<i>Davainea proglottina (Davaine, 1860) - Família Davaineidae</i>	911
<i>Hymenolepis carioca (Magalhães, 1898) - Família Hymenolepididae</i>	911
<i>Raillietina cesticillus (Molin, 1858) - Família Davaineidae</i>	911
<i>Raillietina tetragona (Molin, 1858) - Família Davaineidae</i>	912
<i>Raillietina echinobothrida (Megnin, 1881) - Família Davaineidae</i>	912
<i>Classe Nematoda - Filo Nemathelminthes</i>	912
<b>Principais espécies de nematódeos parasitos de aves</b>	<b>913</b>
<i>Ascaridia galli (Schrank, 1788) - Família Ascarididae</i>	913
<i>Capillaria spp - Família Capillaridae</i>	913

<i>Cheilospirura hamulosa</i> (Diesing, 1851) - Família Acuaridae	913
<i>Gongylonema ingluvicola</i> (Ronson, 1904) - Família Spiruridae	914
<i>Heterakis gallinarum</i> (Schrank, 1788) - Família Heterakidae	914
<i>Oxyspirura mansoni</i> (Cobbold, 1879) - Família Thelazidae	914
<i>Tetrameres confusa</i> (Travassos, 1919) - Família Tetrameridae	915
Classe Trematoda Filo Platyhelminthes	915
<b>Principais espécies de trematódeos parasitos de aves</b>	<b>916</b>
<i>Echinostoma revolutum</i> (Froelich, 1802) - Família Echinostomatidae	916
<i>Episthmium oscar</i> (Travassos, 1923) - Família Echinostomatidae	916
<i>Prosthogonimus cuneatus</i> (Rudolph, 1809) - Família Prosthogonimidae	916
<i>Prosthogonimus ovatus</i> (Rudolph, 1803) - Família Prosthogonimidae	916
<i>Tanaisia bragai</i> (Santos, 1934) - Família Eucotylidae	917
<i>Postharmostomum cummutatum</i> (Diesing, 1858) - Família Brachylaemidae	917
<i>Zygocothile lunata</i> (Diesing, 1836) - Família Paramphistomatidae	917
<b>Controle das verminoses</b>	<b>917</b>
<b>Principais grupos químicos de anti-helmínticos indicados para tratamento de aves</b>	<b>917</b>

<i>Benzimidazóis</i>	917
<i>Benzimidazóis mais conhecidos disponíveis no mercado</i>	918
<i>Os benzimidazóis e o mercado externo</i>	918
<b>Imidotiazóis</b>	<b>919</b>
<b>Praziquantel</b>	<b>919</b>
<b>Controle de hospedeiros intermediários</b>	<b>919</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>919</b>



# Endoparasitoses em aves de produção industrial

Giane Serafim da Silva, Alexandre Teixeira Zocche

## Introdução

A indústria avícola, referenciada dentre as cadeias produtivas que compõem o agronegócio, alcançou o enorme sucesso graças à completa interação entre os diversos segmentos que a compõe, sendo que os avanços tecnológicos propiciam a expressão de excelentes índices de produtividade, exigindo, concomitantemente, adequado programa de biossegurança.

As endoparasitoses muitas vezes têm sido caracterizadas como de importância secundária na elaboração de programas de biossegurança, talvez por se considerar o curto ciclo de produção das aves de corte e as modernas instalações. No entanto, práticas de monitoramento, prevenção ou tratamento devem ser adotadas, uma vez que adultos e formas imaturas dos helmintos podem interferir significativamente na saúde e no desempenho das aves, seja de forma direta, causando lesões em órgãos parasitados, ou de forma indireta, atuando como vetores ou reservatórios de agentes patogênicos.

## Principais helmintos parasitos de aves

Os vermes mais frequentemente encontrados parasitando aves domésticas pertencem às classes cestoda (**Figura 1**), nematoda (**Figura 2**) e trematoda. O entendimento da biologia do parasito, assim como de sua relação com o hospedeiro, torna-se crucial para o estabelecimento de medidas eficazes de prevenção e controle.



**Figura 1** - Observação, à necropsia, de infecção do trato intestinal de ave por cestódeos.

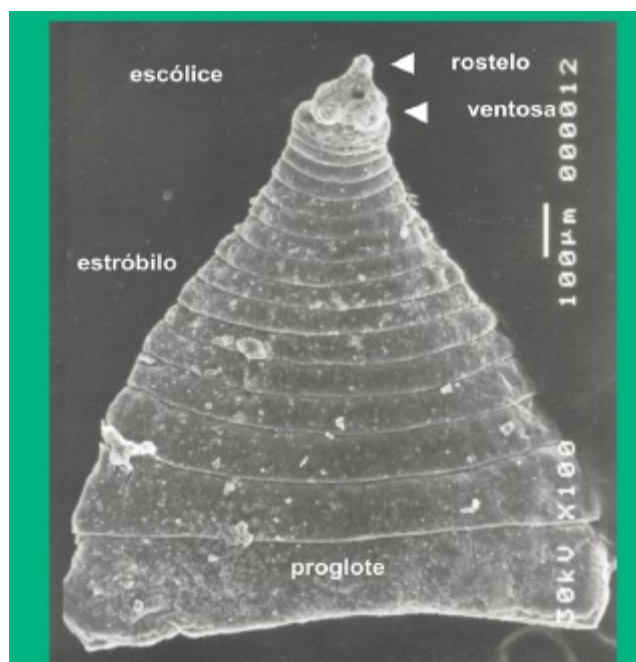


**Figura 2** - Observação, à necropsia, de infecção do trato intestinal de ave. *Ascaridia galli*.

### Classe Cestoda - Filo Platyhelminthes

A classe cestoda congrega os endoparasitos que se apresentam achatados dorso-ventralmente, em formato de fita, segmentados, variando de tamanho microscópico a vários centímetros.

Apresentam morfologia típica, caracterizada por três regiões distintas: escólice, colo e estróbilo (**Figura 3**). No escólice, extremidade anterior, estão inseridos as ventosas e o rostelo ou rostro (**Figuras 4 e 5**), responsáveis pela fixação do parasito. Suas características, como presença ou ausência de espinhos, também denominados acúleos ou ganchos, permitem a diferenciação de espécies, sendo empregadas nas chaves classificatórias (ventosas e rostelos armados ou desarmados).



**Figura 3** - Morfologia de cestódeo *Amoebotaenia cuneata*. Ultramicrografia de varredura.

O estróbilo é formado por uma cadeia de proglotes, as quais são produzidas continuamente por processo assexual, a partir do colo, se diferenciando em proglotes imaturas, maduras (órgãos genitais desenvolvidos) e, por fim, proglotes grávidas. Os órgãos masculinos e femininos estão

presentes na mesma proglote, podendo ocorrer autofecundação, fecundação entre proglotes de um mesmo estróbilo ou fecundação cruzada entre proglotes pertencentes a estróbilos distintos. A classe é caracterizada pela ausência de trato digestivo.

O ciclo biológico dos cestódeos é indireto (**Figura 6**), havendo a participação de hospedeiros intermediários (HI).

## Principais espécies de cestódeos parasitos de aves

### *Amoebotaenia cuneata* (Linstow, 1872) - Família Dilepididae

Parasita as vilosidades do duodeno, resultando em interferências no desempenho zootécnico e mortalidade quando em infecções maciças. Com tamanho que varia de 2 a 4mm de comprimento e formato triangular (**Figura 3**), à necropsia são visualizadas projeções brancas, característica que permite o diagnóstico.

As ventosas são proeminentes e não armadas, enquanto o rostelo, que é retrátil, possui uma única fileira de acúleos. O estróbilo apresenta, em média, 20 proglotes.

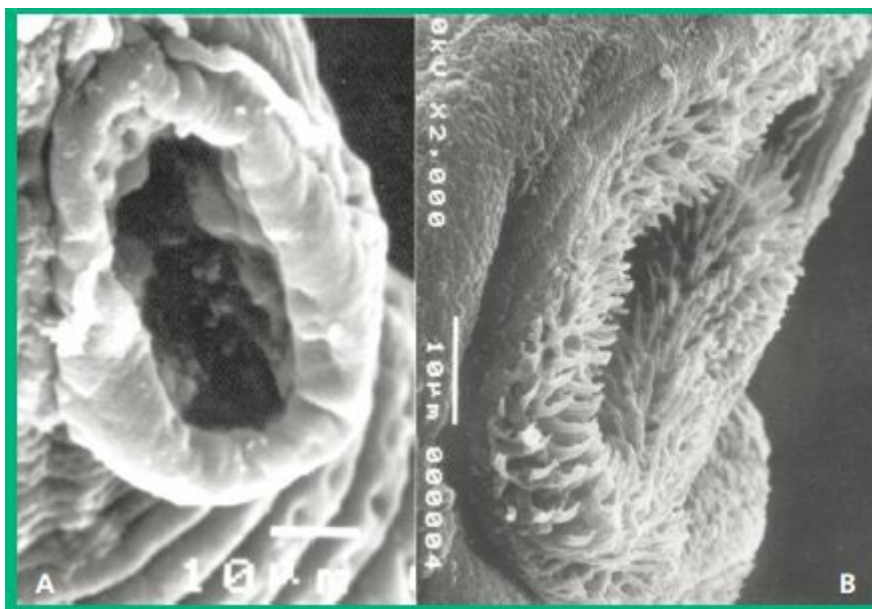
Várias espécies de anelídeos (*Allotophora*, *Pheritima*, *Ocnerodrilus* e *Lumbricus*) atuam como hospedeiros intermediários.

Período Pré-Patente: 30 dias

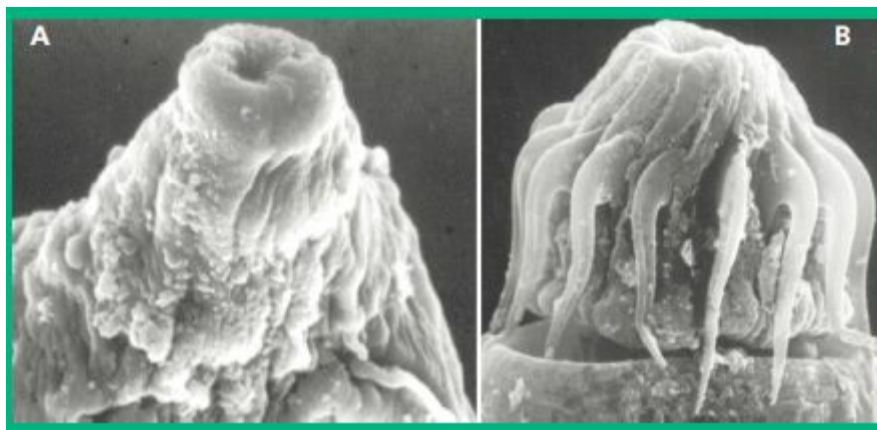
### *Choanotaenia infundibulum* (Bloch, 1779) Família - Dilepididae

De coloração extremamente branca e com tamanho acima de 20cm de comprimento, esta espécie é encontrada na metade posterior do intestino das aves, sendo considerada patogênica apenas em casos de elevada infecção, quando podem causar obstrução intestinal.

As ventosas não são armadas, enquanto o rostelo apresenta-se armado com uma única fileira de espinhos.



**Figura 4** - Ventosas de cestódeos parasitos de aves. A. ventosa desarmada. B. ventosa armada. Ultramicrografia de varredura.



**Figura 5** - Rostelo de cestódeos parasitos de aves. A. rostelo desarmado. B. rostelo armado. Ultramicrografia de varredura.

As proglotes grávidas, mais longas que largas e com bordas anteriores mais estreitas lhe conferem a aparência de “sino”.

Coleópteros, gafanhotos e moscas domésticas apresentam-se como hospedeiros Intermediários.

Período Pré-Patente: duas a três semanas

### **Davainea proglottina (Davaine, 1860) - Família Davaineidae**

Considerada a espécie de maior patogenicidade, introduzem-se profundamente nas vilosidades, causando inflamação, hemorragia e edema na parede duodenal. A infecção pode levar a um quadro de anemia e emaciação. As aves apresentam movimentos lentos, dificuldade de respiração, paralisia, fraqueza, podendo chegar à morte.

De tamanho microscópico (aproximadamente 4mm), o estróbilo é formado por, no máximo, nove proglotes. Existem relatos da recuperação de mais de 3000 vermes de uma única ave e mais de 1500 cisticercóides de um hospedeiro intermediário.

As ventosas são circulares, pouco desenvolvidas, armadas com três a seis anéis de espinhos, e o rostelo, também armado, apresenta um a dois anéis de acúleos.

Moluscos gastrópodes (lesmas) constituem os hospedeiros intermediários.

Período Pré-Patente: aproxima- damente 15 dias

### *Hymenolepis carioca* (Magalhães, 1898) - Família Hymenolepididae

Considerada pouca patogênica, parasita o duodeno. Apresentando centenas de proglotes de difícil percepção, com aspecto de “linha”, varia de 3 a 8cm de comprimento.

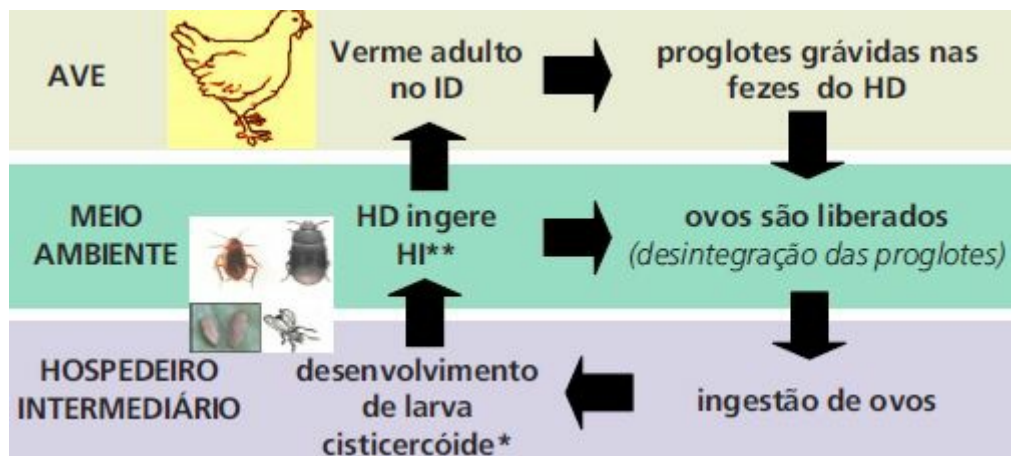
As ventosas e rostelo não são armados, havendo a presença de sacos rostelares, característica auxiliar na identificação.

Moscas (*Stomoxys calcitrans*) e coleópteros coprófagos têm sido apontados com sendo os hospedeiros intermediários.

### *Raillietina cest icillus* (Molin, 1858) - Fa- mília Davaineidae

Pode atingir até 15cm de comprimento, sendo encontrada no duodeno ou jejuno. Estudos devem ser conduzidos para melhor definição do grau de patogenicidade, uma vez que é descrito na literatura desde ausência de interferência nos parâmetros zootécnicos de aves, até queda de desempenho, em função de degeneração e inflamação das vilosidades.

Possui quatro ventosas não armadas e o rostelo, armado com dupla fileira de espinhos, apresenta-se distintivo e retrátil. As proglotes são mais largas do que longas, sendo tal característica, auxiliar na identificação da espécie.



**Figura 6** - Ciclo biológico geral de cisticercódeos parasitos de aves. \*O ovo eclode no intestino do HI e o embrião penetra na parede, desenvolvendo a larva cisticercóide (aproximadamente duas semanas). \*\*Após HI ser ingerido pela ave, as larvas libertam-se do hospedeiro e, no tubo digestivo da ave, o cisticercóide é ativado pela bile, evaginando-se e fixando-se na parede intestinal, dando início a formação do estróbilo.

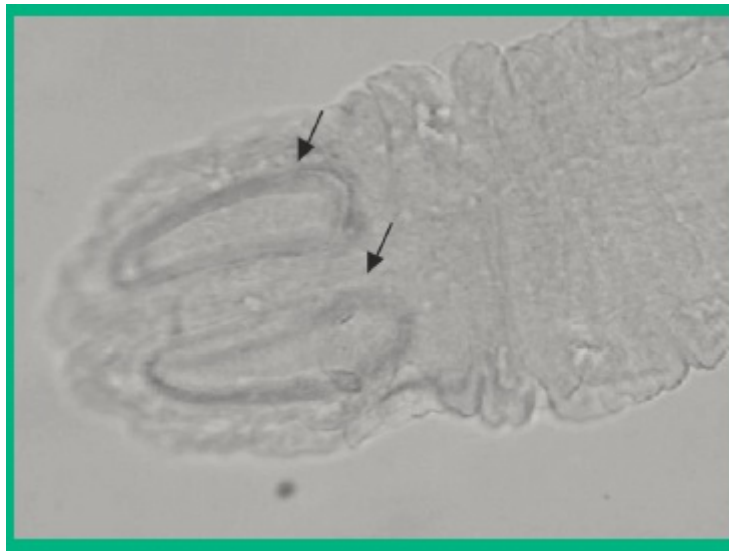
Baratas, coleópteros e moscas são os hospedeiros intermediários. Cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*), gafanhotos, formigas, larvas de lepdópteros e a mosca doméstica também têm sido

incriminados como tais, porém, há necessidade de comprovações experimentais.

Período Pré-Patente: três a quatro semanas.

### *Raillietina tetragona* (Molin, 1858) - Família Davaineidae

Parasita a metade posterior do intestino, podendo ocasionar diminuição no desempenho das aves, como perda de peso e queda na produção de ovos. As ventosas, ovais (**Figura 7**), possuem 8 a 12 anéis de diminutos ganchos e o rostelo é armado com espinhos arranjados em um ou dois anéis.



**Figura 7** - *Raillietina tetragona*. Observa-se ventosas ovais.

Pode atingir em média 25cm de comprimento, sendo as proglotes mais largas do que longas.

Formigas são apontadas como os hospedeiros intermediários desta espécie.

Período Pré-Patente: duas semanas.

### *Raillietina echinobothrida* (Megnin, 1881) - Família Davaineidae

É incriminada, também, como uma das espécies de cestódeos parasitos de aves mais patogênicas. Sua presença está associada à doença nodular. Enterite catarral hiperplásica, infiltração linfocítica, polimorfonuclear e eosinofílica podem ocorrer.

Possui como hospedeiros intermediários as formigas.

O estróbilo maior (até 34cm de comprimento), é uma das características que a diferencia da *R. tetragona*, além de características nos órgãos reprodutivos.

### Classe Nematoda - Filo Nematelminthes

De corpo cilíndrico, em sua maioria, os nematódeos apresentam as extremidades atenuadas e tubo digestivo completo, sendo chamados vulgarmente de vermes redondos, por apresentarem,

em seção transversal, aspecto circular.

O tamanho varia de poucos milímetros a vários centímetros, dependendo da espécie. São dióicos, apresentando, em geral, acentuado dimorfismo sexual, sendo a fêmea ovípara, ovovivípara ou vivípara. A coloração é branca a branco-amarelada, salvo nos casos em que, devido a ingestão de sangue, apresentam-se avermelhados.

O ciclo biológico pode ser direto ou indireto, sendo que o desenvolvimento pós-embriônico, antes da fase adulta, passa por quatro fases distintas, correspondendo às larvas de 1º, 2º, 3º e 4º estádios, também denominadas L1, L2, L3 e L4.

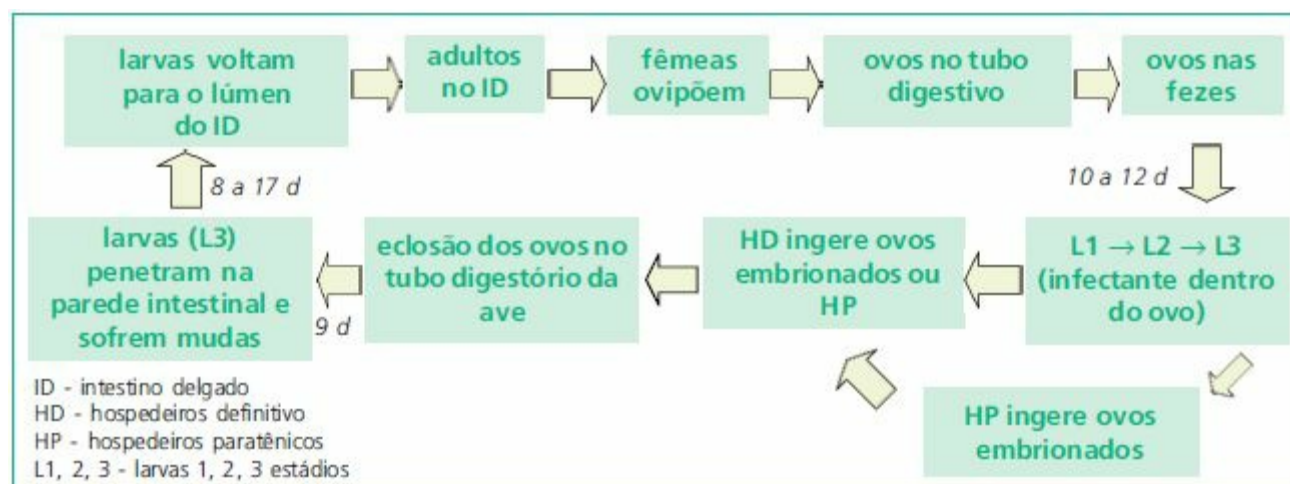
A fase parasitária inicia-se quando a larva infectante penetra no hospedeiro definitivo (HD), pela boca ou via subcutânea.

## Principais espécies de nematódeos parasitos de aves

### *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) - Família Ascarididae

Encontrada no lúmen do intestino (**Figura 2**), pode se localizar ocasionalmente no oviduto e cavidade corporal. Quando no oviduto, as larvas podem migrar para a cloaca, com subsequente inclusão em ovos. Larvas também já foram encontradas em tecidos hepático e pulmonar. As fêmeas medem de 6 a 12cm e os machos de 3 a 8cm, sendo de coloração branco-amarelada.

O ciclo biológico é direto, no entanto, gafanhotos e minhocas podem atuar como hospedeiros paratênicos (HP) (**Figura 8**).



**Figura 8** - Ciclo biológico da *Ascaridia galli*.

As larvas causam lesões na mucosa intestinal, com enterite catarral. Em infecções elevadas pode ocorrer diarreia, anemia, inapetência, emaciação e perda de vivacidade, podendo, inclusive, causar obstrução intestinal, levando à morte.

Atuação sinérgica com outras patologias, como coccidiose e bronquite infecciosa, pode ocorrer, além da transmissão de reovirose aviária. A idade, linhagem e a condição nutricional das aves são importantes na resistência ao parasitismo.

Período Pré-Patente: cinco a oito semanas, podendo variar de acordo com a idade da ave.

### *Capillaria spp* - Família Capillaridae

As espécies parasitam esôfago, papo, intestino delgado, cecos e moela, ocasionando reações inflamatórias, espessamento da parede do papo e esôfago, com perda de elasticidade (C. contorta). Em infecções maciças podem provocar enterites graves (C. obsignata, C. caudinflata) (**Figura 9**).



**Figura 9** - Capillaria spp. Observação, à necropsia, de infecção do trato intestinal de ave.

Quando em grande número são bastante patogênicas.

O ciclo biológico é indireto, sendo as minhocas os hospedeiros intermediários.

### *Cheilospirura hamulosa* (Diesing, 1851) - Família Acuaridae

Sinonímia: Acuaria hamulosa

Tem como *habitat* a sub-mucosa da moela, onde, em infecções graves, ocasionam danos, causando rupturas e formando bolsas.

Machos medem 12 a 14mm de comprimento e fêmeas, 16 a 25 mm.

Apresenta ciclo indireto, sendo vários artrópodes, como gafanhotos e besouros, os hospedeiros intermediários.

### *Gongylonema ingluvicola* (Ronson, 1904) - Família Spiruridae

Parasita o ingluvío, podendo ser encontrada no esôfago e no proventrículo.

Machos medem de 17 a 20mm de comprimento e fêmeas, de 32 a 55mm.

Coleópteros coprófagos atuam como hospedeiros intermediários em seu ciclo biológico (**Figura 10**).





**Figura 10** - Ciclo biológico da *Gongylonema ingluvicola*.

Os danos são significativos quando o parasitismo está associado a outros vermes.

### *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) - Família Heterakidae

De coloração branca, parasita os cecos, podendo causar inflamação e espessamento da parede cecal. Importante veiculador do *Histomonas meleagridis*, protozoário causador da histomonose ou mau da “cabeça negra” das galinhas e perus, onde reside sua principal importância.

O ciclo biológico é direto, podendo haver participação de hospedeiro paratênico (minhocas, insetos). Ovos contendo L2 são a forma infectante.

Machos medem 7 a 13mm e fêmeas de 6 a 8mm de comprimento.

Período Pré-Patente: 30 dias.

### *Oxyspirura mansoni* (Cobbold, 1879) - Família Thelazidae

Parasita o olho (encontrada sob a membrana nictitante), saco conjuntival e ductos nasolacrimais, podendo causar oftalmias graves. É comum o diagnóstico de infecções secundárias, assim como a cegueira em aves parasitadas.

A fêmea, ovovivípara, pode medir de 12 a 20mm, enquanto o macho, de 8 a 16mm.

O ciclo biológico é indireto, sendo a barata o hospedeiro intermediário (**Figura 11**).



**Figura 11** - Ciclo biológico da *Oxyspirura mansoni*.

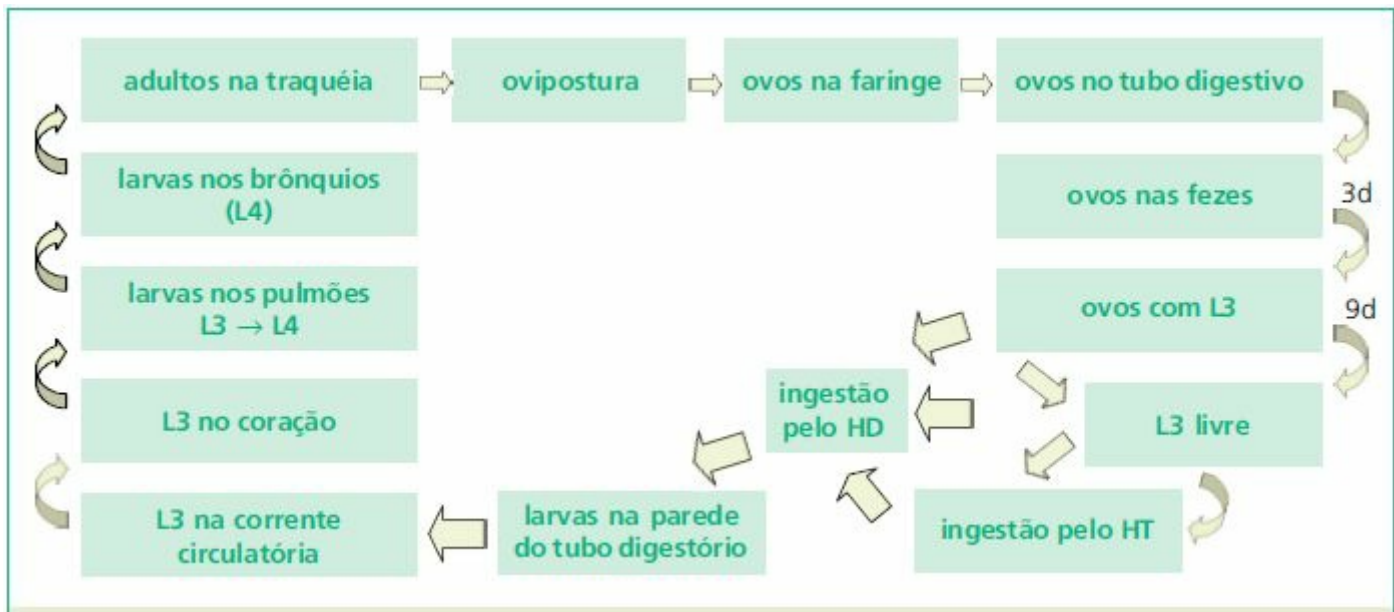
Período Pré-Patente: 30 a 60 dias.

### **Syngamus trachea (Montagu, 1811) - Família Syngamidae**

Parasita a traquéia, podendo ser encontrada em brônquios e bronquíolos. O parasitismo pode levar à obstrução da traquéia, causando dificuldade respiratória, inclusive, com mortalidade (mesmo com a presença de um único casal). A extrema irritabilidade e o processo inflamatório decorrente podem levar à formação de nódulos.

Machos (2 a 6mm de comprimento) e fêmeas ovovivíparas (5 a 20mm de comprimento), de coloração avermelhada, permanecem constantemente acasalados, em forma de Y.

Apresentam ciclo direto ou indireto (**Figura 12**), sendo os anelídeos, artrópodes e moluscos os hospedeiros transportadores, onde as larvas podem permanecer encistadas durante meses.



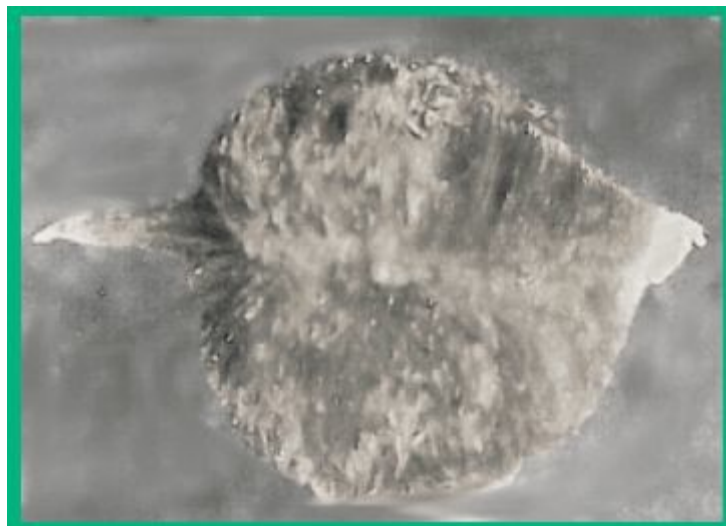
**Figura 12** - Ciclo biológico da *Syngamus trachea*.

Período Pré-Patente: duas a três semanas.

### *Tetrameres confusa* (Travassos, 1919) - Família Tetrameridae

Sinonímia: *Tropisurus confusus*

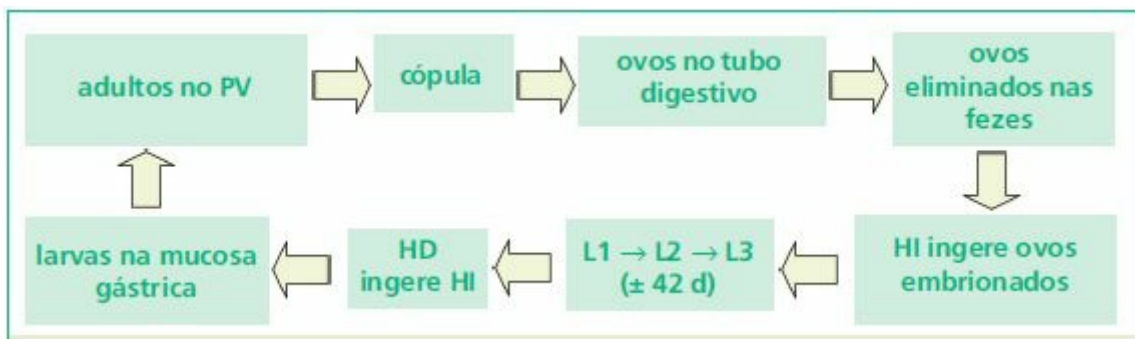
De formato filiforme, o macho pode alcançar de 4 a 5mm de comprimento, enquanto a fêmea, de 3 a 5mm de comprimento, apresenta dimorfismo sexual marcante, tornando-se globular ou subglobular (**Figura 13**).



**Figura 13** - *Tetrameres confusa*. Fêmea apresentando dimorfismo sexual.

Parasita as criptas das glândulas do proventrículo, onde suga sangue (o que lhe confere a coloração vermelha), causando descamação celular, dilatação das glândulas do proventrículo, posterior atrofia, degeneração do tecido glandular e formação de cisto. As aves apresentam apatia e emaciação em elevadas infecções.

O ciclo biológico é indireto (**Figura 14**), sendo os hospedeiros intermediários insetos, crustáceos ou anelídeos.



**Figura 14** - Ciclo biológico da *Tetrameres confusa*.

Período Pré-Patente: 45 dias.

### Classe Trematoda Filo Platyhelminthes

A classe trematoda é constituída por helmintos morfologicamente achatados dorso-ventralmente e, diferentemente dos cestodas, não segmentados ([Figura 15](#)).



**Figura 15** - Trematódeo parasita de aves. Observa-se ventosas.

Ventosas fortemente musculosas são o meio de fixação utilizado pelos trematódeos. A ventosa oral está situada anteriormente e a ventral, denominada de acetábulo, situa-se na linha mediana da face ventral do parasito. O sistema digestivo é incompleto.

São hermafroditas, podendo ocorrer autofertilização e, também, fertilização cruzada.

Apresentam menor especificidade para hospedeiros, comparativamente aos cestódeos, o que permite que aves silvestres, muitas vezes, introduzam infecções em áreas de criações domésticas.

O ciclo de vida dos trematódeos é indireto, sendo os moluscos, salvo raríssimos casos, os hospedeiros intermediários ([Figura 16](#)). Quando da ocorrência de mais de um hospedeiro intermediário, o segundo pode ser molusco, artrópode ou vertebrado. A reprodução sexuada ocorre no hospedeiro definitivo e a assexuada no hospedeiro intermediário.



**Figura 16** - Ciclo biológico geral de trematódeos parasitos de aves.

## Principais espécies de trematódeos parasitos de aves

### *Echinostoma revolutum* (Froelich, 1802) - Família Echinostomatidae

Parasita o intestino delgado, grosso e cecos, podendo causar enterite com diarreia sanguinolenta em infecções maciças.

Adultos medem 10 a 22mm de comprimento por 2 a 2,5mm de largura. O tegumento é espesso até o acetábulo.

Caramujos aquáticos (*Planorbis*, *Helisoma*, *Lymnaea*, *Stagnicola* e *Physa*) são os hospedeiros intermediários. Moluscos, girinos, sapos e peixes podem se constituir o segundo hospedeiro intermediário.

### *Episthmium oscar* (Travassos, 1923) - Família Echinostomatidae

Parasita a Bolsa de Fabricius. Adultos medem 6mm de comprimento por 2mm de largura.

### *Prosthogonimus cuneatus* (Rudolph, 1809) - Família Prosthogonimidae

A espécie parasita a Bolsa de Fabricius, medindo, quando adultos, 6mm de comprimento por 2mm de largura.

### *Prosthogonimus ovatus* (Rudolph, 1803) - Família Prosthogonimidae

Parasita Bolsa de Fabricius, podendo os adultos atingir o oviduto, causando severa irritação, inflamação aguda e postura de ovos anômalos. Movimentos retroperistálticos causados pelo parasitismo podem levar a ruptura de oviduto, peritonite e morte. Adultos medem 6mm de comprimento por 2mm de largura.

Os caramujos são os hospedeiros intermediários.

### *Tanaisia bragai* (Santos, 1934) - Família Eucotylidae

Adultos medem 4mm de comprimento por 0,7mm de largura e parasitam os tubos renais.

### *Postharmostomum cummutatum* (Diesing, 1858) - Família Brachylaemidae

Parasita os cecos. Adultos medem 7mm de comprimento por 2mm de largura, sendo que caramujos de jardim (Eulota similares) e libélulas atuam como hospedeiros intermediários.

### *Zygocothile lunata* (Diesing, 1836) - Família Paramphistomatidae

Parasitas do intestino delgado e cecos, possuem como hospedeiros intermediários caramujos. Adultos medem 9mm de comprimento por 3mm de largura.

## Controle das verminoses

Os danos causados pela maioria dos helmintos são dependentes do número de parasitos que acometem as aves, da idade e estado nutricional das mesmas, dentre outros fatores. Deste modo, o diagnóstico específico e a avaliação da intensidade da infestação são necessários para o estabelecimento da melhor estratégia de tratamento.

A identificação e controle das espécies que possam se constituir em hospedeiros intermediários (**Figura 17**), paratênicos ou vetores, também devem fazer parte das medidas de prevenção e controle das helmintoses e inseridas no programa de biosseguridade da empresa.



**Figura 17** - *Alphitobius diaperinus* presente no conteúdo da moela de ave necropsiada.

# Principais grupos químicos de anti-helmínticos indicados para tratamento de aves

## Benzimidazóis

Pertencem ao grupo dos benzimidazóis: tiabendazole, parabendazole, mebendazole, oxicendazole, febendazole, albendazole e flubendazole.

Os benzimidazóis inibem a enzima fumarato redutase da mitocôndria dos parasitos e também o transporte de glicose, bloqueando a geração de energia nesses organismos.

Esses produtos têm geralmente amplo espectro de ação, atuando sobre helmintos adultos e imaturos, mas como são quimicamente semelhantes, atuam nas mesmas vias metabólicas, permitindo o desenvolvimento de resistência cruzada. O mebendazole e o flubendazole atuam contra a tubulina, levando a destruição dos microtubos nas células intestinais dos nematódeos. Isso reduz a digestão e absorção de nutrientes, causando morte por inanição. Como consequência deste modo de ação, um fator importante, que deve ser considerado para eficácia dos benzimidazóis é o tempo de contato entre esses produtos e os parasitos, visto que os parasitos morrem quando suas reservas de energia se esgotam. Assim, os benzimidazóis menos solúveis têm sido apontados como os mais potentes. Essa característica os torna adequados para serem utilizados na ração de aves pelo período de alguns dias ou semanas, como é o caso do oxicendazole, de uso preventivo na dose de 10 a 12ppm por oito semanas consecutivas.

Esses produtos apresentam baixos níveis de toxicidade, com grande margem de segurança com relação às doses recomendadas e não apresentam efeitos colaterais.

A farmacocinética dos benzimidazóis se dá após a administração por via oral, atingindo níveis plasmáticos máximos após seis horas do início do consumo. A biotransformação é feita pelo fígado e a fração não metabolizada retorna, através da via biliar, ao trato gastrointestinal, exercendo sua função sobre os nematódeos. A eliminação é feita pela urina (40%) e pelas fezes (60%).

## Benzimidazóis mais conhecidos disponíveis no mercado

### Oxicendazole

É indicado para o controle de infestações por nematódeos, como *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinarum*. A concentração recomendada para o uso preventivo é de 10 a 12ppm por oito semanas em matrizes pesadas e poedeiras de ovos comerciais, não sendo utilizado em frangos de corte devido ao ciclo de vida curto.

Caso haja necessidade de utilizá-lo como terapêutico, pode ser utilizado na dose de 40ppm por 10 dias.

### Mebendazole

É eficaz tanto para nematódeos como para cestódeos em determinadas doses.

As concentrações recomendadas para galinhas são: 30 a 60ppm na ração por cinco dias no mínimo, sendo 30ppm indicados para controle de nematódeos gastrointestinais e 60ppm para controle de nematódeos e cestódeos.

O mebendazole também pode ser utilizado na dose de 8 a 10mg/kg por três dias no tratamento de infecções por nematódeos em galinhas.

## **Flubendazole**

Utilizado na concentração de 60ppm por sete dias consecutivos, pode eliminar alguns nematódeos gastrintestinais e alguns cestódeos mais comuns na avicultura.

Produtos a base deste princípio ativo estão disponíveis no mercado para controle dos nematódeos *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinarum*, *Capillaria* e do cestódeo *Davainea proglotina*.

## **Os benzimidazóis e o mercado externo**

Quando se fala em mercado externo, deve-se lembrar o porquê do início das proibições e controle mais rígidos quanto a limites máximos de resíduos.

A primeira crise foi quando foi detectada a encefalopatia espongiforme dos bovinos ou BSE em 1995, após a constatação do uso de farinha de carne proveniente de ovinos portadores de outra encefalopatia, conhecida como scrapie. Depois deste choque, veio outro em 2000, que foi a contaminação da carne de frango por uma dioxina - produto genotóxico - em consequência do uso impróprio de óleo queimado para peletização de ração de frangos de corte (Neto *et al.*, 2005).

Após todos esses dramas passados, deu-se início ao estudo de limites de drogas na carne das aves enviadas a União Européia, Japão entre outros.

Além da detecção de resíduos, estudou-se também a melhoria da cadeia produtiva, através de exigências cada vez mais ferozes de segurança alimentar, bem-estar animal, rastreabilidade, certificados de procedência, entre outros, o que marcou uma nova fase na indústria farmacêutica mundial.

Para os anti-helmínticos não foi diferente e os mesmos foram incluídos nas listas de aprovação dos países Europeus e Asiáticos e foi estabelecido LMRs (Limite Máximo de Resíduos) para a maioria dos benzimidazóis.

## **Imidotiazóis**

Essa classe de anti-helmínticos age com um modo de ação diferente dos benzimidazóis, sendo indicada quando do aparecimento de resistência cruzada dentro do grupo dos benzimidazóis. Nestes casos pode-se lançar mão de seu uso por um período curto até se atingir a sensibilidade desejada ao benzimidazole.

Os representantes desse grupo são o tetramisole e o mais conhecido, levamisole.



O levamisole estimula a transmissão nervosa ao nível da sinapse colinérgica, atuando como um agonista em receptores de acetilcolina em nematódeos. Isso leva a paralisia espástica dos nematódeos que, sendo intestinais, são expelidos pelo peristaltismo normal do intestino.

Em consequência de seu modo de ação diferente, o levamisole é eficaz contra nematódeos resistentes aos benzimidazóis.

## Praziquantel

A indústria avícola tem trabalhado com esse princípio ativo para o controle de cestódeos exclusivamente, não atuando sobre nematódeos gastrointestinais, ele apresenta algumas facilidades como a possibilidade de inclusão na ração e a facilidade de utilização em água de bebida.

### Mecanismo de ação:

- Atua inibindo a motilidade do cestódeo e também impedindo a ação de suas ventosas.
- Estudos in vivo mostram que o produto induz a uma paralisia espástica do parasita.
- Desta maneira, o praziquantel atua primordialmente na coordenação neuromuscular do verme.
- O produto também influi no tegumento, tornando-o permeável a uma perda excessiva de glicose.

Deve-se atentar à utilização da dose do medicamento de acordo com o tipo de parasito encontrando na granja.

Silva *et al.* (2000), utilizando praziquantel na dose de 6,0mg/kg, administrado via ração à aves naturalmente infectadas, verificaram eficácia contra os cestódeos *Hymenolepis cantianiana* (96,86%), *Amoebotaenia cuneata* (95,89%), *Raillietina tetragona* (95,74%) e *R. echinobothrida* (97,57%).

## Controle de hospedeiros intermediários

Para se iniciar o controle das parasitoses, o primeiro passo é identificar a espécie que está acometendo as aves, pois por meio desta identificação pode-se fazer combate ao hospedeiro intermediário.

O sucesso no controle de cestódeos depende do controle dos hospedeiros intermediários, uma vez que, sem a eliminação destes, a eliminação do parasitismo fica comprometida. Além do controle dos hospedeiros intermediários, deve-se tratar as aves já infectadas pelos parasitos.

O manejo do controle de cascudinho e a boa limpeza e desinfecção do aviário auxiliam no controle de verminoses.

É de suma importância a boa desinfecção das instalações e equipamentos (**Figura 18**), objetivando diminuir a pressão de infestação de bactérias e vírus e consequentemente o controle de insetos que se constituem em hospedeiros intermediários de helmintos (**Figura 19**).



**Figura 18** - Aviário de frango de corte com limpeza inadequada para alojamento de um lote novo.



**Figura 19** - Esquema de uma boa desinfecção de galpões.

## Bibliografia

Costa AJ. Diagnóstico laboratorial em parasitologia. I. helmintologia [apostila]. Jaboticabal: FCAV/UNESP; 1989.

Costa HMA, Leite ACR, Guimarães MP, Lima WS. Distribuição de helmintos parasitos de animais domésticos no Brasil.

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 1986; 38(4):465-579.

Fortes E. Parasitologia veterinária. 3ª ed. São Paulo: Ícone; 1997.

Freitas MG. Helmintologia veterinária. Belo Horizonte: Rabelo; 1977.

Palermo Neto J, Spinosa H, Górnaiak M. Farmacologia aplicada a avicultura. São Paulo: Roca; 2005. p.203-210.

Reid WM, McDougald LR. Internal parasites: cestodes and trematodes. In: Calneck BW *et al.*, editors. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p.850-864.

Ruff MD, Norton RA. Internal parasites: Nematodes and acanthocephalans. In: Calneck BW *et al.*, editors. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p.815-850.

Schmidt GD. How to know the tapeworms. Boca Raton: CRC Press; 1970.

Silva GS, Costa J, Soares VE, Meireles MV, Paulillo AC. Atividade anti-helmíntica do albendazole e do praziquantel em aves (*Gallus gallus domesticus*) naturalmente infectadas. **ARS Veterinária**. 1999; 15(supl):18-22.

Vanpar JSO. Anthelmintic activity of flubendazole in naturally infected geese and the economic importance of deworming. **Avian Diseases** 2001; 45:526-531.

Vicente JJ, Rodrigues HO, Gomes DC, Pinto RM. Nematóides do Brasil. Parte IV: nematóides de aves. **Revista Brasileira de Zoologia** 1995; 12(supl.1):273.

York W. **The nematode parasites of vertebrates**. New York; Hafner; 1926.

Zocche AT. Acervo pessoal. Jaguariúna: Farmabase Departamento Técnico; 2006.

**8.1 - Enfermidades nutricionais** 927

*Douglas Emygdio de Faria, Otto Mack Junqueira, Karina Ferreira Duarte*

<b>Introdução</b>	<b>927</b>
<b>Água</b>	<b>927</b>
<i>Cuidados com a ração e a água</i>	928
<b>Proteína e aminoácidos</b>	<b>928</b>
<b>Carboidratos</b>	<b>930</b>
<b>Ácidos graxos essenciais</b>	<b>931</b>
<b>Vitaminas</b>	<b>931</b>
<i>Vitaminas lipossolúveis</i>	934
<i>Vitaminas hidrossolúveis</i>	942
<i>Interrelação entre o ácido fólico e a colina</i>	949
<b>Minerais</b>	<b>950</b>
<i>Excesso de cálcio</i>	953
<i>Excesso de magnésio</i>	954
<i>Excesso de NaCl</i>	956
<i>Funções do zinco</i>	958
<i>Interações do zinco com outros elementos</i>	959
<i>Sinais de deficiência de zinco</i>	959

<i>Funções do cobre</i>	960
<i>Sinais de deficiência de cobre</i>	961
<i>Excesso de cobre</i>	961
<i>Tratamento da deficiência</i>	962
<i>Excesso de selênio</i>	962
<b>Considerações finais</b>	<b>962</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>965</b>

Douglas Emygdio de Faria; Otto Mack Junqueira; Karina Ferreira Duarte

## Introdução

Muitos aspectos relacionados às enfermidades nutricionais ainda despertam interesse por parte dos nutricionistas e ornitopatologistas. O avanço tecnológico alcançado nos últimos vinte anos fez com que o nutricionista tenha em mãos a maioria dos nutrientes necessários para o ótimo desempenho das aves. Assim, não se justifica incluir uma determinada matéria prima de alta inclusão simplesmente por ser uma fonte de alguns micronutrientes, o que torna as rações com poucos ingredientes energéticos e protéicos. Há ainda a considerar que a estabilidade dos micronutrientes, particularmente as vitaminas, traz maior segurança aos nutricionistas. Portanto, se não houver erros de formulação e de produção de rações, dificilmente se observam deficiências nutricionais. Por outro lado, ainda há um grande interesse em se conhecer os sinais clínicos dessas doenças, com a finalidade de se estabelecer um diagnóstico diferencial.

Procurou-se fazer uma abordagem sobre a importância e os sinais de deficiência de água, proteína, aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e minerais.

Com a finalidade de facilitar ao leitor, foram incluídos vários quadros onde são mostrados, de maneira bastante sucinta, os sintomas comuns de deficiências de vitaminas e minerais nos embriões, em suas diferentes faixas etárias, e nas aves em crescimento, fatores relacionados à eclodibilidade dos ovos de reprodutoras e medidas bioquímicas e fisiológicas para o diagnóstico das deficiências nutricionais em galinhas e perus.

## Água

A água deve ser considerada um nutriente essencial, representando cerca de 70% do peso corporal. Todas as células necessitam de um adequado aporte de água para exercer suas funções.

A água é a substância básica do sangue, dos fluídos intra e intercelulares, atuando no transporte de nutrientes, metabólitos e produtos de excreção de todas as células do corpo. Em função do seu alto calor específico e propriedades evaporativas, a água é o mais importante fator regulador da temperatura corporal. A água também ajuda a manter a homeostasia pela participação em reações e mudanças fisiológicas, as quais controlam o pH, pressão osmótica, concentrações de eletrólitos e outras funções necessárias para a vida.

Conforme Leeson & Summers (1997), o conteúdo de água corporal está associado ao conteúdo de gordura. Isso significa que à medida que a ave envelhece e seu conteúdo de gordura corporal aumenta, a água expressa como porcentagem do peso corporal diminuirá. Nas galinhas poedeiras, por exemplo, a quantidade de água corporal varia conforme a idade, sendo em torno de 85% do

seu peso na primeira semana de vida, diminuindo com o passar da idade, sendo 70% à quarta semana e chegando a 55-60 % à idade adulta, além de constituir 65% do peso do ovo.

A ave obtém a água através da bebida, dos alimentos e do catabolismo dos tecidos, que é uma parte normal do seu crescimento e desenvolvimento.

No início da vida a ave é muito sensível à desidratação e somente a deficiência de oxigênio é mais crítica que a falta de água. A perda de 10% de água em relação ao peso corporal leva o pintinho à perda de peso e induz à desidratação, e 20% de perda das reservas de água do organismo, leva a ave à morte. Daí a importância de, antes de se iniciar a implantação de um projeto avícola, verificar a disponibilidade de água para atender à demanda do consumo, sendo importante também prever o aumento de consumo em condições adversas, como no caso de estresse pelo calor, quando o consumo de água praticamente dobra.

Em qualquer fase da criação a água deve ser abundante, limpa, sem contaminantes, fresca com temperatura em torno de 22°C. Seu consumo depende de vários fatores como idade, sal (NaCl) e proteína da dieta, temperatura ambiental e tipo de ração (farelada, peletizada). Em galinhas poedeiras a quantidade de água ingerida sofre influência de fatores como a maturidade sexual, a percentagem de produção de ovos, a elevação da temperatura ambiente e o consumo de ração.

Durante o período de maturidade sexual e do início ao pico da produção de ovos, as aves aumentam o consumo de água.

Um valor médio de referência a considerar para o consumo na criação de frangos de corte é de 2 a 3 litros de água por quilo de ração consumida.

Em termos comparativos, um animal pode perder todo o glicogênio e gordura, 50% da proteína e cerca de 40% do peso corporal, que ainda sobrevive. Entretanto, a perda de 10% de água causa sérias desidratoses e a perda de 20% de água levará à morte.

O crescimento e a produção de ovos são prejudicados quando ocorre privação de água por 12 horas, e a mortalidade aumenta bastante em 36 horas de privação. Leeson & Summers (1997) reportam uma privação acidental de água por 48 horas para poedeiras comerciais, resultando em quase 0% de produção, com a recuperação dos níveis normais num período de 28 dias.

## Cuidados com a ração e a água

É necessário conhecer a procedência e a qualidade tanto nutricional quanto microbiológica dos ingredientes das rações. Uma alimentação pobre causará deficiências que conseqüentemente serão refletidas no desempenho, podendo interferir na capacidade imunológica das aves.

A qualidade microbiológica tanto da ração quanto da água deve ser monitorada, pois, se contaminados, esses são importantes veículos para a introdução de agentes patogênicos no plantel. A ração deve ser livre de agentes patogênicos, especialmente a *Salmonella* spp.

O armazenamento das rações deve ser feito em local limpo, arejado, abrigado da umidade e sobre plataformas, para facilitar a limpeza do local. A peletização pode contribuir para reduzir a contaminação das rações.



A água deve ser captada numa caixa d'água central para posterior distribuição e precisa ser abundante, limpa, fresca e isenta de patógenos. Deve ser monitorada para verificação das suas condições químicas, físicas e microbiológicas.

O tratamento da água de bebida deve ser realizado quando a presença de coliformes fecais for detectada ou quando a presença de coliformes totais estiver acima de 3/100ml. Sua cloração é feita pela adição de hipoclorito de sódio para obter o nível de 3ppm de cloro no bebedouro. Deve-se lembrar que a água utilizada na vacinação das aves, não pode ser clorada.

## Proteína e aminoácidos

Existem 22 aminoácidos nas proteínas corporais e todos são fisiologicamente essenciais. Nutricionalmente, esses aminoácidos podem ser divididos em duas categorias: aqueles que as aves não sintetizam ao todo ou o suficiente para atender às exigências metabólicas (essenciais) e aqueles que podem ser sintetizados a partir de outros aminoácidos (não essenciais). Os aminoácidos essenciais devem ser fornecidos pela dieta. Isso também é válido para os não essenciais que podem ser sintetizados pelas aves.

Após a absorção e digestão de uma proteína com a consequente formação de um pool de aminoácidos no sangue, estes estão aptos a desempenhar as seguintes funções:

- Síntese de substâncias celulares, como proteínas e outros componentes texturais contendo nitrogênio.
- Síntese de substâncias, como enzimas e hormônios, que participam na manutenção dos processos vitais orgânicos.
- As proteínas são substâncias fundamentais para a transmissão dos caracteres hereditários.
- E apresentam também a função de transporte de alguns nutrientes. Por exemplo, a ceruloplasmina transporta o mineral cobre no plasma; as globulinas transportam esteróides, ácidos graxos, fosfatídios e alguns minerais, como o ferro e o zinco.

Um conceito importante é aquele que estabelece a exigência da proteína na dieta numa relação direta com os aminoácidos contidos na referida proteína. Os aminoácidos obtidos da proteína da dieta são usados para preencher uma diversidade de funções: constituintes primários de tecidos estruturais e protetores (pele, penas, matriz óssea, ligamentos) e de tecidos moles (órgãos e músculos). Além disso, os aminoácidos e pequenos peptídeos podem servir para uma variedade de funções metabólicas e como precursores de importantes constituintes corporais não protéicos.

Ocorre decréscimo ou cessação do crescimento proporcionalmente ao grau de deficiência de proteína ou de aminoácidos. Em poedeiras, a deficiência de proteína ou de aminoácidos essenciais resultará no decréscimo do peso do ovo. À medida que a deficiência se intensifica, ocorrerá perda de peso corporal, queda na produção de ovos, dificuldades de reposição das penas ou mesmo a muda completa das penas com cessação da produção de ovos.

Pesquisas demonstram que as necessidades de proteína e de aminoácidos sulfurados totais para poedeiras podem variar em função de alguns fatores como idade e estágio do ciclo de produção. As fontes protéicas e de aminoácidos sintéticos são normalmente consideradas itens de grande

importância econômica na fabricação de rações para a alimentação das aves, pois, quando em excesso na dieta, podem onerar consideravelmente os custos de produção.

Além do aspecto econômico, há crescente preocupação da sociedade com os aspectos relativos ao meio ambiente e à qualidade de vida, surgindo assim desafio à avicultura de postura, que consiste em formular rações com menores quantidades de proteína para diminuir a excreção de nitrogênio no ambiente, mas que não alterem o desempenho zootécnico das aves.

Grande parte dos ovos produzidos no final do primeiro ciclo de produção apresenta problemas de qualidade da casca, decorrentes, principalmente, do aumento do peso dos ovos, que não é acompanhado aumento correspondente na espessura da casca, tornando-a mais delgada e menos resistente à quebra, o que causa prejuízos econômicos consideráveis em todos os segmentos da produção e comercialização. Estima-se que as perdas causadas por ovos de má qualidade de casca variam de 6 a 8% (Siske *et al.*, 2000).

O peso do ovo é em grande extensão determinado geneticamente, mas algumas práticas de manejo e nutrição podem ser adotadas a fim de aumentar ou diminuir seu peso, para atender às exigências de um determinado mercado (Hy-Line 2000 - 2001)

A partir da manipulação dos níveis protéicos e de aminoácidos da dieta, pode-se alterar o tamanho dos ovos para possivelmente reduzir os problemas de qualidade de casca, verificados no final do primeiro e do segundo ciclos de produção e, consequentemente, reduzir proporcionalmente o número de ovos tipo jumbo e extra grandes, que apresentam maior incidência de problemas de casca e maior índice de quebras.

As aves excretam grandes quantidades de nitrogênio, que representam os resíduos do metabolismo das proteínas no organismo animal. Embora o nitrogênio seja de grande valor como fertilizante nas plantações, existe um limite para a quantidade que pode ser aplicada por hectare, dependendo da cultura, tipo de solo e drenagem. O excesso de nitrogênio pode causar dano à cultura e é especialmente prejudicial aos rios e às reservas de água de profundidade.

A maior eficiência da utilização da proteína e de aminoácidos dietéticos pelas aves pode proporcionar o suprimento adequado às suas exigências nutricionais, podendo regular o tamanho dos ovos e reduzir os efeitos da poluição ambiental pela redução da excreção de nitrogênio, além da possibilidade de redução nos custos de produção.

O requerimento das aves são por aminoácidos e não por proteína bruta (PB). Leeson & Summers (1997) mostraram claramente o efeito do aumento dos níveis de proteína (16 a 36% PB) na ração sobre a composição da carcaça dos frangos de corte. Verificaram uma redução na quantidade de gordura depositada com o aumento da proteína, entretanto, com a variação de 20 a 36% de PB a mudança no conteúdo de proteína da carcaça foi pequena. Sklan & Plavnik (2002) observaram que o desempenho das aves com dietas com baixo conteúdo de proteína bruta foi limitado pela deficiência de aminoácidos essenciais, e os altos níveis de proteína diminuíram a eficiência da utilização dos aminoácidos, resultando também em diminuição no crescimento das aves.

Deve-se preocupar em atender as exigências diárias de aminoácidos das aves, para atingir máxima deposição protéica e, ao mesmo tempo, diminuir a deposição de gordura por meio de

ingestão excessiva, em relação à necessária para manutenção e crescimento. Entretanto, tanto a falta como o excesso de aminoácidos causam desequilíbrios que limitam o crescimento de tecido magro, aumentando a quantidade de gorduras. Pois a energia também pode ser oriunda da desaminação de proteínas, portanto, o fornecimento de proteína bruta em excesso ou de pouca digestibilidade, sem um equilíbrio ideal de aminoácidos, significa que haverá maior potencial para deposição de gordura (Leeson, 1995).

A deficiência de lisina pode levar a um crescimento lento da ave (**Figura 1**), uma perda de pigmentação das penas, a hipoplasia óssea (**Figura 2**), além de afetar o crescimento muscular e consequentemente a carcaça dos frangos de corte, independente da linhagem. Sendo o crescimento do músculo peitoral o mais afetado comparado aos outros músculos (Tesseraud *et al.*, 1999). Isso ocorre pelo fato dos diferentes músculos serem compostos por diferentes tipos de fibras, por exemplo: peito - pectoralis major (fibras tipo IIb - glicolíticas), asas - latissimus dorsi (fibras tipo I - oxidativas) e pernas - sartorius (fibras tipo I e IIb – oxidativas e glicolíticas) (Leclercq, 1998).



**Figura 1** - Deficiência de lisina: Impedimento e retardo no crescimento são evidentes na ave à direita, alimentada com ração deficiente em lisina quando comparada com a ave normal à esquerda, alimentada com nível adequado de lisina (Diseases of Poultry, 2003).



**Figura 2** - Deficiência de lisina: hipoplasia ós- sea (Diseases of Poultry, 2003).

A proteína muscular tem elevado nível de lisina, e o rendimento de carne do peito aumentou comparado ao rendimento de carne total da carcaça nas novas linhagens. Sendo que, a carne de peito representa 30% do total da carne da carcaça e 50% da carne comestível da carcaça (Coleman *et al.*, 2004).

## Carboidratos

A principal função dos carboidratos é servir de fonte de energia nos processos metabólicos e, juntamente com as gorduras, são as maiores fontes de energia para as aves.

O milho é a principal fonte de carboidratos utilizada nas rações comerciais, principalmente naquelas destinadas à alimentação de aves e suínos, compondo cerca de 60% dieta, fornecendo aproximadamente 65% da energia metabolizável e 20% da proteína.

Ainda que os carboidratos sejam os maiores componentes nas dietas das aves, não existe uma exigência nutricional específica para esse nutriente. Isso se explica pelo fato de que a fonte de energia mais importante para os animais é a glicose, sendo possível obtê-la de vários tipos diferentes de carboidratos e outros nutrientes. O conjunto de enzimas destinadas a digerir os carboidratos transforma o amido e os dissacarídeos em glicose.

## Ácidos graxos essenciais

As gorduras das dietas dividem-se em subunidades que são os ácidos graxos. Os ácidos graxos linoléico e  $\alpha$ -linolênico são essenciais para as aves, pois exercem papel específico no metabolismo (membrana celular e hormônios) e não podem ser sintetizados e precisam ser suplementados na ração, através dos ingredientes ou de gorduras adicionadas.

A falta de ácidos graxos essenciais leva à perda da integridade das membranas, descamação da pele, diminuição da resistência às doenças e problemas reprodutivos nas aves. Os ácidos graxos totais são adicionados à dieta também para fornecerem energia, já que a concentração energética

dos óleos e gorduras é alta.

O ácido graxo considerado essencial para as aves é o ácido linoléico 18:2 (6), encontrado em quantidades consideráveis em óleos vegetais. O ácido araquidônico 20:4 (6) se faz presente em pequenas quantidades nas gorduras animais e pode ser sintetizado somente a partir do ácido linoléico.

Estudos recentes estão reavaliando os efeitos benéficos do ácido linoléico 18:3 (3) nas espécies que se pensava necessitar somente do ácido linoléico como essencial na dieta. No entanto, os ácidos linoléico e linolênico são considerados metabolicamente essenciais. Esses ácidos são componentes estruturais das células, encontrados em fosfolipídios presentes em muitas membranas e precursores das prostaglandinas.

Dietas contendo 1% de ácido linoléico normalmente satisfazem as exigências de aves em crescimento e adultas. Por outro lado, níveis mais elevados podem ser necessários para poedeiras, visando atingir e manter um peso de ovo satisfatório.

A manifestação clássica da deficiência de ácido linoléico em aves jovens é a redução da taxa de crescimento e aumento do fígado pelo acúmulo de gordura. Vários estudos indicam que pintinhos deficientes são mais susceptíveis as infecções respiratórias.

Para produzir uma deficiência severa de ácido linoléico, em poedeiras, é necessário alimentar a franga desde o nascimento com um nível muito baixo do referido ácido, já que o mesmo é armazenado no corpo por longo período de tempo, em condições normais de alimentação. Os sinais de deficiência são: a diminuição da produção e peso dos ovos, redução da fertilidade e aumento da mortalidade embrionária na fase inicial da incubação.

## Vitaminas

Embora necessárias em pequenas quantidades, as vitaminas são indispensáveis para suportar ou estimular reações químicas do metabolismo animal. A exigência de algumas pode ser suprida pela dieta normal, porém outras precisam ser suplementadas. As vitaminas são classificadas em lipossolúveis (A, D, E e K) hidrossolúveis (as do grupo B e C).

As vitaminas são compostos orgânicos distintos das gorduras, carboidratos e proteínas e estão presentes nos alimentos em minutas quantidades. Por outro lado, são altamente essenciais para as funções fisiológicas de manutenção, crescimento e produção. A deficiência causada por uma vitamina é denominada de deficiência específica, se a mesma estiver ausente na dieta ou em quantidade insuficiente para atender à exigência da ave.

Nos animais monogástricos, a síntese bacteriana de vitaminas ocorre em muito pequena quantidade e, portanto, elas necessitam estar presentes na dieta. No entanto, algumas vitaminas são sintetizadas pelo próprio organismo animal. Por exemplo, a vitamina C ou ácido ascórbico é sintetizada pelas aves, muito embora haja evidências de que a sua adição na dieta possa ser benéfica para aves em situação de estresse. Ainda como exemplo, a niacina pode ser sintetizada a partir do triptofano e a vitamina D através dos raios ultravioletas.

Apesar dessas considerações, deve-se ponderar que, com exceção da vitamina C, todas as outras são adicionadas às dietas das aves como um instrumento de rotina. No entanto, o nutricionista deve usar o bom senso com relação ao uso das vitaminas nas diferentes formulações, já que uma ótima nutrição ocorre somente quando o organismo animal realiza um uso eficiente dos nutrientes contidos nos alimentos para os processos de crescimento, reprodução, manutenção da saúde e sobrevivência. Se por um lado água, proteínas, carboidratos, vitaminas, gorduras e minerais são essenciais para os processos vitais, as vitaminas assumem o papel de ainda promover a regulação harmoniosa do metabolismo de todos os nutrientes. Por exemplo, a niacina é fundamental no metabolismo dos carboidratos porque ela atua nas reações de oxi-redução. Por outro lado, a vitamina B1 está presente nas reações de descarboxilação.

A adição de uma ou mais vitaminas é muito variável para uma mesma classe animal, ocorrendo variações em função da temperatura ambiente, manejo geral e estado sanitário do plantel. Como já citado, alguns nutricionistas são favoráveis ao uso da vitamina C em situações de estresse calórico, principalmente para galinhas de postura. Além disso, a vitamina A é sempre adicionada com certa margem de segurança quando uma determinada granja apresenta-se com histórico de doenças respiratórias ou mesmo entéricas.

Uma das mais importantes enfermidades das aves, particularmente frangos de corte, é a coccidiose. Assim, os efeitos dessa doença sobre o seu desempenho produtivo, podem ser intensificados em rações práticas deficientes em vitamina E. Um exemplo é citado por Colnago *et al.* (1984), que inocularam oocistos de *Eimeria tenella* em frangos de corte com 25 e 32 dias de idade, alimentados com ração com e sem a adição de 100 UI/vitamina E/kg de ração. Os autores mostraram que a suplementação de vitamina E proporcionou respostas positivas no ganho de peso e mortalidade das aves ([Tabela 1](#)).

**Tabela 1** - Efeito da inoculação com *Eimeria tenella* sobre ganho de peso e sobre mortalidade de frangos de corte alimentados com rações suplementadas ou não com vitamina E1.

Experimento (g)	Vitamina E (UI/kg ração) Mortalidade (%)	Vitamina E inoculação	Idade (dias) na inoculação	Peso vivo (g)	GP2
1 99a	30a	0	32	1.006a	
100		32	1.017a	198b	0b
2 199a	28a	0	25	697a	
100 11b		25	767a	248b	

Adaptado de Colnago *et al.*, (1984). 1Valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna e experimento são significativamente diferentes (P<0,05). 2Ganho de peso 6 dias após a inoculação.

Como regras gerais, as vitaminas ou pré-misturas devem ser mantidas em sala escura, fresca, seca e cujos estoques não sejam grandes para evitar envelhecimento do produto (não estocar por mais de três meses), pois fatores externos como a temperatura ambiente, a umidade relativa do ar, a umidade da ração, o tempo de armazenagem, a forma física da ração e os ácidos podem danificá-las e precisam ser evitados para aumentar a estabilidade das mesmas.

São comuns as recomendações de aumento dos níveis de vitaminas quando as rações são submetidas a processos de peletização ou extrusão. A publicação de Coelho (1991) ilustra o nível de fatores estressantes de vitaminas em alimentos submetidos a diferentes métodos de processamento (**Tabela 2**).

**Tabela 2** - Nível de fatores estressantes de vitaminas em alimentos submetidos a diferentes métodos de processamento.

<b>Fator</b>	<b>Premix</b>	<b>Colina e</b>	<b>Concentrado</b>
<b>Peletização</b>	<b>Extrusão vitamínico</b>	<b>premix mineral</b>	
Calor Alto	baixo muito alto	baixo	baixo
Pressão Alto	baixo muito alto	baixo	baixo
Umidade Alto	baixo muito alto	alto	baixo
Oxi-redução alto	Alto	baixo muito alto	alto
Fricção muito alto	baixo	baixo	alto

Adaptado de Coelho (1991).

É muito difícil estabelecer a recomendação de exigência de vitaminas e a citação de Lima (1996) ilustra a variação existente entre as diferentes publicações ([Tabelas 3, 4 e 5](#)).

**Tabela 3** - Suplementação vitamínica em rações iniciais para frangos de corte.

<b>Vitaminas</b>		<b>EUA<sup>1</sup></b>	<b>Tabelas</b>	<b>NRC</b>	<b>Indústria nacional</b>		
					<b>(média)</b>	<b>brasileiras<sup>2</sup></b>	<b>(1994)</b>
A	UI/kg	8.020	10.000	1.500	8.000	15.000	11.300
D <sub>3</sub>	UI/kg	2.550	2.000	200	2.000	2.500	2.250
E	mg/kg	16	35	10	12,5	154	40,25
K <sub>3</sub>	mg/kg	1,68	1,7	0,5	2	4	3
B <sub>1</sub>	mg/kg	1,61	1,5	1,8	1	3	1,98
B <sub>2</sub>	mg/kg	6,44	5,0	3,6	4	6	5,2
B6	mg/kg	2,38	2,4	3,5	1	3,2	2,4
B <sub>12</sub>	mg/kg	12,47	12	10	10	20	14
Ácido Pantotênico	mg/kg	10,9	12	10	10	15	12,25
Niacina	mg/kg	41	35	35	30	40	33,7
Ácido Fólico	mg/kg	0,78	0,700	0,55	0,5	1,5	0,74
Biotina	mg/kg	0,07	0,070	0,15	0,03	0,15	0,07

Lima (1996) adaptado; <sup>1</sup> Ward (1993); <sup>2</sup> Rostagno et al. (2005).



**Tabela 4** - Suplementação vitamínica em rações de crescimento para frangos de corte.

Vitaminas		EUA <sup>1</sup> (média)	Tabelas brasileiras <sup>2</sup>	NRC (1994)	Indústria nacional		
					Mínimo	Máximo	Média
A	UI/kg	7.360	8.000	1.500	6.000	12.000	8.900
D <sub>3</sub>	UI/kg	2.330	1.600	200	1.800	2.000	1.960
E	mg/kg	14,3	28	10	10	32	18
K <sub>3</sub>	mg/kg	1,48	1,4	0,5	2	2,8	2,24
B <sub>1</sub>	mg/kg	1,27	1,2	1,8	0,5	2,4	1,36
B <sub>2</sub>	mg/kg	5,84	4,0	3,6	3,6	4,5	4,1
B <sub>6</sub>	mg/kg	2,04	1,9	3,5	0,5	2,4	1,76
B <sub>12</sub>	mg/kg	11,27	10	10	8	15	11
Ácido Pantotênico	mg/kg	9,9	9,6	10	9	11	10
Niacina	mg/kg	39,5	28	30	24	30	26,12
Ácido Fólico	mg/kg	0,68	0,560	0,55	0,26	1,2	0,602
Biotina	mg/kg	0,63	0,056	0,15	0,02	0,1	0,036

Lima (1996) adaptado; <sup>1</sup> Ward (1993); <sup>2</sup> Rostagno *et al.* (2005).

**Tabela 5** - Suplementação vitamínica em rações de retirada para frangos de corte.

Vitaminas		EUA <sup>1</sup> (média)	Tabelas brasileiras <sup>2</sup>	NRC (1994)	Indústria nacional		
					Mínimo	Máximo	Média
A	UI/kg	6.310	4.000	1.500	5.000	9.000	6.500
D <sub>3</sub>	UI/kg	2.000	800	200	1.000	1.950	1.450
E	mg/kg	12,4	14	10	5	24	12
K <sub>3</sub>	mg/kg	1,88	0,7	0,5	0,75	3	1,2
B <sub>1</sub>	mg/kg	1,06	0,6	1,8	0,1	1,2	0,25
B <sub>2</sub>	mg/kg	5,08	2	3	2	6	3,25
B <sub>6</sub>	mg/kg	1,79	0,96	3	0	2	0,6
B <sub>12</sub>	mg/kg	9,74	5	7	5	12	6,8
Ácido Pantotênico	mg/kg	8,5	4,8	10	5	9,8	6,8
Niacina	mg/kg	34	14	25	7,5	30	18,2
Ácido Fólico	mg/kg	0,57	0,28	0,5	0,2	0,37	0,27
Biotina	mg/kg	0,55	0,028	0,12	0,02	0,04	0,03

Lima (1996) adaptado; <sup>1</sup>Ward (1993); <sup>2</sup>Rostagno *et al.* (2005).

As recomendações do NRC (1994) são bem inferiores às outras quando se trata de vitaminas lipossolúveis. Por outro lado, os nutricionistas das indústrias nacionais recomendam níveis consideravelmente superiores que as tabelas existentes e isso ocorre em virtude da chamada margem de segurança devido aos inúmeros fatores adversos já citados.

Observando-se os níveis de recomendação para galinhas de postura (**Tabela 6**), verifica-se uma relação de 3:1 entre as vitaminas A e D (Ward, 1993). No caso das vitaminas piridoxina, ácido fólico e biotina, os níveis recomendados são inferiores ao NRC (1994).

**Tabela 6** - Níveis médios de suplementação vitamínica para poedeiras comerciais (13 amostras).

Unidades/Toneladas ração	Média	25% mais altos	25% mais baixos
Vitamina A, milhões UI	7,38	9,66	5,57
Vitamina D <sub>3</sub> , milhões UI	2,44	3,14	1,90
Vitamina E, mil UI	7,52	13,20	3,23
Niacina, g	24,70	38,90	15,20
Ácido Pantotênico, g	7,10	11,30	4,10
Riboflavina, g	4,60	6,45	3,12
Menediona, g	1,00	1,69	0,42
Tiamina, g	0,72 <sup>A</sup> (1,23) <sup>B</sup>	1,85	0 <sup>C</sup> (0,69) <sup>P</sup>
Piridoxina, g	1,03 <sup>A</sup> (1,90) <sup>B</sup>	3,20	0 <sup>C</sup> (0,76) <sup>P</sup>
Ácido Fólico, mg	225,10 <sup>A</sup> (305,90) <sup>B</sup>	538,10	0 <sup>C</sup> (144,90) <sup>P</sup>
Biotina, mg	30,40 <sup>A</sup> (64,50) <sup>B</sup>	103,50	0 <sup>C</sup> (24,00) <sup>P</sup>
Vitamina B <sub>12</sub> , mg	7,70	11,20	5,23

Adaptado de Ward (1993). <sup>A</sup>N = 53 amostras no estudo, quer esta vitamina foi ou não suplementada. <sup>B</sup> inclui somente aqueles valores que foram suplementados com esta vitamina. <sup>C</sup> indica que, no mínimo, 13 valores não foram suplementados com esta vitamina. <sup>P</sup> inclui os 13 valores mais baixos de suplementação desta vitamina.

O diagnóstico de deficiências vitamínicas não é tarefa fácil e sua prevenção deve ser feita com o

uso de pré-misturas vitamínicas. Um bom premix vitamínico conterá todas as vitaminas necessárias à adequada nutrição e sua inclusão dependerá da recomendação e dos custos entre as marcas comerciais, entendendo-se que todos os fabricantes possam garantir a qualidade de seus produtos.

## Vitaminas lipossolúveis

- **Vitamina A**

É uma vitamina lipossolúvel também conhecida como retinol, biosterol ou axeroftol. É um álcool insaturado formado por unidades de isopreno, existente em duas formas naturais: vitamina A1 ou retinol, obtida do fígado de peixes marinhos e vitamina A2, obtida do fígado de peixes de água doce. Ocorre em animais na forma livre ou de ésteres superiores, todavia não ocorre em vegetais, mas alguns possuem precursores isoprenóides conhecidos como carotenóides, pigmentos que absorvem a luz e podem ser convertidos enzimaticamente para vitaminas, sendo o mais importante o  $\beta$ -caroteno presente em vegetais amarelos como a cenoura, batata-doce e abóbora. Esses compostos são denominados pró-vitaminas, uma vez que o organismo das aves é capaz de transformá-los na vitamina A ativa. O  $\beta$ -caroteno é composto por duas moléculas de vitamina A, porém, existem compostos ainda do grupo dos carotenóides que não se transformam em vitamina A. Ainda, as aves sob condições normais obtêm o equivalente a uma molécula de vitamina A para cada molécula de  $\beta$ -caroteno.

Nas rações dos animais, a vitamina A é usada nas formas ésteres como acetato, propionato ou palmitato, apresentando-se com uma coloração clara e solúvel em gordura. Apesar de ser apresentada em forma protegida, a vitamina A é sensível aos ácidos, luz, calor e oxigênio. A presença de umidade e traços minerais podem reduzir sua atividade nas rações. Normalmente, a vitamina A disponível no mercado contém 500.000 UI/g.

- **Deficiência de vitamina A**

Os sinais clínicos de deficiência de vitamina A são similares entre as espécies de aves. No entanto, a exigência diária é diferente entre e dentro das espécies.

Todas as rações das aves são suplementadas com vitamina A. A deficiência dessa vitamina resulta em retardo no crescimento, diminuição da resistência às doenças, lesões oculares, incoordenação muscular e outros sinais. O tempo médio de sobrevivência de uma progênie alimentada com dieta totalmente deficiente em vitamina A, aumentou de maneira linear com o aumento dos níveis da vitamina nas rações das reprodutoras.

Existe evidência de que a redução no crescimento em função da deficiência de vitamina A possa estar associada à redução de apetite. O trabalho publicado por Hill *et al.* (1961), já havia demonstrado que uma severa deficiência de vitamina A, produziu ataxia e morte de frangos de corte.

Em galinhas de postura, a deficiência de vitamina A resulta em diminuição na taxa de postura.

Segundo Scott *et al.* (1982), quando pintos de um dia são alimentados com rações deficientes em

vitamina A, os sinais clínicos podem aparecer ao final da primeira semana de idade se as reprodutoras foram também alimentadas com ração deficiente. Por outro lado, se as reprodutoras receberam ração com altos níveis de vitamina A, os sinais de deficiência poderão aparecer somente após a sexta semana de idade, mesmo que a dieta esteja isenta de vitamina A.

Os sinais mais característicos de deficiência de vitamina A são a anorexia, cessação do crescimento, sonolência, fraqueza, incoordenação e edema. A mucosa do epitélio é substituída por um epitélio escamoso estratificado e queratinizado (**Figura 3**). Não raro, há ocorrência de pústulas em toda via respiratória superior. Em virtude do comportamento epitelial, os rins podem se apresentar com acúmulo de ácido úrico e os olhos são afetados com produção de exsudato e eventualmente xeroftalmia.



**Figura 3** - Deficiência de vitamina A (Diseases of Poultry, 2003). A – Edema periorbital e falta de pigmentação. B – Metaplasia escamosa da mucosa nasal. C – Dilatação e compressão das glândulas mucosas, formação de pústulas na mucosa do esôfago. D- Metaplasia escamosa na mucosa esofágica, exceto de algumas áreas focais de mucosa normal na base da glândula da mucosa esofágica. A distensão é resultado da oclusão da abertura da glândula e do acúmulo de queratina e de restos celulares no lúmen. A inflamação tem por resultado a formação de uma pústula.

Enfim, na deficiência de vitamina A, ocorre um comprometimento do epitélio de todo organismo e como resultado, uma invasão de microrganismos patógenos nas mucosas, depauperando a ave por uma infecção secundária.

#### • Tratamento da deficiência

Depois de diagnosticada a deficiência de vitamina A nas aves, deve-se fazer uma preparação estável de aproximadamente 10.000UI de vitamina A por quilograma de ração e administrar às aves. A absorção da vitamina A é rápida. Portanto frangos e perus em estágio não avançado de deficiência podem responder prontamente ao tratamento, exceto no caso de cegueira, que pode ser permanente (Klasing & Austic, 2003).

- **Hipervitaminose A**

A hipervitaminose A é caracterizada por diversos sintomas como perda de peso, baixo consumo de ração, xeroftalmia purulenta, inflamação das fossas nasais e na comissura do bico.

Pode ser observado um aumento do fígado, pois existe uma relação direta entre a quantidade de vitamina A na dieta e seu acúmulo no parênquima hepático. Isso pode ser utilizado como parâmetro para medir os níveis tóxicos de vitamina A no organismo.

- **Vitamina D**

A vitamina D é denominada vitamina antir- raquítica e possui a propriedade de prevenir ou curar a osteopenia. De todos os compostos, apenas o cole- calciferol (Vitamina D<sub>3</sub>) possui efeito curativo em aves.

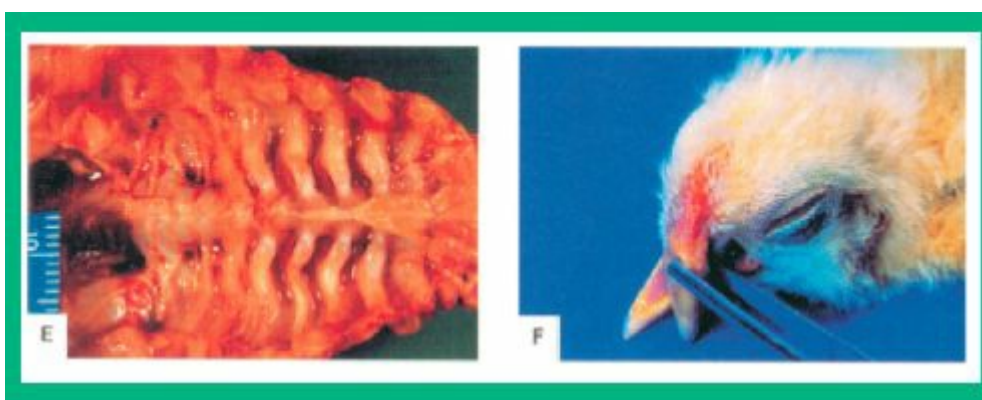
As formas mais encon- tradas são o ergocalciferol (D<sub>2</sub>) e colecalciferol (D<sub>3</sub>). O ergocalciferol é derivado do precursor esteróide das plantas, o ergosterol. Por outro lado, o colecalciferol é produzido através de seu precursor 7-deidrocolesterol, o qual é derivado do colesterol e sintetizado no organismo e presente em grande quantidade na pele, parede intestinal e outros tecidos. Os precursores da vitamina D não possuem atividade antirraquítica.

A vitamina D obtida através da dieta é absorvida principalmente pela porção ileal do trato digestório. Sua absorção se dá em presença de gordura, como todas as vitaminas lipossolúveis. Por outro lado, o colecalciferol formado pela irradiação do 7-deidrocolesterol na pele é absorvido e transportado pela corrente circu- latória ligada a uma  $\alpha$ -globulina, até se tornar disponível.

No passado, pensava-se que as vitaminas D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> fossem os agentes antirraquíticos na sua forma original, porém, os primeiros trabalhos de Norman & De Luca (1963) e finalmente De Luca (1979) vieram elucidar o metabolismo da vitamina D, com a descoberta de que a mesma se torna ativa após dois processos de hidroxilação, sendo o primeiro no fígado e o segundo nos rins, dando origem ao 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, o qual é transportado para o intestino, ossos, glândula calcígena e outros locais, facilitando o transporte do cálcio e do fósforo.

- **Deficiência de vitamina D**

A deficiência de vitamina D em aves cuja vitamina não foi suplementada à dieta e sem receber a luz solar direta produz raquitismo, cujos sintomas aparecem entre a segunda e terceira semana de idade dos animais. O bico e as unhas tornam-se moles e dobráveis (**Figura 4F**).



**Figura 4** - Raquitismo (Diseases of Poultry, 2003). E - Aparecimento de nódulos nas costelas nos pontos de união com a coluna vertebral de uma ave de 8 dias de idade, severamente afetada pela deficiência de vitamina D. Ocorrem mudanças anatômicas no esqueleto, com arqueamento dos ossos, engrossamento das articulações e deformação do tórax. F - O bico e as unhas tornam-se moles e dobráveis.

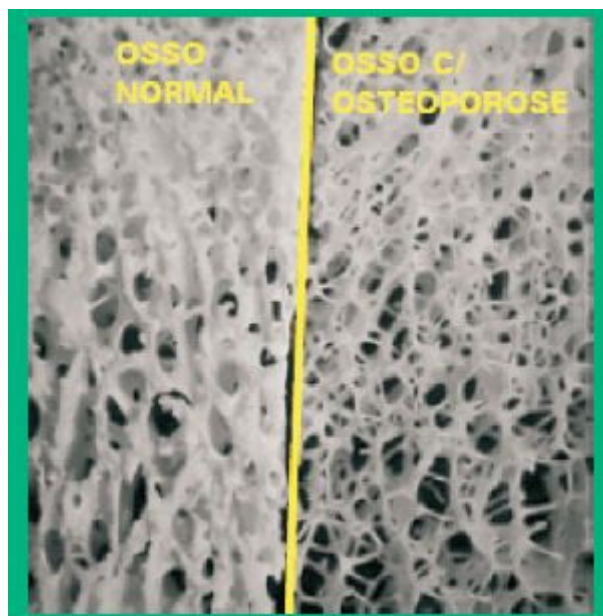
As aves manifestam principalmente sinais de debilidade, andar sobre os tarsos e em seguida ocorre a prostração, com sintomas idênticos aos causados pela deficiência de cálcio e ou de fósforo. As pernas tornam-se fracas e os pintos apresentam tendência de não caminhar e, se caminham, o fazem com dificuldade, balanceando o corpo, o que indica falta de equilíbrio do animal. Este enfraquecimento das pernas deve-se a uma alteração nos processos de absorção e de retenção de cálcio, o que resulta num desenvolvimento anormal do tecido ósseo. O desenvolvimento anormal dos ossos se observa com facilidade nas patas e nas uniões endocondriais existentes nos lados do peito.

A coluna vertebral curva-se para baixo na região sacral e coccigiana. O esterno apresenta curvamento e depressões laterais. Estas modificações reduzem o tamanho do tórax, produzindo como consequência uma compressão dos órgãos vitais. Um dos sintomas mais característicos de deficiência de vitamina D é o aparecimento de nódulos nas costelas (**Figura 4E**), principalmente nos pontos de união das mesmas com a coluna vertebral.

Examinando-se a ave, observam-se mudanças anatômicas no esqueleto, com variações que dependem da gravidade do problema, com arqueamento dos ossos, engrossamento das articulações e deformação do tórax. Não existe citação sobre diferenças entre as espécies de aves e os sinais clínicos apresentados. Além dos sinais clínicos apresentados, ocorre ainda uma acentuada diminuição no ganho de peso, pois, além da deficiência, a ave pode sentir dificuldade em alcançar o comedouro e bebedouro.

Em linhagens de postura comercial, as fraturas em diferentes ossos no esqueleto devido à osteoporose (**Figura 5**), representam um sério problema metabólico. A fragilidade óssea e propensão a fraturas características da osteoporose, envolvem perturbações no balanço entre a reabsorção óssea (retirada dos minerais componentes do osso) e sua formação, atividades pertinentes à fisiologia regular do esqueleto conhecida como remodelamento. Com o remodelamento, o tecido ósseo é substituído por novas células e, componentes do esqueleto como o cálcio (Ca), são liberados à circulação sanguínea. Do mesmo modo que a osteoporose após a menopausa em humanos, o risco de desenvolvimento da doença em poedeiras comerciais é dependente da massa óssea (quantidade de osso estrutural totalmente mineralizado) obtida durante

a fase de crescimento e sua gradual perda depois de finalizado o crescimento.



**Figura 5** - Osso trabecular normal (esquerda) e o mesmo tipo de osso com início da osteoporose (direita).

Como as fraturas possuem diferentes causas, a abordagem da fragilidade óssea em poedeiras necessita ser explorada de modo diferenciado, contemplando-se as diferentes fases envolvidas na atividade de postura comercial.

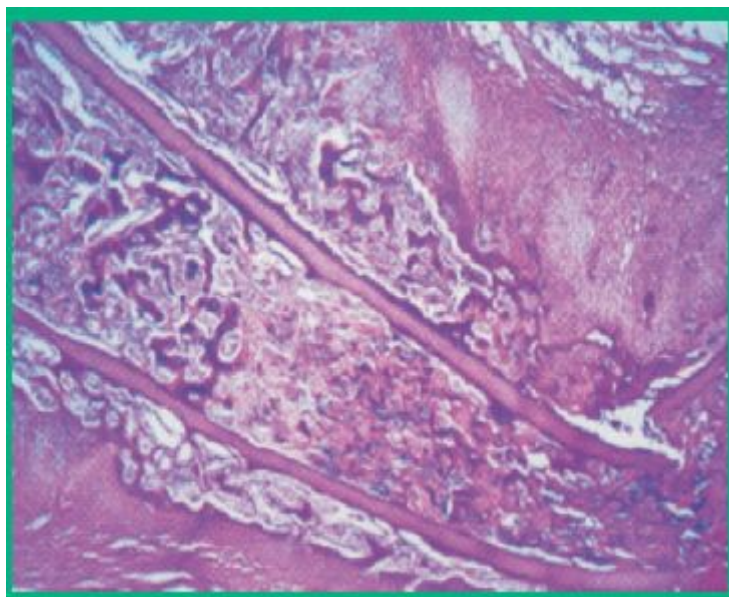
Nas atuais linhagens de postura comerciais a manifestação da osteoporose é largamente atribuída a duas causas básicas: a seleção genética em que se objetivou a maturidade sexual precoce, menor peso corporal e a alta taxa de produção de ovos durante um longo período de tempo e também, ao confinamento das aves em gaiolas, o que agravou o problema devido à limitação de espaço e conseqüente redução na atividade física.

A fragilidade óssea devida à osteoporose possui implicações ao bem-estar das aves, tornando-se um grave problema durante o manejo de apanha, anterior ao abate. A esse quadro soma-se a alta incidência de fraturas durante o processamento das carcaças levando à presença de fragmentos de ossos quebrados na carne processada, resultando num problema de segurança alimentar e na rejeição do abate de aves em final de produção por parte das indústrias processadoras.

A osteoporose é definida como o decréscimo na quantidade de osso estrutural mineralizado, fragilidade óssea e susceptibilidade à fratura. Assim como em seres humanos, a etiologia da osteoporose em poedeiras é multifatorial, com elementos de origem nutricional, ambiental (manejo e instalações) e genéticos. A interdependência das distintas etiologias necessita ser conhecida de modo a se compreender a condição da perda óssea, característica na osteoporose, objetivando reduzir o problema.

Deficiências nutricionais de Ca, fósforo (P) ou vitamina D estão associadas à condição conhecida como osteomalácia (**Figura 6**), também causada pela perda mineral dos ossos que irá conduzir a uma maior severidade da osteoporose. As propriedades mecânicas anormais dos ossos nesta condição ilustram a importância da mineralização para adequado funcionamento do esqueleto. Além da função estrutural de suporte ao esqueleto, o osso também funciona como reservatório de

Ca e P e, no caso das aves em postura, esta função é particularmente importante considerando que a casca possui ao redor de 2g de Ca o que equivale ao redor de 10% do Ca corporal total de uma poedeira (Loveridge *et al.*, 1992).



**Figura 6** - Osteomalácia (“Fadiga de gaiola”). Fratura patológica da costela com formação imperfeita de calo ósseo. Há mínima constituição mineral depositado no local da fratura (Diseases of Poultry, 2003).

Modernas linhagens de aves de postura comercial produzem acima de 300 ovos por ano e essa produção requer que as aves depositem grande quantidade de Ca nas cascas, ou seja, o equivalente a mais de 20 vezes seu Ca corporal total. Embora na natureza, muitas espécies de aves efetuem a postura em determinadas estações do ano, as poedeiras comerciais estão em constante demanda de Ca, uma vez que são ovíparas contínuas e por essa razão, o metabolismo do Ca ósseo nestas aves opera em proporção ampliada.

A demanda metabólica ao esqueleto das aves comerciais é muito mais intensa considerando a constante formação da casca dos ovos durante todo o período de postura. As fontes imediatas de Ca para deposição na casca se encontram no intestino após consumo de dieta balanceada e da mobilização do Ca ósseo. Aproximadamente 60% do Ca presente na casca provém do Ca intestinal e os restantes 40% provém do Ca armazenado nos ossos (Miller, 1992). Quando há baixa concentração de Ca à nível intestinal a secreção do paratormônio (PTH) é estimulada concomitante à síntese da Vitamina D, o que por sua vez, ativam mecanismos fisiológicos que induzem à reabsorção óssea para liberação do Ca armazenado no esqueleto.

Técnicas invasivas e não-invasivas para se acessar a integridade óssea, auxiliam na identificação de possíveis estratégias para se reduzir a incidência da osteoporose nessas aves. A tecnologia da densitometria, que mensura a mineralização óssea em diferentes estágios da vida produtiva de poedeiras, é uma das mais recentes tecnologias validadas para se monitorar a integridade e susceptibilidade à fraturas em aves comerciais.

No início da fase de produção, quando está ocorrendo simultaneamente a formação e a calcificação da casca do ovo, há um sinal para que haja um aumento na secreção do paratormônio, na hidroxilação da vitamina D pelos rins, na absorção intestinal de cálcio e na calbidina intestinal

e uterina (glândula da casca). As duas últimas variáveis refletem no transporte do cálcio desses órgãos (Bar & Hurwitz, 1979; Bar *et al.*, 1992). Mesmo com esses aumentos, ocorre um balanço negativo de cálcio durante o início do período de postura. Conseqüentemente, a presença de uma adequada reserva nos ossos ao início do ciclo produtivo pode ser crucial na redução da incidência de osteoporose, na manutenção da produção de ovos e de cascas com boa qualidade (Keshavarz, 1987).

A eclodibilidade e incubabilidade dos ovos são marcadamente reduzidas, com alta mortalidade embrio-nária por volta de 18 a 19 dias de incubação dos ovos. Os embriões se apresentam com deformação da mandíbula e incompleta formação do bico. Eventualmente, os ossos do dorso são de pouca rigidez e com acentuada deformação da região do cóccix.

É importante salientar que as rações à base de milho e de farelo de soja são desprovidas de vitamina D, sendo obrigatória sua adição, principalmente quando as aves são criadas em ambientes onde a luz ultravioleta não está presente.

Xu *et al.* (1997) investigaram o efeito da vitamina D3 e seus metabólitos sobre a incidência de discondroplasia, concluindo que essa anomalia está associada à dificuldade da ave em metabolizar a vitamina D3.

- **Tratamento da deficiência**

Hooper *et al.* (1942) encontraram que uma única dose maciça de 15.000IU da vitamina D3 curou aves raquíticas mais prontamente do que quando os níveis generosos da vitamina foram adicionados à alimentação. Esta única dose oral protegeu frangos de corte na fase inicial contra o raquitismo por oito semanas e frangas por cinco semanas.

Ao administrar doses maciças aos pintinhos com raquitismo, deve-se lembrar que a vitamina D em excesso pode ser prejudicial. A dose deve ser calculada, de acordo com o grau de deficiência, e quantidades excessivas da vitamina D não devem ser adicionadas à alimentação.

- **Hipervitaminose D**

O fornecimento de vitamina D3 em níveis acima de 100 vezes maiores que a recomendação, causa retardo no crescimento, eriçamento de penas e poliúria. Caso o fornecimento ultrapasse 1000 vezes a dose recomendada, haverá retardo acentuado no crescimento, eriçamento de penas, poliúria, desidratação, incoordenação motora e debilidade das pernas. Pode haver alta mortalidade caso a intoxicação perdure várias semanas.

- **Vitamina E**

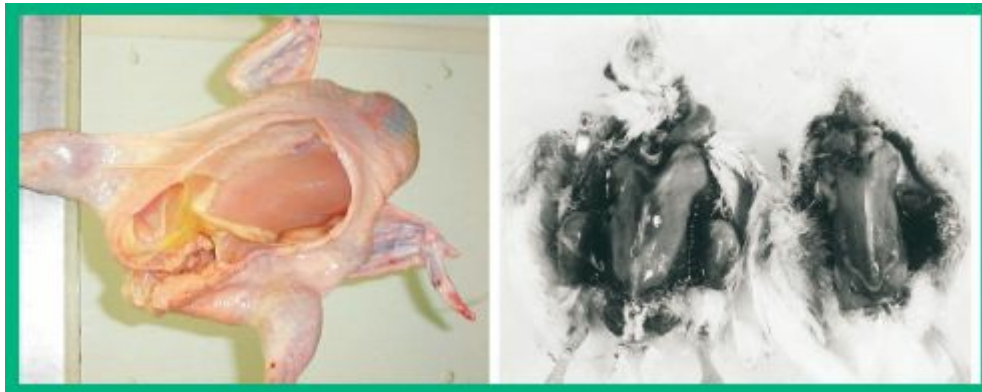
A vitamina E é derivada de uma série de compostos de origem vegetal, os tocoferóis e os tocotrienóis. Assim, oito formas são encontradas na natureza: quatro tocoferóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ) e quatro tocotrienóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ). A diferença básica entre os tocoferóis e os tocotrienóis é devida à saturação da cadeia, estando os últimos na forma insaturada.

Já está bem estabelecido que algumas funções da vitamina E estão associadas ao selênio.

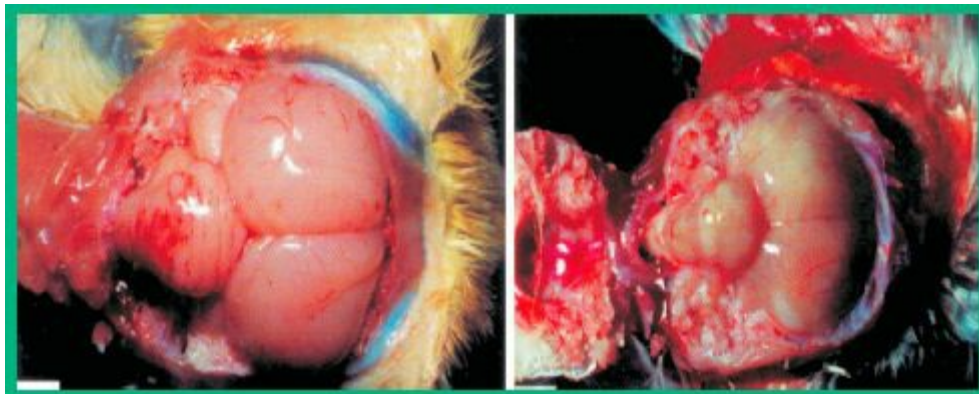


- **Deficiência de vitamina E**

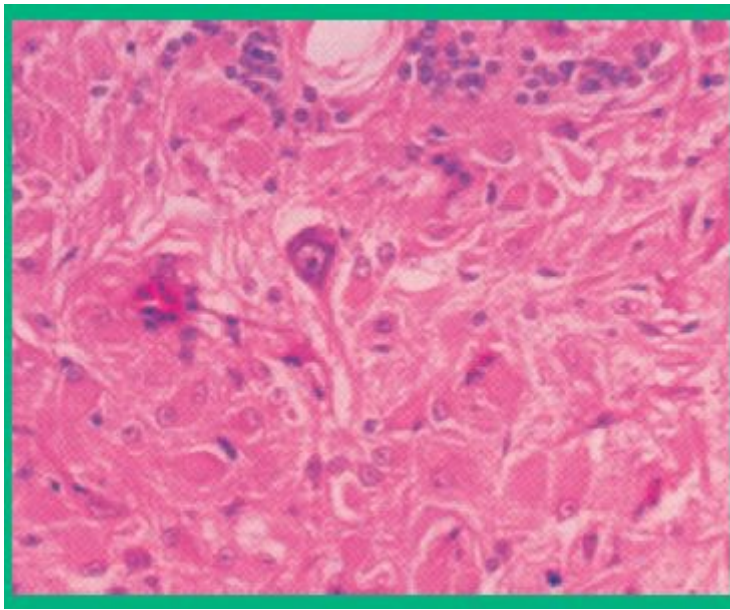
A deficiência de vitamina E em aves é responsável pelo aparecimento de três doenças carenciais que são: diátese exsudativa com sinais de edema subcutâneo (**Figura 7**), encefalomalácia (**Figura 8**) e distrofia muscular (**Figura 11**).



**Figura 7** - Diátese exsudativa em frangos de corte (Diseases of Poultry, 2003).



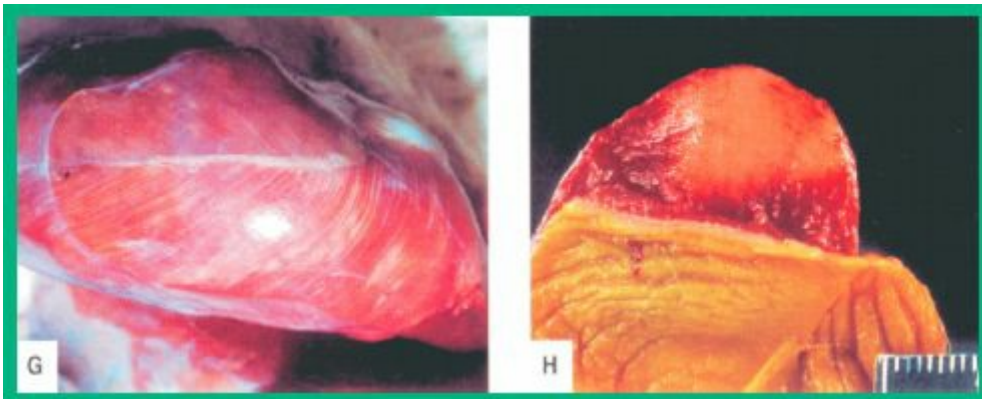
**Figura 8** - Encefalomalácia nutricional – Deficiência de vitamina E (Diseases of Poultry, 2003). Esquerda - Aves com sinais neurológicos apresentam aumento do tamanho do cerebelo, edema, hemorragia e diluição das camadas finas. Lesões no cérebro também podem ocorrer, mas não é comum. Direita - Ave com encefalomalácia nutricional crônica sobreviveu 3 dias após o início dos sinais clínicos. As áreas afetadas aparecem pálidas e encolhidas. Porções variáveis de camadas finas externas afetadas são separadas agudamente do tecido normal interno. Há uma congestão e uma hemorragia. As células inflamatórias são mínimas a ausentes.



**Figura 9** - Encefalomalácia nutricional – Deficiência de vitamina E. Os astrócitos aumentados na ave com o encefalomalácia crônica substituem quase a totalidade da arquitetura cerebelar normal (Diseases of Poultry, 2003).



**Figura 10** - Paresia (direita) e pronunciados sinais neurológicos (esquerda) em aves com encefalomalácia causada pela deficiência de vitamina E (“Crazy Chick Disease”). As aves jovens com paresia geralmente não têm lesões do cérebro, mas têm poliomielomalácia bilateral como visto nas figuras acima (Diseases of Poultry, 2003).



**Figura 8** - Miopatia nutricional (Diseases of Poultry, 2003). G - Degeneração das fibras musculares como resultado da carência de vitamina E e selênio. Esta degeneração aparece como faixas pálidas, freqüentemente fusiformes e lineares no músculo esquelético. A fibrose, a deposição de gordura intramuscular e outras miopatias podem produzir sinais semelhantes. (Barnes *et al.*, 2003). H – Miopatia ventricular. A deficiência da vitamina E e/ou de selênio podem produzir miopatia no músculo liso assim como no músculo cardíaco e esquelético. As lesões são vistas como áreas pálidas na musculatura do ventrículo.

A diátese exsudativa foi considerada uma doença bastante comum no passado. Porém, no início da década de 70, com a introdução do selênio às dietas à base de milho e de farelo de soja, a sua incidência diminuiu muito, já que existe uma interrelação entre a vitamina E e o selênio para essa enfermidade.

Nos frangos de corte, a diátese exsudativa se caracteriza por um edema generalizado, porém mais pronunciado nas regiões do pescoço e sob as asas, produzido por um aumento de permeabilidade vascular. O edema subcutâneo evolui rapidamente a um estado hemorrágico, produzindo assim uma coloração azul esverdeada da pele. As aves afetadas mostram-se apáticas, ocorrendo acentuada redução no apetite. Se não tratadas, pode ocorrer alta mortalidade de dois a seis dias após o aparecimento dos sintomas. Em dietas muito deficientes em selênio, a adição de vitamina E não previne o aparecimento da enfermidade. Por outro lado, a adição de 0,05 a 0,1ppm de selênio é o suficiente para prevenir a diátese exsudativa.

A encefalomalácia geralmente afeta as aves de duas a seis semanas de idade e é caracterizada pela hemorragia do cerebelo. É causada pela deficiência de vitamina E ou de um antioxidante sintético, ou à presença de níveis excessivos de ácidos graxos poliinsaturados.

Existe uma relação muito estreita entre os níveis de vitamina E na dieta de matrizes e a ocorrência de encefalomalácia em pintos. No caso de pintos recém-eclodidos, oriundos de matrizes que receberam uma dieta deficiente em vitamina E, estes contiveram em sua gema, 16,5% de ácido linoléico (do total de ácidos graxos) e foram mais susceptíveis à encefalomalácia do que pintos contendo 7,6% do mesmo ácido.

Nas aves, a encefalomalácia ocorre geralmente entre 15 e 30 dias de idade, mas os sintomas podem ser observados ocasionalmente aos sete dias, onde os pintos podem aparecer com os membros abertos, opistótono, paralisia e morte, acompanhados de inanição, desidratação e parada dos movimentos. As lesões ocorrem no encéfalo, principalmente no cerebelo, que fica edematoso e com perdas de estrias cerebelares (Rutz, 2002).

É importante ressaltar que os sintomas externos da encefalomalácia, encefalomielite e polineurite generalizada, são semelhantes. Na encefalomalácia, ocorre uma hemorragia do cerebelo e cérebro. No caso da encefalomielite, que é uma doença viral, o cérebro e o cerebelo apresentam-se aparentemente intactos, porém, ao exame histológico, observa-se uma intensa infiltração linfocitária perivascular. Por outro lado, a polineurite generalizada, ocasionada pela deficiência de vitamina B1, não mostra lesão alguma.

A adição de selênio não previne a encefalomalácia, enquanto que os antioxidantes sintéticos mostram-se parcialmente eficientes.

Quando a deficiência de vitamina E é acompanhada também por deficiência de metionina + cistina, as aves apresentam-se com sérios problemas de distrofia muscular, especialmente no músculo do peito. A adição de selênio é efetiva para prevenir a distrofia muscular, porém isso só ocorre quando a ração contém certa quantidade, mesmo que insuficiente, de vitamina E. A exigência da ave em selênio é maior quando a ração contém níveis insuficientes de vitamina E e aminoácidos sulfurosos.

Uma deficiência prolongada de vitamina E pode resultar em esterilidade permanente. A eclodibilidade dos ovos oriundos de galinhas que receberam rações deficientes em vitamina E é reduzida, com mortalidade embrionária alta após quatro dias de incubação.

É importante salientar que existe uma tendência de se adicionar uma maior quantidade de vitamina E nas rações em relação aos níveis recomendados e, portanto, não se tem dados de deficiência nessa vitamina, a menos que tenha ocorrido uma falha humana de erro de pesagem ou mesmo de não adicioná-la.

A distrofia muscular é a que apresenta maior importância econômica, pois envolve os músculos esqueléticos das aves. É uma doença carencial produzida pela deficiência de vitamina E, aminoácidos contendo enxofre e pela presença de ácidos graxos poliinsaturados. Pode ocorrer em lotes onde as dietas são pobres em cisteína e vitamina E. Os animais apresentam incoordenação e dificuldade de se movimentarem (manifestam dor ao tentar fazê-lo). A maioria desses animais fica sentada sobre os tarsos; e a massa muscular apresenta hipertermia, com aspecto rígido (Rutz, 2002). Esta enfermidade não pode ser completamente suprimida por administração de Se, embora se possa diminuir a frequência com que se apresentam os sintomas da carência (Kolb, 1976).

## Tratamento da deficiência

Se não muito avançadas, tanto a diátese exsudativa quanto a miopatia em pintos, são invertidos prontamente pela administração de níveis apropriados da vitamina E e de selênio, pela administração oral ou adicionados à alimentação. A encefalomalácia pode ou não responder ao tratamento com vitamina E, dependendo da extensão dos danos ao cerebelo.

- **Vitamina K**

Esta vitamina é denominada de vitamina anti-hemorrágica porque sua função principal é a de

participar da síntese da protrombina. Conhece-se um grupo de compostos com características anti-hemorrágicas, denominado de quinona. A molécula básica é uma naftoquinona e seus isômeros se diferem em função do comprimento da cadeia molecular. A vitamina K extraída dos vegetais é denominada filoquinona ou vitamina K1. Quando a sua síntese se dá através da fermentação microbiana, sua denominação é menaquinona ou vitamina K2. A forma mais comum de vitamina K é a menadiona (K<sub>3</sub>), obtida sinteticamente.

O sinal clínico mais evidente na deficiência de vitamina K é o aumento do tempo de coagulação sangüínea, seguido da diminuição dos níveis de protrombina e hemorragia. Nas formas mais severas de deficiência, as hemorragias do tecido subcutâneo e das mucosas são seguidas de morte da ave.

Segundo Almquist (1971), os pintos originados dos ovos produzidos por galinhas cuja ração era deficiente em vitamina K, eram mais susceptíveis à hemorragias, principalmente quando os mesmos eram acometidos de traumatismos físicos, como por exemplo, a debicagem.

Nos pintos, a deficiência de vitamina K resulta em aumento do tempo de coagulação sangüínea logo após 7 a 10 dias de idade, com sinais clínicos mais nítidos após duas a três semanas de idade. O exame pós-morte normalmente revela um acúmulo de sangue em várias partes do organismo, podendo ainda ocorrer o aparecimento de petéquias hemorrágicas no fígado e em torno dos ossos longos, trato digestivo e ainda a erosão da mucosa da moela. Ocorre uma alta condenação das carcaças de aves que se alimentaram com rações deficientes em vitamina K, em virtude das petéquias, com quadro semelhante à micotoxicose.

O aparecimento de sintomas de deficiência de vitamina K não se restringe apenas ao seu nível na dieta, pois vários são os fatores que predis põem a essa deficiência.

Os tratamentos prolongados com sulfas, principalmente a sulfaquinoxalina, resultam em deficiência de vitamina K, já que essas drogas ocupam o local da vitamina K na síntese da protrombina.

Scott *et al.* (1982) recomendam a adição da vitamina K na ração ou água de bebida na proporção 10 vezes maior que a recomendada quando as aves estão sendo tratadas com sulfas em casos de coccidiose.

O ácido arsanílico também faz com que haja uma necessidade de aumento dos níveis de vitamina K nas rações.

Existem casos na literatura de deficiência de vitamina K, com quadro hemorrágico fatal, quando as aves são alimentadas com milho contaminado por dicumarina, que é uma potente antagonista da vitamina K, muito utilizada no combate aos roedores.

É sempre recomendável o aumento da adição de vitamina K nas rações quando as aves são acometidas por coccidiose, micotoxicose ou mesmo quando são tratadas por antibióticos ou sulfas.

- **Papel bioquímico da vitamina K**

A coagulação do sangue é um processo bioquímico complexo. A vitamina K não participa da coagulação do sangue, mas é imprescindível na biossíntese da protrombina, da proconvertina, do fator Stewart e do fator Christmas.

Baseados na capacidade da actinomicina D em bloquear a ação da vitamina K na síntese de protrombina em pintos deficientes, os cientistas concluíram que a vitamina K funciona como um indutor metabólico da transcrição genética do DNA. Assim, a deficiência de vitamina K ou a administração de actinomicina D leva a uma baixa produção de RNA. Foi observado que a adição de actinomicina D, em animais normais em vitamina K reduziu a síntese de RNA para 40% do normal. Não ocorrendo síntese de RNA, não ocorre síntese de proteína pelo lisossoma das células hepáticas.

### • Fatores que afetam as exigências de vitamina K

A vitamina K é metabólico essencial para todos os animais domésticos e para o homem, As exigências dos animais domésticos e do homem dependem:

- Da disponibilidade da vitamina K nos vários alimentos.
- Da estabilidade da vitamina K nos alimentos e nos suplementos de vitamina K.
- Da síntese gastrintestinal de vitamina K.
- Do grau de absorção de vitamina K.
- Da quantidade de vitamina K destruída no trato gastrintestinal.
- Da adição de substâncias antagônicas à vitamina K, como a sulfaquinoxalina, dicumarol, warfarin ou actinomicina D.
- Do grau de transferência da mãe ao feto ou das aves aos pintinhos através do ovo.

### • Tratamento da deficiência

Dentro de quatro a seis horas após a administração da vitamina K aos pintinhos deficientes, a coagulação do sangue se normaliza, mas a recuperação da anemia ou das hemorragias, podem não ocorrer prontamente.

## Vitaminas Hidrossolúveis

### • Complexo B

O complexo B abrange várias vitaminas que receberam letra B. Elas ocorrem juntas em vários alimentos, principalmente na casca dos grãos de cereais, no feijão, na gema de ovo e na carne.

### • Vitamina B<sub>1</sub> (Tiamina)

A vitamina B<sub>1</sub>, também denominada de tiamina, assume uma função extremamente importante no metabolismo dos carboidratos, atuando como uma coenzima ou como tiamina pirofosfato. Todas as reações de descarboxilações são mediadas pela tiamina, ou seja, no ciclo das pentoses, na síntese da ribulose-5-fosfato, a partir da glicose-6-fosfato, na descarboxilação oxidativa do ácido pirúvico a acetil CoA e ainda na descarboxilação do  $\alpha$ -cetoglutarato a oxaloacetato.

Na deficiência da tiamina, o principal sintoma é a polineurite, causada pelo acúmulo de ácido

lático, o qual é sintetizado a partir do ácido pirúvico. Além dos fatores neurológicos, ocorrem ainda desordens cardiovasculares.

De todos os nutrientes, a tiamina é o principal na regulação do apetite, pois na sua deficiência ocorre um bloqueio do metabolismo dos carboidratos e, assim, não havendo a glicólise e tão pouco o ciclo dos ácidos tricarboxílicos, a glicose sanguínea não se adentra as células, e não ocorre portanto o estímulo do centro da fome.

As aves são mais susceptíveis aos efeitos neuromusculares causados pela deficiência de tiamina. Os sintomas se iniciam com a perda do apetite, emaciação, diminuição da taxa de digestão, fraqueza, posição em opistótomo, freqüentes convulsões e polineurite generalizada (**Figura 12**).



**Figura 12** - Opistótomo típico apresentado por ave sofrendo de deficiência de tiamina.

Pintinhos alimentados com dietas muito deficientes em tiamina mostram-se com os sintomas externos semelhantes à encefalomalácia e encefalomielite, sobrevivendo de 7 a 10 dias. Anormalidades cardíacas foram observadas pela primeira vez por Sturkie *et al.* (1954) e Naidoo (1956), demonstrando que a deficiência da vitamina B1 se manifesta com paralisia do inglês e vômitos.

Em aves adultas, a polineurite pode ser observada aproximadamente após três semanas da retirada da vitamina da ração. Com o progresso dos sintomas de deficiência, observa-se paralisia muscular, começando com os músculos flexores dos dedos, até afetar os músculos extensores das pernas, asas e pescoço. As aves sentam-se apoiando os tarsos e com a cabeça voltada para trás.

Ainda, aves com deficiência de tiamina apresentam-se com a temperatura corporal diminuída, com conseqüente diminuição da taxa respiratória. A glândula adrenal mostra-se hipertrofiada, resultando, aparentemente, no edema tecidual, particularmente da pele. A deficiência crônica resulta na atrofia dos órgãos genitais, sendo mais pronunciados nos testículos do que nos ovários.

#### • **Tratamento da deficiência**

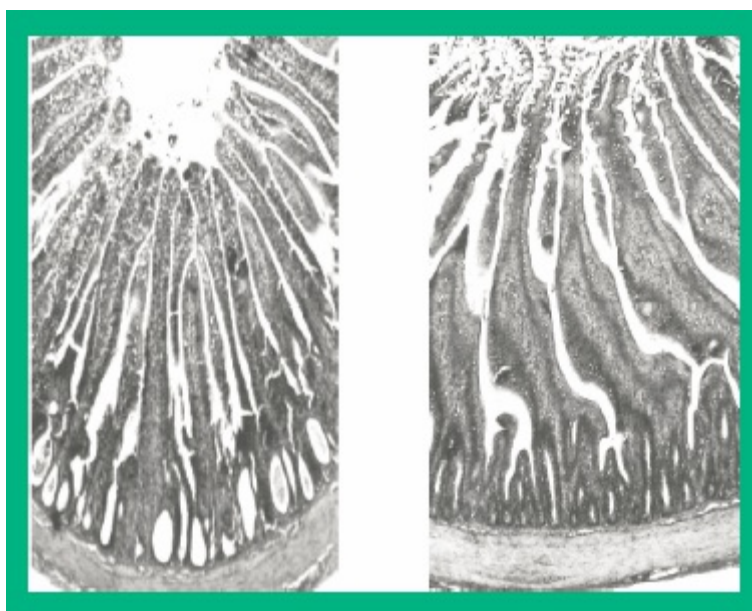
As aves que sofrem da deficiência de tiamina respondem dentro de algumas horas à administração oral da vitamina. A deficiência de tiamina causa extrema anorexia; por esse motivo, a suplementação da ração com a vitamina, não é um tratamento de confiança até que as aves tenham de recuperado da deficiência aguda.

- **Vitamina B2 (Riboflavina)**

Também conhecida por riboflavina, a vitamina B<sub>2</sub> é importante constituinte de inúmeras enzimas essenciais para a utilização dos carboidratos, gorduras e proteínas. A riboflavina, na forma de coenzima, faz parte das chamadas flavoproteínas, a flavina mononucleotídeo (FMN) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD), atuando nas reações de transferências de elétrons, nas reações de oxidação-redução, ou mais propriamente no transporte de elétrons da cadeia respiratória.

Da mesma forma como ocorre com a deficiência da tiamina, é de se esperar uma diminuição do consumo de ração quando as aves mostram-se deficientes em riboflavina. Como consequência, observa-se uma diminuição da taxa de ganho de peso e uma piora da conversão alimentar.

A falta de vitamina B2 na ração de pintos pode causar o aparecimento de diarreias, retardo do crescimento ou o aparecimento de uma paralisia das patas conhecida como paralisia dos “dedos curvados” (**Figura 14**). Esta doença caracteriza-se por aparecer subitamente, e os animais caminham sobre seus tarsos com os dedos de suas patas curvados para dentro.



**Figura 13** - Duodeno de uma ave tiamina-deficiente, com severa dilatação das criptas de Lieberkühn (esquerda). Controle (direita) X 30 (Diseases of Poultry, 2003).

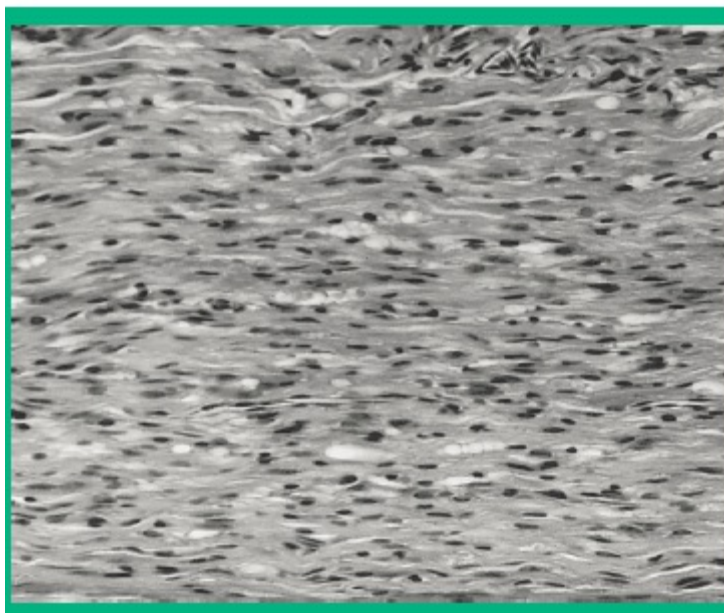




**Figura 14** - Paralisia do dedo curvado (deficiência de riboflavina). Sinais típicos como crescimento reduzido, relutância em ficar de pé ou andar, sentando no jarrete, e dedos torcidos para dentro (Diseases of Poultry, 2003).

A doença ocorre em duas etapas: uma preliminar em que os sintomas são reversíveis com a administração de vitamina B2 e outra aguda em que as lesões causadas pela deficiência são irreversíveis, ou seja, quando a paralisia dos dedos curvos permanecem por mais de uma semana.

Nos casos graves os nervos brânquios e o ciático hipertrofiam-se, chegando algumas vezes a aumentar quatro a seis vezes seu diâmetro normal. O exame histológico revela ainda uma degeneração da membrana da mielina (**Figura 15**).



**Figura 15** - Paralisia dos “dedos curvados”: Neuropatia periférica, caracterizada pela intumescência e degeneração axonal, ativação e proliferação das células de Schwann e degeneração da bainha de mielina. X70. (Diseases of Poultry, 2003).

Pintos originados de ovos cujas galinhas reprodutoras receberam ração deficiente em riboflavina também podem apresentar essa paralisia e dificuldade em andar.

Os sintomas de deficiência de vitamina B2 em galinhas são: decréscimo na produção de ovos, aumento na mortalidade embrionária e aumento no tamanho do fígado e no seu conteúdo de gordura.

A eclodibilidade dos ovos é primeiramente reduzida e subseqüentemente a produção é afetada, dependendo do grau de severidade da deficiência. A mortalidade embrionária é marcada por dois períodos típicos: o quarto e o vigésimo dias de incubação. Os embriões que não sobrevivem são de tamanho bastante reduzido e edemaciados.

Pintos alimentados com rações com níveis marginais de riboflavina se recuperam após a sua administração, porém, o mesmo não ocorre em estado agudo da enfermidade. Os trabalhos de Ruiz & Harms (1988) revelaram que a deficiência de riboflavina é mais severa nas linhagens modernas de galinhas de postura e frangos de corte em relação às linhagens das décadas de 40 e 50. Provavelmente, isso ocorra em função da maior taxa de crescimento das aves atuais.

- **Tratamento da deficiência**

Duas doses de 100 µg da riboflavina devem ser suficientes para o tratamento de pintinhos ou de aves jovens, seguidas pela incorporação de um nível adequado na ração. Quando a deformidade do “dedo curvado” permanece por longo período. Ocorrem danos irreparáveis e a administração da riboflavina não faz mais efeito de cura.

- **Vitamina B<sub>6</sub> (Piridoxina)**

A vitamina B<sub>6</sub> é também denominada piridoxina, que é a forma mais comumente encontrada. Na forma de piridoxal fosfato e piridoxamina fosfato, ela assume um importante papel no metabolismo dos aminoácidos, carboidratos e gordura. Praticamente, todas as reações envolvendo o metabolismo dos aminoácidos são dependentes da vitamina B<sub>6</sub>, incluindo a transaminação, descarboxilação e deaminação.

Os pintos alimentados com ração deficiente em vitamina B<sub>6</sub> apresentam perda de apetite, redução na taxa de crescimento e sintomas nervosos característicos. Alguns pintos mostram-se excitados, apresentando, depois de algum tempo, movimentos convulsivos bruscos. Os pintos saem subitamente correndo sem rumo, às vezes batendo as asas e mantendo a cabeça baixa. Podem também sofrer convulsões, durante as quais se deitam sobre o peito, levantando as patas do chão e batendo as asas. Podem cair para o lado, ficando de costas e agitando as pernas no ar. A deficiência de vitamina B<sub>6</sub> nas aves adultas também se caracteriza por perda de apetite, o que conseqüentemente leva à perda de peso do animal.

Em galinhas de postura, a deficiência de vitamina B<sub>6</sub> resulta em redução na produção e eclodibilidade dos ovos e quando a ração contém menos de 0,5 ppm da vitamina, ocorre uma involução rápida do ovário, oviduto, crista e barbeta. Nos machos, ocorre ainda a involução dos testículos, crista e barbela. Todos estes sintomas tornam-se mais graves com o tempo, resultando na morte dos animais.

Aves com deficiência de vitamina B<sub>6</sub> podem ainda apresentar dermatite, anemia e mau

empenamento. Em virtude do seu importante papel no metabolismo das proteínas, a sua deficiência resulta em diminuição da retenção de nitrogênio, com conseqüente aumento da excreção pela urina, alterando assim o metabolismo da maioria dos aminoácidos, particularmente o triptofano.

Segundo Bräunlich (1974), pintos alimentados com dieta deficiente em vitamina B<sub>6</sub> apresentam-se com diminuição no consumo e conseqüentemente diminuição do ganho de peso, plumagem irregular e total debilidade após poucos dias sem receber a citada vitamina. Sua postura é irregular, com as asas entreabertas e o bico próximo ao solo. Ainda, segundo o mesmo autor, a deficiência mais severa resulta em problemas nervosos, com o aparecimento de excitabilidade, movimentos descoordenados e violentas convulsões que podem levar a ave à morte. Esses sinais não podem ser confundidos com aqueles observados no caso da encefalomalácia.

Os sinais similares da deficiência foram também observados em perus, como a perda do apetite, diminuição no ganho de peso, alta sensibilidade e eventualmente a morte.

Os achados de Fuller & Kifer (1959) revelaram que os sinais de deficiência aparecem oito dias após a vitamina ser retirada da ração. Dagher & Haddad (1981) encontraram acentuada erosão de moela em pintos que receberam a ração deficiente em vitamina B<sub>6</sub>.

Muito embora os nutricionistas adicionem sempre a vitamina B<sub>6</sub> nas rações de todas as aves, é difícil de observar sua deficiência quando aves adultas estão consumindo ração à base de milho e farelo de soja, balanceada para todos os outros nutrientes.

- **Vitamina B<sub>12</sub> (Cianocobalamina)**

A forma mais usada de vitamina B<sub>12</sub> é a cianocobalamina, porém, a maior parte dela encontrada nos alimentos está na forma de adenosilcobalamina e metilcobalamina.

A vitamina B<sub>12</sub> foi a última das vitaminas a ser descoberta e adicionada nas rações dos animais domésticos. No passado, havia a necessidade de se incluir certa percentagem de produto de origem animal (exemplo: farinha de carne e ossos, farinha de peixe) às rações dos monogástricos, visto acreditar-se que esses produtos continham os chamados fatores não identificados de crescimento. Acreditava-se ainda que os excrementos de bovinos e eqüinos pudessem ser usados nas rações porque também continham esses tais fatores não identificados. Somente na década de 60 é que a vitamina B<sub>12</sub> foi colocada no mercado de rações e aí uma série de experimentos vieram comprovar a eficiência das rações com base apenas no milho e no farelo de soja, como fontes de energia e proteína, respectivamente. A partir desse marco, descobriu-se que um dos fatores não identificados de crescimento é a vitamina B<sub>12</sub>, além do selênio e outros nutrientes anteriormente descobertos.

Em verdade, a vitamina B<sub>12</sub> encontra-se ausente nos produtos de origem vegetal e acredita-se que sua presença possa estar associada à contaminação bacteriana. Por outro lado, as matérias primas de origem animal constituem-se em fonte substancial de vitamina B<sub>12</sub>. Daí a recomendação no passado de certa percentagem de farinha de carne e ossos, farinha de peixe e outros produtos de origem animal às rações das aves e suínos.

Até hoje, a vitamina B<sub>12</sub> é chamada de fator de crescimento, pois a sua deficiência resulta em acen- tuada diminuição da taxa de crescimento, redução no consumo de ração e piora na conversão alimen- tar.

Em frangos de corte e perus em fase de cresci- mento sua deficiência resulta ainda em desordens nervosas, mau empenamento e alta mortalidade. Existem ainda alguns achados de fraqueza das per- nas e perose, porém admite-se como sendo fatores secundários.

Segundo Scott *et al.* (1982), a perose pode aparecer em pintos alimentados com rações deficientes em vitamina B<sub>12</sub>, quando as mesmas contêm quantidades marginais de colina, metionina ou betaína, como doadores de grupamentos metílicos. Assim, a adição de vitamina B<sub>12</sub> nesses casos é sempre benéfica, já que ela está associada às reações de sínteses dos grupamentos metílicos.

Outros sinais de deficiência de vitamina B<sub>12</sub> incluem a anemia, erosão de moela, acúmulo de gordura no coração, fígado e rins. Em galinhas de postura, essa vitamina assume notável importância sobre o peso dos ovos.

Se a dieta de galinhas reprodutoras estiver defi- ciente em vitamina B<sub>12</sub>, a eclodibilidade dos ovos incubáveis pode ser severamente afetada, e os embriões se apresentarem com as seguintes anor- malidades: hemorragia generalizada, fígado gordu- roso, coração dilatado e anatomicamente deforma- do, rins pálidos ou amarelos, atrofia das pernas, pouca mielinização das fibras nervosas e hipertrofia da glândula tireóide. A maior mortalidade ocorre por volta de 17º dia de incubação.

A exigência de vitamina B<sub>12</sub> para as aves é em torno de 9,0mcg, porém, não raro os nutricionistas adicionam níveis de até 25 mcg por quilograma de ração. Muito embora as farinhas de carne e ossos e de peixe constituam-se em ótimas fontes dessa vitamina, os nutricionistas, mesmo formulando suas rações com uma dessas matérias primas, ainda tomam a precaução de adicionar a vitamina B<sub>12</sub> em quantidades acima daquelas preconizadas pelas tabelas de recomendação.

### • Tratamento da deficiência

Peeler *et al.* (1951), mostraram que a injeção intra-muscular da vitamina B<sub>12</sub> de 2 µg por galinha poedeira aumentou a capacidade de incubação dos ovos das galinhas deficientes em vitamina B<sub>12</sub>, em aproximadamente 15 a 80%, dentro de uma semana.

A adição de 4 mg da vitamina B<sub>12</sub> por tonelada de ração é suficiente para manter a máxima capaci- dade de incubação dos ovos e produzir os pintos com estoque suficiente da vitamina para impedir a deficiência durante as primeiras semanas de vida.

### • Ácido Nicotínico (Niacina)

Durante muitos anos, a niacina foi denominada de vitamina PP, ou seja, vitamina para prevenção da pelagra, em virtude da alta incidência dessa enfermidade na época em que pouco se conhecia sobre a sua importância no metabolismo.

Essa vitamina assume também importante papel no metabolismo dos carboidratos, nas reações de oxidação-redução nas quais estão envolvidas a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) na sua forma oxidada e reduzida e também na forma fosfatada como NADP. Mais de 40 reações químicas do organismo estão associadas à presença do NAD e NADP.

A deficiência de niacina é caracterizada por lesões na pele e nos órgãos do sistema digestivo. No entanto, os primeiros sinais de deficiência são marcados pela perda do apetite, diminuição da taxa de crescimento, fraqueza, desordens do sistema digestório acompanhadas de diarreia.

A deficiência de niacina já foi por inúmeras vezes observada tanto nas aves quanto no homem, particularmente quando o milho é a base da alimentação, o qual é deficiente em niacina disponível e em seu precursor natural, que é o triptofano.

Ruiz & Harms (1987) demonstraram que frangos de corte de três a sete semanas não revelaram melhora no desempenho quando da adição de niacina à ração a base de milho e farelo de soja. Por outro lado, Waldroup *et al.* (1985) relataram uma resposta positiva no desempenho quando da adição de 33 e 66ppm de niacina.

Segundo Scott *et al.* (1982), frangos alimentados com rações deficientes em triptofano e sem a adição de niacina revelam um engrossamento da articulação tibiotarso, arqueamento das pernas, mau empenamento e dermatite escamosa dos pés e cabeça. Um sintoma muito parecido com a perose pode ser observado, porém, diferencia-se pelo não deslocamento do tendão de Aquiles do côndilo, o que ocorre na deficiência por colina e/ou manganês.

Quando a deficiência de niacina atinge a mucosa bucal, ela se torna hemorrágica e a esse quadro dá-se o nome de “língua preta”.

Em galinhas de postura e reprodutoras, a deficiência de niacina resulta em diminuição da taxa de postura e eclodibilidade dos ovos.

A exigência de niacina está em torno de 20 a 30ppm, porém, os nutricionistas sempre formulam suas rações com certa margem de segurança em virtude da importância dessa vitamina no metabolismo. Apesar de a niacina ser sintetizada a partir do triptofano, é economicamente impossível a adição do aminoácido para essa finalidade.

- **Tratamento da deficiência**

Suplementar uma ração deficiente com o requerimento do ácido nicotínico tem pequeno ou quase nenhum efeito, nos casos que progrediram para a condrodistrofia ou em casos de engrossamento da articulação tibiotarso de perus adultos. A suplementação em excesso deve ser evitada, já que níveis acima de 0,75% causam decréscimo na espessura e resistência óssea (Johnson *et al.*, 1995).

- **Ácido Pantotênico**

O ácido pantotênico é um componente extremamente importante como constituinte da acetil coenzima A. Esta, por sua vez, constitui-se em ponto central do metabolismo. No processo de  $\beta$ -oxidação das gorduras, o produto final é a acetil CoA, e o mesmo ocorre na degradação de vários

aminoácidos e no metabolismo dos carboidratos. Após a síntese de acetil CoA, essa se adentra ao ciclo dos ácidos tricarboxílicos para gerar energia.

A acetil CoA é ainda precursora do colesterol e outros esteróis, atuando na síntese da acetilcolina, muito importante na sinapse nervosa.

Segundo Scott *et al.* (1982), as lesões causadas pela deficiência de ácido pantotênico se restringem ao sistema nervoso, córtex da adrenal e pele.

Em pintos, a deficiência de ácido pantotênico resulta em diminuição na taxa de ganho de peso, piora na conversão alimentar e subdesenvolvimento das penas. Em seguida, começam a aparecer sinais de lesões na pele, na região interdigital, base do bico e ao redor dos olhos. Quando a pálpebra é atingida, observa-se um intenso lacrimejamento, podendo ocorrer uma multiplicação bacteriana secundária, levando a ave à cegueira.

É importante diferenciar a dermatite causada pela deficiência de ácido pantotênico daquela causada por deficiência de biotina. No caso do ácido pantotênico, a dermatite se inicia ao redor do bico e dos olhos. Por outro lado, no caso da biotina, a lesão se inicia na planta dos pés.

Os achados de Beer *et al.* (1963), trabalhando com galinhas Leghorn, revelaram que a produção de ovos não foi afetada quando as aves receberam a ração contendo 1,9ppm da vitamina, porém para máxima eclodibilidade a exigência foi de 9,0ppm.

Segundo Scott *et al.* (1982), em casos de deficiência de ácido pantotênico, sua concentração no fígado é reduzida e o mesmo se mostra hipertrofiado e de coloração amarela, com sinais evidentes de esteatose. Além disso, todos os segmentos das fibras nervosas mostram-se com sinais evidentes de desmielinização.

Em peruas reprodutoras, Dawson *et al.* (1962) reportaram que na deficiência de ácido pantotênico seus ovos resultam em alta mortalidade embrionária durante a primeira semana de desenvolvimento. Após 17 dias de incubação, os embriões sobreviventes eram muito pequenos, com sinais de edema generalizado, fígado gorduroso e dilatação cardíaca.

A exigência de ácido pantotênico para frangos de corte, galinhas de postura e reprodutoras é em torno de 12ppm e os nutricionistas costumam adicionar essa quantidade, independentemente daquela fornecida pelas matérias primas que constituem a ração.

- **Tratamento da deficiência**

A deficiência de ácido pantotênico parece ser completamente reversível, se não muito avançada, pelo tratamento oral ou pela injeção com a vitamina, seguida pela restauração de um nível adequado na dieta.

- **Biotina**

Como a maioria das vitaminas hidrossolúveis, a biotina também assume importante papel no metabolismo dos carboidratos, gorduras e proteínas. Ela está envolvida na síntese de aminoácidos essenciais a partir do esqueleto de carbono e na síntese de gordura corporal.

Quando o consumo de carboidratos está abaixo da exigência de manutenção, a biotina é a principal responsável pela manutenção da glicose sangüínea.

A biotina serve como um grupo prostético em grande número de enzimas envolvidas na remoção de grupamentos carboxílicos. Assim, as reações de fixação de dióxido de carbono e de descarboxilação dependem da sua presença. Dentre suas principais funções, podem-se citar: carboxilação do ácido pirúvico para a síntese do ácido oxaloacético, conversão do ácido málico a ácido pirúvico, interconversão entre o ácido succínico e ácido propriônico e a conversão do ácido oxalosuccínico para  $\alpha$ -cetoglutárico. Além de importante nos processos de transcarboxilação na degradação de vários aminoácidos, a biotina atua também nas reações de deaminação e síntese dos ácidos nucléicos.

Na síntese das gorduras, ela participa como co-fator no primeiro passo de síntese, quando a acetil CoA carboxilase catalisa a adição de  $\text{CO}_2$  à acetil CoA para formar o malonil CoA. É importante para as funções normais da glândula tireóide, sistemas reprodutor e nervoso.

Da mesma forma, como descrito para o ácido pantotênico, a biotina é uma das responsáveis pela integridade da pele, já que sua deficiência resulta sempre em casos de dermatite em todos os animais, principalmente em aves. A espécie mais susceptível talvez seja o peru e são inúmeros os achados de dermatite nessas aves encontrados na literatura.

Segundo o NRC (1994), a deficiência de biotina em frangos e perus, manifesta-se das mais diferentes formas, com variações no tempo de aparecimento dos sinais clínicos. Em ambas as espécies é observada redução na taxa de ganho de peso e piora na conversão alimentar, distúrbios de empenamento, dermatite e deformação das pernas e bico. Quando do aparecimento da dermatite, essa se dá inicialmente na planta dos pés, que se apresenta com erosões, pele escamosa e calosidades, com presença de hemorragias. Nos locais afetados, não raro observa-se a invasão de bactérias patogênicas como infecção secundária. Com o passar do tempo, podem-se observar lesões ao redor do bico e dos olhos.

Em geral, as lesões causadas pela deficiência de ácido pantotênico e biotina são muito semelhantes. No entanto, na deficiência de biotina as lesões ocorrem inicialmente nos pés e por último ao redor do bico e dos olhos, enquanto que na deficiência de ácido pantotênico, os sinais se iniciam ao redor do bico e dos olhos e finalmente aparecem nos pés. Já que se torna difícil diferenciar os sinais de deficiência de biotina e de ácido pantotênico, é de fundamental importância o exame detalhado da composição da ração além de ter o bom senso de verificar o curso da enfermidade desde o aparecimento dos primeiros sintomas.

Os trabalhos de Bain & Newbrey (1988) mostraram que grande parte das desordens de articulação, principalmente da tibiotarso, estão associadas à deficiência de biotina. Assim, a condrodistrofia causada pela deficiência de biotina pode resultar em diminuição do metatarso e o aparecimento da perose.

Em galinhas de postura, a deficiência de biotina resulta em diminuição drástica da produção e eclodibilidade dos ovos. Os sinais clínicos e condições associadas à deficiência de biotina em embriões e pintos recém nascidos incluem: mortalidade embrionária, deformação óssea (perose), fibrilação muscular, desenvolvimento anormal das cartilagens, bico mal formado e redução do

tamanho corporal.

Ferguson *et al.* (1961) reportou que em perus, a mortalidade embrionária pode ser total, dependendo do grau de deficiência das reprodutoras.

A biotina é uma vitamina sempre adicionada nas rações das aves.

- **Tratamento da deficiência**

Patrick *et al.* (1941) e Jukes & Bird (1942) relataram que, a injeção ou a administração oral, de alguns microgramas de biotina foi suficiente para impedir os sinais da deficiência nos pintos e em perus jovens.

- **Ácido Fólico (Folacina)**

O ácido fólico é essencial ao metabolismo dos compostos monocarbonados, além de ser co-substrato para enzimas em muitas reações no metabolismo dos aminoácidos e nucleotídeos. É extremamente importante como co-fator nas reações de transferência do radical metil. O carbono originado provém primariamente do metabolismo de aminoácidos e é usado na síntese de outros aminoácidos e das bases purinas e pirimidínicas.

A deficiência de folacina tem sido produzida experimentalmente em várias espécies animais, resultando em anemia megaloblástica e leucopenia. Os tecidos com rápida taxa de crescimento ou de regeneração, tais como ocorre com o tecido epitelial do trato gastrintestinal, epiderme e medula óssea, são primeiramente afetados.

As aves são mais susceptíveis à deficiência de folacina do que outros animais de interesse zootécnico, com sinais evidentes de anemia macrocítica. Além desse sinal, observa-se sempre uma diminuição na biossíntese de DNA e RNA levando a uma redução no número de células em divisão, resultando em inibição do crescimento, diminuição do apetite, mau empenamento, penas eriçadas, dermatite, perose, anemia, diarreia branca e má formação do bico das aves (Combs, 1992). Com a evolução da anemia, as cristas tornam-se amareladas e as membranas da mucosa da boca bastante pálidas.

Pesty *et al.* (1991) compararam dietas com e sem adição de ácido fólico para aves, e concluíram que de 0 a 18 dias, o crescimento dos frangos aumentou significativamente ( $P < 0,05$ ), com a suplementação de 1,52 mg/kg de folacina. Os eritrócitos das aves acometidas com a deficiência de folacina mostram-se aumentados de tamanho e com os núcleos menos densos.

Da mesma forma que o ferro, o cobre e a lisina, a folacina também é requerida para a normal pigmentação das penas.

Um nível inadequado de folacina na ração de galinhas reprodutoras resulta em diminuição drástica da eclodibilidade dos ovos e aumento da mortalidade embrionária. A mortalidade embrionária, segundo Froehli (1987), ocorre nos últimos dias de incubação. Os sinais mais evidentes de deficiência no embrião são os bicos deformados e curvatura da articulação tibiotársica.

Já está bem estabelecido que a exigência de folacina é maior para a eclodibilidade do que para a



produção de ovos. Os trabalhos clássicos de Pollard & Creek (1964), demonstraram que, histologicamente, as lesões causadas pela deficiência de folacina nos ossos e cartilagens, são diferentes daquelas causadas pelas deficiências de colina e manganês. A estrutura anormal da cartilagem hialina é encontrada nos casos de deficiência de folacina e a ossificação é retardada. Essas desordens não são encontradas nas deficiências de colina e manganês.

A exigência de folacina é afetada pelos níveis de colina na ração. Quando a ração contém quantidade adequada de colina, a exigência de folacina é bem menor.

Segundo Creek & Vasaitis (1963), o aumento do conteúdo protéico da ração resulta em elevação da incidência de perose quando o nível de folacina da ração é inadequado.

Os nutricionais tomam sempre a precaução de incluir mais folacina nas rações do que os níveis estabelecidos na literatura, já que suas funções são múltiplas e os sintomas de deficiência se confundem com aqueles causados pela deficiência de uma série de nutrientes, como o ácido pantotênico, biotina, cobre, ferro.

### Interrelação entre o ácido fólico e a colina

O ácido fólico tem um papel central no metabolismo do grupo metila. Young *et al.* (1955), observaram que quando uma dieta para pintinhos é deficiente em ácido fólico, um aumento no nível dietético de colina reduz, mas não impede completamente, a incidência e a severidade de condrodistrofia. Uma redução no crescimento foi observada nos pintinhos alimentados com uma dieta prática deficiente em ácido fólico e marginalmente deficiente em metionina e colina. A suplementação da dieta com ácido fólico ou metionina e colina estimulou o crescimento sob estas circunstâncias (Pesti *et al.*, 1991).

#### • Tratamento da deficiência

As necessidades orgânicas de colina são supridas pela alimentação e pelas vias metabólicas. A sua biossíntese requer uma série de reações que exigem a presença da metionina e também de cofatores, como a vitamina B<sub>12</sub> e o ácido fólico.

Uma única injeção intramuscular (IM) de 500 a 100µg do ácido fólico puro, responde com um pico de reticulócitos, dentro de quatro dias em pintinhos deficientes em ácido fólico, severamente afetados com anemia (Robertson *et al.*, 1947).

Os valores de hemoglobina e as taxas de crescimento retornam ao normal dentro de uma semana. A adição 500µg de ácido fólico por 100g de ração causou a recuperação comparável àquela obtida com a injeção da vitamina.

#### • Colina

A colina é encontrada tanto nas células vegetais como animais, fazendo parte principalmente da molécula de lecitina. Outra molécula também encontrada e que contém colina é a esfingomielina. Ambas as moléculas sofrem ação de enzimas digestivas do trato gastrintestinal, liberando a molécula de colina, a qual, por sua vez, se adentra à corrente circulatória via ducto torácico.

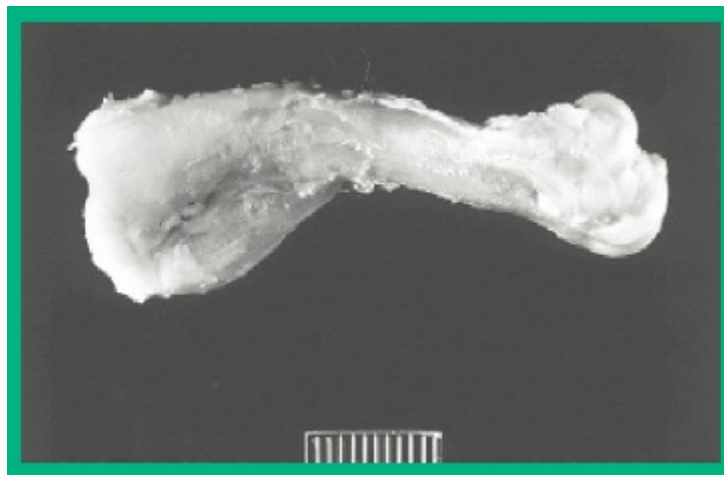
São inúmeras as funções da colina, devendo- se destacar entre elas: faz parte da estrutura da célula como integrante dos fosfolipídios fosfatidilcolina e esfingomiéline; previne o acúmulo de gordura na célula hepática, razão pela qual a ela se atribui o fator lipotrópico; é essencial para formação da acetilcolina, um componente importante na transmissão dos impulsos nervosos; é uma fonte de grupamentos metílicos.

O primeiro sintoma de deficiência de colina é a diminuição na taxa de crescimento; em seguida, surge a perose (**Figura 16**) já em aves com 12 a 15 dias de idade. Essa perose se caracteriza inicialmente por pequenos pontos hemorrágicos na região tibiometatarso. Progressivamente, o tendão de Aquiles se desloca do cõndilo, ocorrendo um engrossamento da articulação e posterior arqueamento do metatarso, levando a ave à dificuldade em se locomover. Os trabalhos de Maynard *et al.* (1979) demonstraram que a colina é importante na prevenção da perose em virtude de a mesma ser requerida para a síntese dos fosfolipídios, os quais por sua vez, são importantes para a maturação da cartilagem óssea.



**Figura 16** - Deficiência de colina. Empenamento pobre, e os pés curtos, grossos e curvados, típicos de condrodistrofia, em frango de corte alimentado com ração deficiente em colina (Diseases of Poultry, 2003).

Todos os nutricionistas adicionam colina nas rações dos frangos de corte e de todas as aves em fase de crescimento. Por outro lado, admite-se que as aves adultas sintetizam suficientes quantidades de colina para atender o seu requerimento. No entanto, segundo o NRC (1994), a colina é necessária para a manutenção do tamanho do ovo de codornas. Ainda Tapia Romero *et al.* (1985), demonstraram que a adição de 500 mg de colina por tonelada de ração resultou em aumento no tamanho do ovo de galinhas poedeiras comerciais.



**Figura 17** - Deficiência de colina. Condrodistrofia e deformidade tibiometatársica de frango de corte alimentado com ração deficiente em colina (Diseases of Poultry, 2003).

Muito embora trabalhos demonstrem que poedeiras, após o pico de produção de ovos, não necessitam de colina adicional às dietas à base de milho e farelo de soja, os nutricionistas ainda adicionam a essas dietas, visando a prevenção da síndrome do fígado gorduroso.

A colina é comercializada como cloridrato de colina, que apresenta 50 ou 60% de colina.

- **Tratamento da deficiência**

Se a deficiência de colina for diagnosticada antes do aparecimento da condrodistrofia, ela poderá ser revertida com a simples suplementação da exigência da mesma na ração das aves. Após o aparecimento da perose, os danos são irreparáveis.

- **Vitamina C**

A vitamina C está presente sob duas formas: ácido ascórbico e ácido deidroascórbico. Normalmente é comercializada na sua forma reduzida, que é o ácido ascórbico.

As funções bioquímicas e fisiológicas da vitamina C foram bem descritas por Sanberlich (1984) e Jaffe (1984), como sendo de notável importância na biossíntese do colágeno, síntese e integridade do epitélio da mucosa e da parede dos vasos.

Os trabalhos de Chatterjee (1978), já demonstraram que a vitamina C exerce importante papel sobre a permeabilidade dos vasos, pois na sua deficiência ocorre um aumento da incidência de problemas periodontais.

As aves sintetizam a vitamina C a partir da glicose, cuja reação é mediada pela enzima L-gulonolactonoxidase. Por outro lado, muitos nutricionistas são adeptos do uso da vitamina C adicional às rações, principalmente das poedeiras criadas em situação de estresse calórico. Essa adição varia de 50 a 100 ppm e Marks (1975), propõe a adição de 50 a 60ppm nas rações de aves.

Ainda Pardue (1987), propõe a adição de vitamina C para pintos de um dia, pois sua síntese ainda é insuficiente para atender às exigências, principalmente quando as aves estiverem sujeitas a mudanças bruscas de temperatura, que ocorre desde o nascimento até o momento em que são

alojados. Por essa razão, são inúmeros os suplementos hidrossolúveis usados para pintinhos de um dia.

Existe uma controvérsia muito grande entre os diferentes autores no que diz respeito à suplementação de vitamina C na dieta das aves. Por essa razão, cabe ao nutricionista recomendar sua adição quando as aves são criadas em condições de estresse calórico.

Os diversos sinais de deficiência das principais vitaminas normalmente observados durante o desenvolvimento do embrião estão indicados na [Tabela 7](#).

**Tabela 7** - Sintomas comuns de deficiências de vitaminas no embrião.

Vitamina A

Mortalidade nas 48 horas de incubação com falhas no desenvolvimento do sistema circulatório, anormalidades de rins, olhos e esqueleto.

Vitamina D

Mortalidade aos 18 ou 19 dias de incubação com posições anormais, ossos moles e proeminência do bico superior.

Vitamina E

Mortalidade precoce de 84 a 96 horas de incubação com hemorragia e falha no sistema circulatório.

Vitamina K

Mortalidade aos 18 dias e na eclosão, com graus variados de hemorragia.

Tiamina

Alta mortalidade embrionária durante a eclosão e polineurite nos sobreviventes.

Riboflavina

Picos de mortalidade às 60 horas, 14 e 20 dias de incubação com maior mortalidade inicial quanto mais severa a deficiência. Alterações no desenvolvimento dos membros, bico, nanismo e defeitos na penugem do abdômen.

### Niacina

O embrião sintetiza suficiente niacina a partir do triptofano. Quando certos antagonistas são administrados durante a incubação, verifica-se má formação de ossos e bicos.

### Biotina

Alta taxa de mortalidade dos 19 aos 21 dias de incubação, embriões com bico de papagaio, condrodistrofia, várias deformidades do esqueleto e membrana entre os dedos.

### Ácido Pantotênico

Mortalidade ao redor de 14 dias de incubação, embora níveis marginais possam retardar o problema até o nascimento. Graus variáveis de hemorragia e edema subcutâneo.

### Piridoxina

Mortalidade embrionária precoce baseada em uso de antivítamina.

### Ácido Fólico

Mortalidade ao redor de 20 dias de incubação, sendo que o embrião geralmente parece normal, embora muitos apresentem curvatura tibiotársica, fusão de dedos e má formação da mandíbula.

### Vitamina B<sub>12</sub>

Mortalidade ao redor de 20 dias da incubação, atrofia de penas, edema, hemorragia, órgãos gordurosos e cabeça entre as coxas.

Adaptado NRC (1994).

Por outro lado, o impacto da omissão de algumas vitaminas da dieta de matrizes sobre a mortalidade embrionária pode ser verificado na [Tabela 8](#), assim como o impacto sobre a eclodibilidade de ovos férteis, conforme a [Tabela 9](#).

**Tabela 8** - Incidência e idade de embriões mortos a partir de ovos produzidos por matrizes alimentadas com dietas sem suplementos vitamínicos. (% de ovos férteis).

Semanas em Tratamento	Vitaminas omitidas da dieta controle											
	Nenhuma (controle)			Biotina			B <sub>12</sub>			E		
	I	INT	F**	I	INT	F	I	INT	F	I	INT	F
1	5	0	0	11	0	2	3	0	0	0	1	0
3	2	0	0	11	0	5	3	0	1	6	0	6
5	0	0	0	23*	1	5	10*	1	1	7	15*	6
7	2	0	2	15*	6*	5	4	21*	1	10	14*	4
13	9	0	2	33	1	3	0	39*	18	2	2	0
15 <sup>1</sup>	0	0	10	0	0	4	0	0	79*	0	0	25
17	1	3	0	7	2	0	0	50*	0	0	3	35
19	2	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	7
Semanas em Tratamento	Folacina			Niacina			Pantotenato			Riboflavina		
	I	INT	F**	I	INT	F	I	INT	F	I	INT	F
	1	2	0	0	4	0	0	6	0	0	4	0
3	5	0	2	13	0	0	18*	0	0	10	7*	24*
5	34*	20*	2	20*	8	4	19*	0	4	34*	31	5
7	24*	20*	19*	8*	20*	0	16*	36*	6	70*	24*	1
13	4	39*	2	7	25*	0	28	3	3	47*	36*	0
15 <sup>1</sup>	0	1	25	0	0	62*	12*	3	4	28*	16*	39
17	12	1	0	2	10	11	39*	4	0	7	5	16*
19	0	0	0	4	0	2	1	0	0	1	0	1

Leeson & Summers (1997). \* Significativamente diferente do controle dentro de cada grupo de idade (P< 0,05). \*\* I = 1-7 dias; INT = 8-14 dias; F= 15-21 dias; <sup>1</sup>Vitaminas reintroduzidas.

**Tabela 9** - Eclobilidade de ovos produzidos por reprodutoras em gaiolas alimentadas com dietas a base de milho e soja sem suplementos vitamínicos (% de ovos férteis).

Semana sem dieta	Vitaminas omitidas da dieta controle							
	Nenhuma (Controle)	Biotina	B <sub>12</sub>	E	Folacina	Niacina	Pantotenato	Riboflavina
1	95	86	97	97	97	96	94	95
3	97	83	95	84	89	87	81	55
5	98	63*	84	67	30*	61*	74*	19*
7	92	54*	61*	62*	19*	69	26*	1*
13	88	52	27*	95	38*	50	54	0*
15**	90	96	21*	75	70	38*	56	0*
17	95	90	50*	58*	85	61	40*	57*
19	97	99	99	92	99	98	97	96

Leeson & Summers (1997); \* Significativamente diferente do controle (P<0,05); \*\* Vitaminas reintroduzidas.

## Minerais

Os minerais são a parte inorgânica dos tecidos e alimentos. São classificados de acordo com a quantidade exigida na dieta em macrominerais (Ca, P, K, Na, Cl e S) e microminerais ou minerais traços (Cu, Zn, Fe, Mn, I, Mo, Se, Cr). Os macrominerais são exigidos em concentrações maiores que 100ppm e frequentemente são expressos como porcentagem da dieta, enquanto os microminerais são exigidos em concentrações menores que 100ppm e são expressos em ppm ou ppb, algumas vezes.

As exigências de minerais, assim como os requerimentos nutricionais, variam conforme a fase de criação em que as aves se encontram e normalmente são reduzidas com o avanço da idade dos frangos de corte. Esta tendência justifica estudos para determinar o que realmente é necessário ao melhor desenvolvimento animal, evitando a contaminação excessiva do ambiente e os custos adicionais com suplementação mineral inadequada.

Do total de minerais presentes no corpo, o cálcio representa cerca de 46% e o fósforo 29%. A soma do potássio, sódio, cloro e magnésio representa quase 25%, enquanto os microminerais constituem menos que 0,3% do total.

Segundo Underwood (1981), os minerais exercem três tipos de funções:

1. Como componentes estruturais de órgãos e tecidos.
2. Como constituintes dos fluidos corporais e dos tecidos envolvidos com a manutenção da pressão osmótica, balanço ácido-base, permeabilidade de membrana e irritabilidade dos tecidos.
3. Como catalisadores nos sistemas enzimático e hormonal, no papel de componentes integrais ou específicos da estrutura das metaloenzimas.

### • Cálcio

O cálcio é essencial na formação e manutenção óssea. Quantitativamente, essa é a função mais importante do cálcio, considerando que cerca de 99% desse elemento localiza-se nos ossos. Quando as aves estão em postura, uma parte considerável do cálcio da dieta é utilizada para a formação da casca dos ovos. Outras funções do cálcio incluem participações na coagulação sangüínea, ativador e estabilizador de enzimas, contração de músculos esquelético e cardíaco, permeabilidade de membranas, excitabilidade neuromuscular, segundo mensageiro em comunicações intracelulares, determinando o desempenho normal das aves.

A utilização tanto do cálcio como do fósforo depende da presença da vitamina D3 e a deficiência de ambos resulta em sintomas similares àqueles encontrados na deficiência da vitamina D3. Lesson *et al.* (1995) relatam que o raquitismo é uma das formas clássicas de debilidade das pernas, que ocorre em função de uma incomum desmineralização óssea, cuja causa definitiva é a deficiência do cálcio, embora essa condição possa também ser induzida por níveis inadequados de fósforo ou vitamina D3, conforme mencionado anteriormente. Os sinais característicos do raquitismo são ossos e bicos moles e flexíveis. Verifica-se com freqüência a presença de nódulos nas costelas na porção que se articula com as vértebras (rosário raquítico). Bains (1979) reporta que as aves apresentam ataxia e claudicação progressiva com tendência de permanecerem agachadas. As aves severamente afetadas aparentam caminhar com dor quando forçadas ao movimento. À medida que a condição progride, as penas tornam-se arrepiadas. Em lotes não tratados, observa-se que a morbidade pode alcançar 100% e a mortalidade 50%. Lesões macroscópicas, como engrossamento das placas de crescimento dos ossos longos e aumento da paratireóide, são freqüentemente encontradas.

O raquitismo pode ocorrer em qualquer idade, porém é mais comum em aves jovens (7 a 14 dias) e os peruzinhos são os mais susceptíveis. Segundo Lesson *et al.* (1995), o diagnóstico diferencial de raquitismo provocado por deficiência de cálcio, fósforo e vitamina D3 ou pelo excesso de cálcio (que induz a deficiência de fósforo) pode ser realizado com base nos níveis de fósforo sangüíneo e na atividade da paratireóide. As aves deficientes em cálcio normalmente apresentam hipocalcemia e hiperfosfatemia, enquanto que na deficiência de vitamina D3 o quadro é de hipocalcemia e hipofosfatemia. A paratireóide estará hiperplásica nas deficiências de cálcio e vitamina D3 e atrofiada na deficiência de fósforo.

Outra condição relacionada com a deficiência de cálcio e imobilidade dentro do ambiente da gaiola é a “fadiga de gaiola” ou “fadiga da galinha em gaiola”.

A fadiga de gaiola é uma síndrome associada com galinhas alojadas em gaiolas e ao que parece,

uma alta produção de ovos consiste em fator desencadeante. As galinhas apresentam dificuldade de permanecerem em pé e normalmente se posicionam na parte traseira da gaiola, dificultando sua alimentação.

Atualmente, a incidência de 0,5% é considerada problemática e a fase mais crítica é durante ou logo após o pico de postura. As aves mortas podem estar desidratadas e edemaciadas. As costelas podem apresentar engrossamento e deformidades, sendo que a lesão mais característica é a redução da densidade dos ossos medular e longo, tornando-os delgados e quebradiços. A paralisia da ave normalmente ocorre em função da fratura da quarta ou quinta vértebra torácica causando compressão e degeneração da medula espinhal. Quando as aves são alimentadas com níveis adequados de cálcio, fósforo e vitamina D3, permanecendo ou não nas gaiolas, a recuperação se dará em duas ou três semanas. Por outro lado, a resistência óssea de galinhas na fase final da vida produtiva tem sido objeto de preocupação de vários pesquisadores.

### Excesso de cálcio

O excesso de cálcio na ração prejudica a disponibilidade de outros minerais (Leske & Coon, 1999), além de afetar negativamente a ação da fitase. Normalmente, não há preocupação dos nutricionistas com o excesso de cálcio na ração em virtude do seu baixo custo e por não apresentar toxicidade, embora alguns trabalhos de pesquisa, como os de Edwards Jr. & Veltmann (1983), Shafey (1993) e Sebastian *et al.* (1997) enfatizem seu efeito adverso sobre o desempenho, principalmente na fase inicial de criação.

Shane *et al.* (1969) alimentando poedeiras Leghorn com rações contendo 3,0% Ca e 0,4% P, durante 8 a 20 semanas de idade, encontraram nefrose e a deposição de urato visceral, nas aves que receberam a ração suplementada com excesso de Ca, às 16 semanas de idade. Wideman *et al.* (1985) forneceram níveis elevados (3,25%) ou adequados (1,0%) de Ca em combinação com nível moderado (0,6%) ou baixo (0,4%) de fósforo disponível durante 7 a 18 semanas de idade de poedeiras comerciais. Todas as aves receberam uma dieta comercial durante o período de postura. As aves que receberam as rações suplementadas com 3,25% de Ca, desenvolveram uma alta incidência de urolitíase na 18ª semana de idade, que persistiram ou aumentaram no período de postura às 51 semanas da idade. Os baixos níveis do fósforo dietético exacerbaram o efeito do excesso de cálcio.

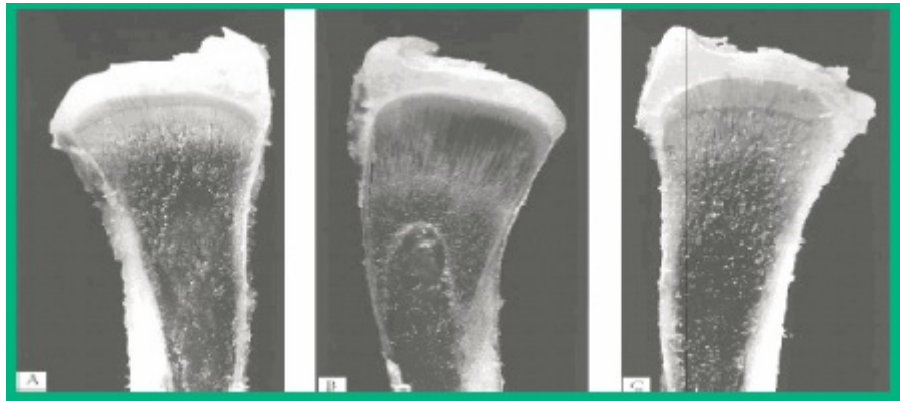
### • Fósforo

O fósforo é o segundo mineral mais abundante encontrado no organismo das aves, sendo que da sua totalidade, cerca de 80 a 85% localiza-se nos ossos e dentes. A relação Ca:P nos ossos é praticamente constante e ligeiramente maior que 2:1. O restante do fósforo corporal encontra-se localizado especialmente nas hemácias e tecidos muscular e nervoso.

O fósforo está envolvido praticamente em todas as reações metabólicas, participando do metabolismo das gorduras, carboidratos, proteínas e outros nutrientes. Entretanto, o fósforo se relaciona diretamente com o controle do apetite e da eficiência alimentar. Sendo o fósforo um componente dos ácidos nucleicos, DNA e RNA, ele se torna necessário para a transmissão genética.



Os sinais manifestados pela deficiência de fósforo são: a anorexia, fraqueza e morte dentro de 10 a 12 dias quando a deficiência é severa. O raquitismo e retardo no crescimento manifestam-se numa condição menos severa de deficiência. Uma característica importante que os pintinhos deficientes apresentam é a depravação do apetite.



**Figura 18** - Efeitos de deficiências de nutrientes na tíbia de frangos de corte (Diseases of Poultry, 2003). A. Dieta controle com níveis adequados de nutrientes. B. Deficiência de fósforo. Hipertrofia proeminente da zona larga do osso. C. Deficiência de cálcio/fósforo. Zona de proliferação dilatada.

Em poedeiras e reprodutoras, verifica-se decréscimo na produção de ovos, eclodibilidade e espessura da casca. Baixos níveis de fósforo (0,35% de P total) para poedeiras podem não prejudicar a qualidade da casca dos ovos, mas afeta negativamente as características de desempenho. Para maiores informações sobre os efeitos da deficiência do fósforo, consultar os tópicos referentes à vitamina D e cálcio.

### • Magnésio

O magnésio é um elemento mineral largamente distribuído na natureza. As principais fontes disponíveis para os animais estão nas formas de carbonato, dolomita, sulfatos, cloretos e óxidos. É essencial para o metabolismo de hidratos de carbono e para a ativação de muitas enzimas, especialmente aquelas envolvidos em reações de fosforilação. É essencial para a formação do osso e aproximadamente dois terços dele estão presentes no osso principalmente como um carbonato. A casca do ovo contém aproximadamente 0,4% de magnésio.

O organismo animal contém cerca de 0,05% de magnésio. Ao redor de 60% encontra-se no tecido esquelético, sendo que um terço deste está ligado a compostos fosfatados e, o restante, distribuído na superfície da estrutura óssea. Dos 40% do magnésio do organismo presente nos tecidos moles, somente 1% está nos fluidos extracelulares. O magnésio contido no tecido esquelético é importante para a integridade dos ossos e dentes e, nos tecidos moles, é essencial para a respiração celular e atividade neuromuscular. O seu papel mais importante é como ativador de enzimas envolvidas no metabolismo de energia.

Nos animais monogástricos (aves, suínos, coelhos, cavalos), o magnésio é absorvido principalmente no intestino delgado e a absorção parece ser mais eficiente na parte distal, ou seja, no íleo. O magnésio é excretado pela via urinária, e essa excreção está intimamente relacionada com o consumo do elemento, tanto nos ruminantes como nos monogástricos. O conteúdo de magnésio no

sangue usualmente oscila entre 1,2 a 3,8mg por 100ml e níveis abaixo de 2,0mg podem indicar problemas de deficiência. Muitas vezes, pode ocorrer do animal mesmo recebendo uma dieta com níveis satisfatórios de magnésio, apresentar deficiência do elemento devido a uma diminuição na taxa de absorção em virtude de problemas patológicos que venham a lesar a mucosa digestiva, sendo que o principal deles é a infestação parasitária.

Os sinais de deficiência de magnésio estão correlacionados com as suas funções fisiológicas. Desde que uma de suas funções importantes é na manutenção do sistema neuromuscular, os sintomas são manifestados através dos reflexos nervosos e anormalidades na contração muscular. Existe uma variação entre espécies quanto aos sinais clínicos de deficiência.

Em frangos alimentados com dieta deficiente em magnésio, a taxa de crescimento parece não ser afetada, porém a ave demonstra sintomas de irritabilidade e ocorre uma maior mortalidade, principalmente associada a problemas cardiovasculares. Já foi demonstrado ainda que produção e eclodibilidade dos ovos podem ser diminuídas quando a dieta contém níveis marginais de magnésio.

O magnésio é requerido por todos os animais, já que o mesmo participa de reações comuns no organismo. Por outro lado, a quantidade requerida é variável para cada espécie e dentro da mesma espécie.

Almquist (1942), observou que pintos alimentados com dieta deficiente em Mg cresceram lentamente por aproximadamente uma semana, quando cessaram seu crescimento e tornaram-se apáticos. Quando perturbadas estas aves passaram por breve convulsão acompanhada por dispnéia coma, terminando às vezes em morte.

A hipomagnesemia e hipocalcemia estão associados com a deficiência severa do magnésio em pintos. A tíbia tem decréscimo de magnésio e aumento do seu conteúdo de cálcio, apresentando anormalidades (Sullivan, 1964; Weaver & Welsh, 1993; Welsh *et al.*, 1981), incluindo engrossamento de trabécula, aumento da retenção de cartilagem e a ocorrência de osteócitos alongados e inativos nas metáfises, e a ampliação de canais de Haversian dentro das diáfises. A placa epifisária, entretanto, parece normal. A paratireóide parece hiperativa, talvez em resposta à hipocalcemia que é característica da deficiência do magnésio (Welsh *et al.*, 1981).

## Excesso de magnésio

É possível, entretanto, que sob determinadas circunstâncias as rações contenham magnésio em excesso, produzindo efeitos prejudiciais como redução na taxa de crescimento, redução do teor de cinzas nos ossos de pintos e redução no tamanho dos ovos. Podem ocorrer ovos de casca mole e diarreia nas galinhas (Chicco *et al.*, 1967; McWard, 1967; Stillmak & Sunde, 1971).

### • Sódio e Cloro (Sal comum)

O sódio é considerado o principal cátion monovalente do fluído extracelular, participando em aproximadamente 0,2% do corpo animal. O sódio desempenha um importante papel na transmissão de impulsos nervosos, na manutenção das contrações musculares e cardíaca, na absorção de água e de algumas vitaminas hidrossolúveis (riboflavina, tiamina e ácido ascórbico)

e, juntamente com o cloro e o potássio, mantém a pressão osmótica e regula o equilíbrio ácido-base.

A suplementação de sódio ( $\text{Na}^+$ ) e de cloro ( $\text{Cl}^-$ ) visa suprir as necessidades fisiológicas para obtenção de melhor desempenho zootécnico. Na maioria dos ingredientes para rações, o teor de sódio é mais baixo que o de cloro. Normalmente, as rações à base de milho e farelo de soja não atendem às exigências dietéticas de sódio, fazendo-se necessária fonte adicional. Diferentes fontes de suplementação de sódio podem ser utilizadas na alimentação de aves, dentre as quais, as mais comuns são o cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ : 39,7% de  $\text{Na}^+$ ) e o bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$  : 27,0%  $\text{Na}^+$ ).

Há uma grande variação nas recomendações de sódio e de cloro para frangos de corte. O NRC (1994) recomenda níveis de 0,20%, 0,15% e 0,12% de  $\text{NaCl}$  para os períodos de 0 a 3, 3 a 6 e 6 a 8 semanas de idade das aves, respectivamente. Em geral, as rações comerciais apresentam níveis de 0,30% a 0,40% de  $\text{NaCl}$ , fornecendo de 0,12 a 0,16 % de  $\text{Na}^+$ , mais, aproximadamente, 0,05% proveniente dos alimentos utilizados na formulação. Borges *et al.* (1998) concluíram que o aumento do  $\text{NaCl}$  na ração promoveu melhoria no ganho de peso, acompanhada de maior ingestão de água, resultando em cama mais úmida. A substituição do  $\text{NaCl}$  pelo  $\text{NaHCO}_3$  na ração, em até 30%, tem sido demonstrada como benéfica (Lesson & Summers, 1997). A utilização de  $\text{NaHCO}_3$  como alternativa de controle do estresse calórico resultou em melhor ganho de peso e conversão alimentar, porém não comprovado estatisticamente. Apesar disso, níveis elevados de  $\text{NaHCO}_3$  (1,0 e 1,5%) aumentaram a umidade da cama (Fischer da Silva & Flemming, 1990; Fischer da Silva *et al.*, 1994; Borges, 1997).

O requerimento de cloreto de sódio pelas poedeiras é primariamente um requerimento de sódio (Burns *et al.*, 1952; McDonald, 1962). Burns *et al.* (1952), usando como parâmetros a produção de ovos, eclodibilidade e peso corporal, sugeriram que o requerimento diário de sódio para poedeiras é de 0,76g/kg, podendo chegar a 1g/kg durante todo o ciclo de produção de ovos.

Níveis mais baixos que os descritos limitam a produção de ovos (McDonald, 1962; Whitehead & Shannon, 1974; Harms, 1991). Ainda Whitehead & Sharp (1976) mostraram que uma dieta contendo 0,038% de sódio pode ser usada para induzir a pausa quando a ave se encontra no final do ciclo de produção.

Segundo Leeson & Summers (2001), o requerimento de sódio por galinhas poedeiras é de 0,17% a 0,19% da dieta, e que acima de 0,35% de sódio as aves aumentam o consumo de água, e acima de 0,5% da dieta ocorre toxidez nas aves.

Deficiências de sódio na ração de galinhas em postura têm provocado grande redução no consumo de ração, na produção de ovos, no peso dos ovos e no peso corporal (Kuchinski *et al.*, 1997). Por outro lado, o consumo excessivo de água e o conseqüente aumento da umidade do esterco são causados pelo fornecimento excessivo de sódio, que em concentrações superiores às recomendadas pode tornar-se um problema extremamente sério (Hooge, 1999).

Choi & Han (1983) conduziram um experimento utilizando dois níveis de fósforo total dietético (0,30% e 0,75%) e três diferentes níveis de suplementação de sódio (0,35% de  $\text{NaCl}$ ; 1,40% de

NaCl e 0,35% de NaCl mais 1,50% de NaHCO<sub>3</sub>). Uma significativa ( $p < 0,05$ ) interação foi encontrada entre os níveis de fósforo e sódio. Assim, o mais alto nível de sódio, oriundo do cloreto de sódio ou do bicarbonato resultou em redução na taxa de produção de ovos, quando as aves se alimentaram com a dieta contendo a menor quantidade de fósforo; porém, essa taxa foi aumentada quando a dieta continha o mais alto nível de fósforo. A adição do bicarbonato de sódio à dieta, contendo 0,30% de fósforo total, resultou em decréscimo do consumo de ração. Não verificou-se nenhum efeito dos tratamentos sobre o peso do ovo e peso de suas cascas.

O trabalho de Miles & Harms (1982) indicou que a adição de bicarbonato de sódio na dieta resultou em decréscimo no conteúdo em fósforo plasmático e concomitante aumento na gravidade específica dos ovos. Por sua vez, Balnave & Maheereza (1997) mostraram que galinhas poedeiras submetidas a altas temperaturas melhoraram a qualidade da casca dos ovos, quando as aves tiveram acesso ao NaHCO<sub>3</sub>, durante o período de formação dos ovos.

Sauveur e Mongin (1978) afirmaram que a concentração ideal de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> não pode ser determinada independentemente, já que existe uma íntima correlação entre esses três íons, e que uma alteração da relação sódio/cloro pode provocar uma acidose ou alcalose metabólica (Cohen *et al.*, 1972).

Junqueira *et al.* (1984) conduziram três experimentos na tentativa de verificarem as interrelações entre o cloreto de sódio, bicarbonato de sódio, cálcio e fósforo na dieta de poedeiras comerciais. Os autores verificaram que as suplementações de 0,37% e 1,11% de cloreto de sódio nas dietas não afetaram o desempenho das aves, exceto a produção de ovos, que foram melhores quando as aves se alimentaram com dieta contendo 0,37% de cloreto de sódio. A adição de 1,60% de bicarbonato, em dietas que não continham cloreto de sódio, resultou na diminuição do desempenho das aves em todos os experimentos.

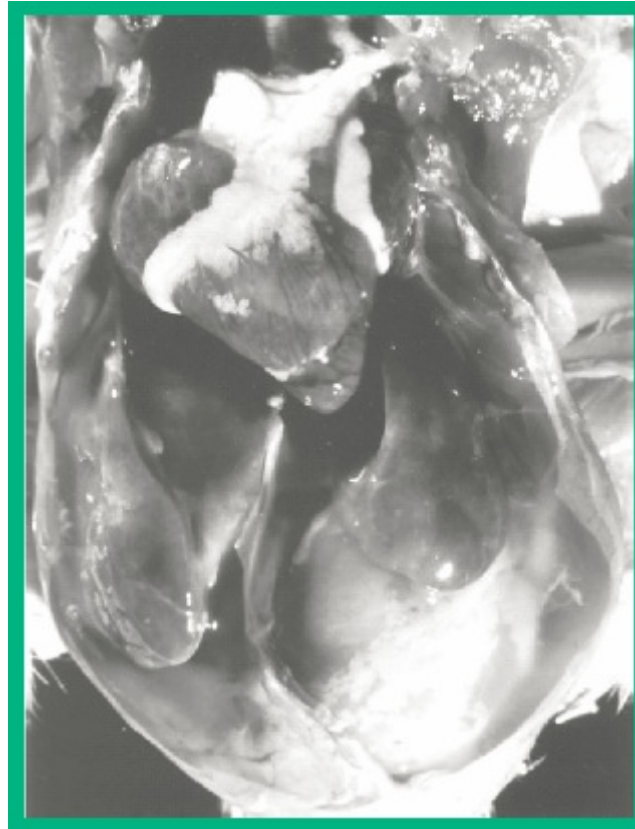
Uma alta taxa de mortalidade foi verificada quando as aves ingeriram rações com baixo conteúdo em cloro. Os conteúdos em fósforo e cálcio plasmáticos não foram afetados pelos níveis e fontes de sódio. O pH sanguíneo, excesso de base, bicarbonato e dióxido de carbono total foram significativamente aumentados quando as aves receberam as dietas contendo bicarbonato de sódio, sendo esses dados inversamente correlacionados com os níveis de fósforo dietético.

Os sinais de deficiência de sódio envolvem redução do crescimento, amolecimento dos ossos, queratinização da córnea, inatividade gonadal, hipertrofia das adrenais, comprometimento das funções celulares, redução na utilização da proteína e energia e diminuição do volume plasmático. Em poedeiras, a deficiência resulta em decréscimo ou cessação da postura, retardo no crescimento e canibalismo.

## Excesso de NaCl

Grandes quantidades de sal na ração são tóxicas às galinhas. A dose letal é aproximadamente 4g/kg de peso corporal. Os pintinhos parecem ser mais susceptíveis aos efeitos tóxicos do sal do que as aves adultas. Dentre os sinais de intoxicação estão: dificuldade de ficar em pé, sede intensa, fraqueza muscular pronunciada e os movimentos convulsivos que precedem à morte. Há lesões em muitos órgãos, particularmente hemorragias e congestão severa no trato gastrintestinal, nos músculos, no fígado, e nos pulmões. O excesso de sódio pode resultar em ascite, na

hipertrofia ventricular da direita, e na falha ventricular direita em frangos de corte. ([Figura 19](#)) (Julian, 1987; Wages *et al.*, 1995).



**Figura 19** - Excesso de sódio. Cardiomegalia, envolvendo principalmente o ventrículo direito, ascite e massas de fibrina na cavidade corporal e sobre a cápsula hepática (Swayne *et al.*, 1986).

Matterson *et al.* (1946) alimentaram aves jovens com diferentes quantidades de sal na ração durante 23 dias e encontraram, no nível de 4% da ração, 25% das aves com edema e mortalidade em torno de 205%, enquanto que no nível de 2% de sal na ração, essas alterações não foram observadas.

Swayne *et al.* (1986), entretanto, descreveram um exemplo do envenenamento acidental por sal em uma concentração de 1,85% da ração, em aves de 5 a 11 dias de idade. Os sinais incluíram a dificuldade de respirar, ascite, o hidropericárdio, o hidrotórax, e a morte súbita. Os níveis elevados do sal também causam a excreção de urina diluída e alta umidade de cama.

O cloro é o principal ânion do fluido extracelular e também é encontrado na secreção gástrica, onde o ácido clorídrico é importante na digestão das proteínas. É essencial para a ativação da amilase pancreática e grandes concentrações desse elemento são verificadas na bile, suco pancreático e secreções do intestino. Aves com deficiência de cloro manifestam crescimento lento, alta mortalidade, desidratação e sinais nervosos (uma forma de tetania), que estão associados com alcalose ([Figura 20](#)).



**Figura 20** - Sinal característico em ave com deficiência de cloro (Diseases of Poultry, 2003).

- **Potássio**

O potássio representa aproximadamente 0,3% da matéria seca do corpo e 2/3 encontra-se na pele e músculo. Em contraste com o sódio, principal eletrólito no plasma e fluido extracelular, o potássio está presente primariamente no interior da célula. O potássio é a principal base nos tecidos e células do sangue, tendo um papel importante no balanço ácido-base. Também é muito importante no transporte de oxigênio e dióxido de carbono, na transmissão de impulsos nervosos para as fibras musculares e na própria contratibilidade do músculo, além de participar como ativador ou cofator de vários sistemas enzimáticos.

A deficiência de potássio resulta em retardo no crescimento, alta mortalidade, queda na produção e peso de ovos e espessura da casca. Verifica-se também debilidade muscular, incluindo músculo cardíaco e da respiração, e tônus intestinal diminuído.

Em dietas práticas à base de milho e soja e suplementadas com sal comum, os níveis de sódio, cloro e potássio são normalmente atendidos. Atualmente, os nutricionistas mostram uma certa preocupação em estabelecer um balanço na dieta, visando o fornecimento adequado de cátions e ânions.

- **Equilíbrio de ácido-básico**

Os eletrólitos essenciais à manutenção do equilíbrio ácido-base são: sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ) e cloro ( $\text{Cl}^-$ ). Além das aves os exigirem em quantidades mínimas em sua alimentação, para satisfazer suas necessidades nutricionais, é importante que a proporção entre eles seja mantida. Da equação  $\text{Na} + \text{K} - \text{Cl}$ , que reflete a inter-relação entre esses minerais como o proposto por Mongin & Sauveur (1977) surgiu o “Número de MONGIN”, cujo valor expressa a quantidade e a relação entre estes eletrólitos. O valor calculado por esta fórmula, de 250mEq/kg ou 25mEq/100g de ração para frangos de corte é considerado ideal pelos autores.

A manutenção do equilíbrio ácido-básico tem grande importância fisiológica e bioquímica, visto que as atividades das enzimas celulares, as trocas eletrolíticas e a manutenção do estado estrutural das proteínas dos organismos são profundamente influenciadas por pequenas alterações no pH sanguíneo (Macari *et al.*, 1994).

Modificações na concentração do íon hidrogênio, em relação ao valor normal, podem causar acentuadas mudanças na velocidade das reações químicas das células, algumas reduzidas, outras aceleradas. Problemas como a má qualidade da casca do ovo, a má adaptação ao estresse térmico, o baixo desempenho dos animais, o antagonismo lisina-arginina e a discondroplasia tibial podem ser desencadeados ou piorados pelo desequilíbrio ácido-base nas aves. Os metabolismos protéico, energético, mineral e a regulação ácido-básico são processos interrelacionados que influenciam no desempenho das aves (Patience, 1990).

As rações animais não têm carga neutra, porém, todas as cargas negativas devem ser balanceadas com as positivas e a soma total dos eletrólitos fornecidos na ração tem influência direta na regulação do equilíbrio eletrolítico do animal. Estudos têm demonstrado que o sódio e o potássio possuem efeito alcalinizante nos fluídos corporais, o bicarbonato tem efeito tamponante e o cloro, efeito acidificante. Outras pesquisas têm revelado que o excesso de cloro pode ocasionar problemas nas pernas e nas articulações em aves de corte, além de prejudicar o desempenho das mesmas (Hooge, 1998).

Sauveur & Mongin (1978) demonstraram que a acidose metabólica, proveniente do excesso de cloro na dieta, aumentou a incidência de discondroplasia tibial e o excesso de sódio ou potássio diminuiu tal enfermidade. Nas aves com discondroplasia tibial, foi verificado baixo desempenho e redução da conversão de 25-hidroxicolecalciferol para 1,25 dihidroxicolecalciferol, sendo que este efeito no metabolismo da vitamina D pode estar envolvido com desordens do tecido ósseo. Segundo Mongin (1981), para frangos de corte, devem ser usados, simultaneamente, balanço eletrolítico de 250mEq/kg e relação (K + Cl)/Na maior que 1. Segundo Meschy (1999), o balanço eletrolítico depende, principalmente, do conteúdo de proteína e do tipo de suplementação de Na utilizado, em decorrência da produção de íons provenientes do metabolismo dos aminoácidos e da utilização de bicarbonato na ureogênese. Esse autor ainda destaca que a redução do nível protéico da dieta seria desejável para evitar a perda de nitrogênio que causa impacto ambiental.

- **Manganês**

O manganês participa da ativação de várias enzimas e é essencial para o desenvolvimento da matriz orgânica dos ossos, atividade reprodutiva, metabolismo dos lipídios e carboidratos, sistema imune, integridade celular e função cerebral, e sua deficiência pode provocar anormalidades nas pernas e nos dedos, além de incidência de perose.

A perose é freqüentemente observada em aves com deficiência de manganês e trata-se de uma má formação dos ossos, caracterizada pelo aumento da articulação tibiometatarsica, curvamento da tíbia e metatarso, encurtamento e espessamento de ossos longos e deslocamento do tendão de Aquiles (gastrocnêmio) de seu côndilo. Essa condição pode ser uni ou bilateral e as deficiências de colina, biotina e de algumas vitaminas do complexo B estão envolvidas na indução de perose, a qual pode ser severamente agravada por alta ingestão de cálcio e fósforo. A perose dificulta a locomoção da ave.

A deficiência de manganês na dieta de matrizes causa uma condição no embrião conhecida como condrodistrofia nutricional, caracterizada por alta mortalidade, edema, comprometimento ósseo e do crescimento. Tanto em poedeiras como em matrizes, verifica-se queda na produção de ovos,

decréscimo na eclodibilidade, aumento na incidência de ovo com casca fina e sem casca por comprometimento da estrutura da casca. Em aves jovens, ocorrem manifestações nervosas como ataxia, caracterizada pela postura de olhar fixamente para cima (olhar para as estrelas), semelhante ao observado na deficiência de tiamina.

A exigência nutricional de manganês suplementar para frangos de corte, segundo o NRC (1994) é de 60ppm e, de acordo com Rostagno *et al.* (2000), de 70ppm.

- **Zinco**

O zinco é componente de algumas metaloenzimas tais como superóxido-dismutase, anidrase carbônica, álcool-desidrogenase, carboxipeptidase, fosfatase alcalina, DNA e RNA polimerases, com efeitos nos metabolismos dos carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (NRC, 2001), interage com hormônios, atua no metabolismo protéico, sistema imune, balanço hídrico e de cátions, integridade da pele, metabolismo da vitamina A, comportamento, entre outras funções.

De acordo com McDonald *et al.* (2002), o elemento está presente em mais de setenta enzimas. O local de absorção de zinco em animais monogástricos é o intestino delgado (Underwood & Suttle, 1999) e nos ruminantes é no rúmen (NRC, 2001). A principal via de excreção é pelo fígado através das fezes, com pequenas quantidades eliminadas pela urina, onde a quantidade de zinco endógeno excretada pelas fezes é influenciada pelas necessidades do animal (McDowell, 1992). A principal forma de armazenamento do zinco é como metalotioneína no fígado. Sua síntese é induzida pela presença do elemento no fígado (McDowell, 1992).

Para se verificar a deficiência deste mineral pode ser usada a determinação de sua concentração no plasma, ou pelo indicador alternativo, nesse caso a metalotioneína, proteína sintetizada pelo fígado que se une ao zinco (González & Silva, 2003).

Atualmente a pesquisa em torno do zinco se baseia nas fontes que ele possa ser fornecido. A principal questão seria na comparação entre a forma orgânica e a inorgânica, onde se alega que a forma carboquelatada proporcionaria maior disponibilidade do elemento. Rossi *et al.* (2004) constataram que a firmeza e a qualidade da pele de frangos de corte foram melhoradas com a adição de zinco orgânico na dieta, porém o desempenho das aves não foi afetado.

## Funções do zinco

O zinco tem função relacionada em sistemas enzimáticos envolvidos com o metabolismo dos ácidos nucleicos, síntese de proteínas e metabolismo de carboidratos. Em tecidos com rápido crescimento, a deficiência de zinco reduz a síntese de DNA e RNA impedindo a divisão e o crescimento celular.

As proteínas contendo zinco estão envolvidas na transcrição e translação do material genético (McDowell, 1992). Underwood & Suttle (1999) citam a função do zinco na constituição da carboxipeptidase, que é responsável pela hidrólise de aminoácidos C-terminal de peptídeos. O zinco é componente da timosina, hormônio produzido pelas células do timo que regula as células imunomediadas (NRC, 2001).



O zinco participa na produção, armazenagem e secreção de hormônios, bem como ativador de receptores e resposta de órgãos. Entre os principais efeitos do zinco na produção e secreção de hormônios estão relacionados com a testosterona, insulina e corticóides da adrenal (McDowell, 1992). É constituinte da anidrase carbônica, atuando no equilíbrio ácido-base. A reação se dá pela captação do  $\text{CO}_2$  e sua posterior liberação na forma de  $\text{HCO}_3^-$ .

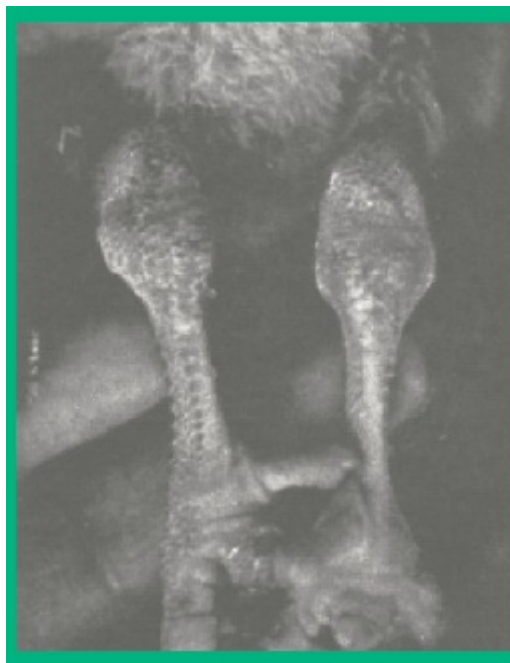
### Interações do zinco com outros elementos

A absorção do zinco pode ser afetada pela interação exercida por outros elementos como cálcio, cobre e ferro. Porém, a sua absorção pode ser favorecida pelo magnésio, fosfatos e vitamina D (McDowell, 1992). Van Soest (1994) comenta do possível aumento da indisponibilidade do zinco por altas quantidades de fitato no alimento. O autor cita que tal fato pode ser causa da deficiência em não-ruminantes, pois o fitato se liga ao mineral tornando-o indisponível. O que provavelmente não ocorreria em ruminantes e outros animais com fermentação pré-gástrica, onde ocorreria decomposição desse complexo, liberando o zinco para absorção. Porém, González & Silva (2003) considera que a deficiência por complexação com fitatos, possa ocorrer em ambos.

### Sinais de deficiência de zinco

A maioria dos sinais clínicos, apresentados pelos animais com deficiência de zinco estão intimamente relacionados com a função deste elemento nas DNA e RNA polimerases e seu papel na replicação e diferenciação celular.

Em aves, a deficiência de zinco atrasa o crescimento, promove falhas no empenamento com locais sem penas ou com penas arrepiadas, os ossos longos das pernas e asas estão mais curtos e mais espessos que o normal, podendo a articulação estar aumentada de volume. Essas anormalidades nas pernas são conhecidas por “Síndrome do jarrete inchado” ([Figura 21](#)). Também ocorre perda de apetite, reduzida eficiência alimentar e em casos severos, morte. Observam-se severas lesões na pele com dermatite nos pés, pernas e ao redor dos bicos. A pele das aves evidencia hiperqueratose e espessamento da epiderme. A queratinização frequentemente atinge o folículo da pena, resultando em atrofia e fibrose. Dietas de poedeiras e matrizes deficientes em zinco resultam em queda na produção de ovos e na taxa de eclosão.



**Figura 21** - “Síndrome do jarrete inchado” em aves alimentada com ração deficiente em zinco (Diseases of Poultry, 2003).

- **Iodo**

O iodo é o único entre os minerais traço que é constituinte dos hormônios da tireóide, tiroxina e triiodotironina. A tiroxina contém aproximadamente 65% de iodo. Os hormônios da tireóide desempenham um papel ativo na termorregulação, metabolismo intermediário, reprodução, crescimento e desenvolvimento, circulação, função muscular e controle da taxa de oxidação de todas as células.

A deficiência de iodo resulta em bócio, que é o aumento da glândula tireóide em muitas vezes o seu tamanho normal. Se a deficiência não for tão severa, a captura do iodo da corrente sanguínea pode compensar a baixa concentração do elemento na dieta. Quando isso ocorre, a produção dos hormônios da tireóide é normal, embora as glândulas estejam aumentadas de volume. Por outro lado, a produção insuficiente desses hormônios resulta em redução do crescimento, produção e tamanho dos ovos. A deficiência na dieta de matrizes acarreta queda de eclodibilidade e aumento da tireóide no embrião. A deficiência de iodo aparece rapidamente quando se utiliza ingredientes que possuem fatores antinutricionais (substâncias goitrogênicas) nas rações, conforme McDowell (1992).

- **Ferro**

Conforme McDowell (1992), o ferro está presente em várias enzimas responsáveis pelo transporte de elétrons (citocromos), pela ativação do oxigênio (oxidases e oxigenases) e pelo transporte de oxigênio (hemoglobina e mioglobina). O sistema citocromo é uma série de reações nas quais ocorre a oxidação com produção de ATP e formação de água. O ferro da hemoglobina representa aproximadamente 60% do ferro total corporal, enquanto que o ferro da mioglobina representa somente de 3 a 7%.

Para pintinhos e peruzinhos, a deficiência de ferro resulta em anemia macrocítica hipocrômica. As aves deficientes terão taxas de crescimento reduzidas, assim como as concentrações de

hemoglobina e hematócrito. A pigmentação das penas não ocorre quando aves coloridas estão deficientes em ferro.

- **Cobre**

A mais importante deficiência de origem mineral depois do fósforo, talvez seja a de cobre. O desenvolvimento da deficiência desse elemento depende tanto da sua concentração na dieta como das concentrações dos antagonistas que interferem com a absorção e a subsequente utilização para os processos metabólicos (Vasquez *et al.*, 2001).

O fígado está dividido didaticamente em três formas de armazenagem do cobre:

**a** - é compartimento de estocagem temporária de cobre no fígado destinada à trocas com o sangue e excreção pela bile.

**b** - representa a estocagem temporária para incorporação na ceruloplasmina.

**c** - representa o compartimento de armazenagem por longo tempo.

O cobre está presente no sítio ativo de algumas enzimas que catalisam reações orgânicas oxidativas. O cobre proveniente dos alimentos apresenta pequena disponibilidade, ao redor de 4%, sendo que está intimamente ligado à forma química, na qual se encontra este microelemento e sua solubilidade (Ortolani, 2002).

O cobre é transportado do fígado para os órgãos periféricos pela ceruloplasmina, que atua como armazenadora e transportadora para manter a homeostase desse elemento (González & Silva, 2003). Aproximadamente 90% do cobre no plasma de mamíferos estão na forma de metaloproteínas como a ceruloplasmina, que o carrega para tecidos específicos (McDowell, 1992).

A ceruloplasmina (cobre mono amino oxidase, Cu-MAO) é uma fração alfa-2 globulina do sangue, em que cerca de 95% do cobre sérico encontra-se ligado. A ceruloplasmina contém três oligossacarídeos ligados por asparagina e oito sítios que ligam o  $\text{Cu}^+$  ou  $\text{Cu}^{2+}$ . Ajuda também na manutenção da homeostase do  $\text{Cu}^{2+}$  e serve no transporte de  $\text{Cu}^{2+}$  (Smith *et al.*, 1988). Para se detectar estados carenciais, González & Silva (2003) comentam que a determinação de ceruloplasmina plasmática ou da enzima superperóxido dismutase dos eritrócitos possuem uma alta correlação com os níveis sanguíneos de cobre.

O cobre atua, quando utilizado nas rações em concentração de 169ppm, como promotor do crescimento em frangos de corte (Fisher, 1973) e a 176ppm, com a finalidade de aumentar a produção de ovos (Griminger, 1977).

O cobre, em níveis supranutricionais nas dietas de frangos de corte, atua como promotor do crescimento (Morais *et al.*, 2001). Mas o que se torna importante seria o fato da contaminação ambiental pelo aumento de cobre excretado. Na Europa já se impôs limite à utilização de cobre em dieta de monogástricos.

## Funções do cobre

O cobre é componente de várias enzimas, como a citocromo oxidase, necessária para o transporte de elétrons durante a respiração aeróbica; lisil oxidase que catalisa a formação do colágeno e elastina; ceruloplasmina, que é essencial para absorção e transporte de ferro necessário para a síntese de hemoglobina; superóxido dismutase que protege as células dos efeitos tóxicos no metabolismo do oxigênio (NRC, 2001). É parte da citocromo-oxidase, enzima oxidase terminal na cadeia respiratória, que catalisa a redução de O<sub>2</sub> para água, passo essencial na respiração celular (McDowell, 1992). Por estar envolvido no mecanismo de oxidação, sua deficiência leva a transtornos no metabolismo oxidativo, podendo manifestar-se de múltiplas formas. (González & Silva, 2003).

Com a deficiência de cobre ocorre uma falha na formação de colágeno, onde atua a enzima lisil-oxidase, que contém cobre. Essa enzima permite a ligação cruzada entre fibras colágenas, onde essa ligação confere rigidez estrutural e elasticidade (McDowell, 1992). Sabe-se que, na deficiência de cobre, diminui a atividade da superóxido-dismutase, que é uma cupro-enzima que catalisa a dismutação de O<sub>2</sub> para H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que é o grupo oxidante que participa nas reações de defesa dos neutrófilos (Babior *et al.*, 1973).

### Sinais de deficiência de cobre

As principais manifestações de deficiência de cobre incluem anemia microcítica e hipocrômica, redução do volume corpuscular e concentração de hemoglobina, diarreia, desordens ósseas, nervosas e cardiovasculares, falhas reprodutivas, perda na pigmentação da pele (McDowell, 1992).

Normalmente, as aves se tornam severamente anêmicas. Há formação de aneurismas na parede da aorta em função da elastina estar defeituosa. Também ocorre aumento do coração, fragilidade e deformidade óssea e perose principalmente em perus jovens. Em galinhas, é possível verificar alta incidência de ovos sem casca ou com formato ou textura anormais. A pigmentação das penas coloridas estará reduzida.

### Excesso de cobre

Os níveis dietéticos excessivos de cobre foram relatados por causar anormalidades no ventrículo. Fisher *et al.* (1973), observaram que em dietas para frangos de corte os níveis de cobre dietéticos variando de 205-605 ppm, resultaram em um revestimento ventricular de espessura irregular e aumentada, cuja severidade da lesão aumentava com o nível de cobre na dieta.

Jackson (1977), Stevenson *et al.* (1983) e Gilbert *et al.* (1996) observaram que em aves alimentadas com dietas contendo valores elevados de cobre, ocorreu a diminuição do consumo de alimento e da produção de ovos. Jackson (1977) consignou que nas rações contendo 1.920mg/kg ocorreu parada completa da postura. Griminger (1977), por sua vez, constatou depressão da ingestão alimentar, peso vivo e postura e diminuição da espessura da casca do ovo em poedeiras submetidas a dietas contendo suplementação de sulfato de cobre de 0,2% (800 mg de cobre/kg de ração) ou mais. Gilbert *et al.* (1996), verificaram queda de 16% na produção de ovos de aves Leghorn, com 51 semanas de idade, que receberam dieta contendo 1.477ppm de cobre.

Pearce *et al.* (1983), observaram que o cobre, quando adicionado em níveis elevados na dieta, de

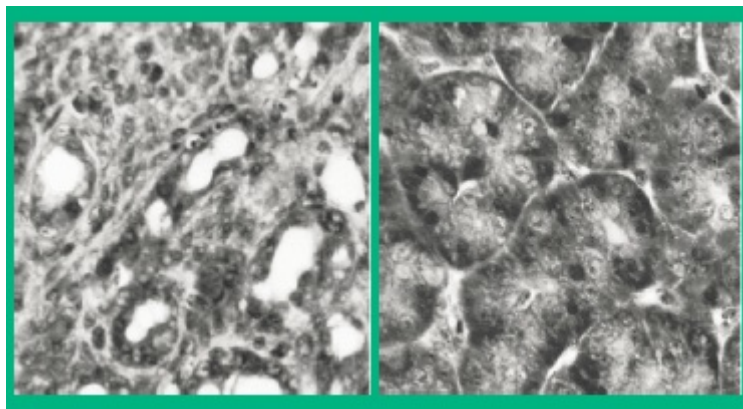
500 ou 1.000ppm, além de deprimir o consumo alimentar, também reduzia as concentrações dos lipídeos no sangue e no fígado. Jackson *et al.* (1977), observaram uma diminuição linear nos níveis de gordura hepática de galinhas submetidas a níveis crescentes de cobre, de 0 a 800ppm.

- **Selênio**

O selênio está intimamente ligado à vitamina E na proteção das membranas biológicas da degeneração oxidativa e com outros antioxidantes na formulação prática de dietas. O selênio é um constituinte essencial da enzima glutathiona peroxidase, a qual auxilia na proteção das membranas celular e subcelular contra danos oxidativos. A vitamina E atua como a primeira linha de defesa contra a peroxidação de fosfolipídios vitais. No entanto, mesmo com quantidades adequadas de vitamina E, alguns peróxidos são formados e o selênio, como segunda linha de defesa, destrói esses peróxidos antes de causarem danos nas membranas. A vitamina E, selênio e os aminoácidos sulfurados através de diferentes mecanismos bioquímicos previnem algumas doenças nutricionais. A vitamina E previne a formação de hidroperóxidos, os aminoácidos sulfurados são precursores da glutathiona peroxidase e o selênio é um componente da referida enzima. O selênio também participa de outros mecanismos bioquímicos.

A distrofia muscular nutricional caracteriza-se por distrofia do músculo esquelético, especialmente no peito (M. pectorales), que evidencia estriações brancas. Mortalidade embrionária na fase inicial de criação e diminuição da produção de ovos são sinais observados na deficiência de selênio. A distrofia ou fibrose pancreática resulta em redução na produção de enzimas digestivas como lipases, tripsinogênio e quimotripsinogênio. Em perus, o selênio também é importante na prevenção de miopatias da moela e coração.

A fibrose pancreática (**Figura 22**) em frangos de corte ocorre em pintos alimentados com dietas contendo baixos teores de Se (menos que 0,01 ppm). Os animais apresentam crescimento retardado e mau empenamento, com degeneração fibrótica do pâncreas, causando insuficiência pancreática e esteatorréia. A degeneração causa insuficiência pancreática severa, interfere na produção do suco pancreático e conseqüentemente na produção de lípases, afetando assim a absorção de vitamina E. A morte ocorre dentro de quatro semanas, sendo que a maior parte dos animais morre entre cinco e seis semanas.



**Figura 22** - Pâncreas de uma ave selênio-deficiente. Ácinos degenerados formando um lúmen central com fibrose intersticial extensa (esquerda). Controle (direita). x 250 (Diseases of Poultry, 2003).

A esteatite por sua vez, é causada por deficiência de vitamina E, antioxidantes sintéticos e presença de ácidos graxos polinsaturados. A carne exala odor a ranço e de peixe cozido. Caracteriza-se por peroxidação do tecido adiposo, com acúmulo de pigmentos de cor café-amarelada (Rutz, 2002).

Outros aspectos envolvendo a interação selênio e vitamina E foram abordados no tópico referente às vitaminas.

### Tratamento da deficiência

A diátese exsudativa, a distrofia pancreática e a distrofia muscular nutricional são doenças das galinhas causadas pela deficiência de selênio. As duas primeiras doenças podem ser prevenidas completamente pelo selênio da dieta, entretanto a distrofia muscular depende de níveis adequados de vitamina E ou de aminoácidos sulfurados para sua completa prevenção. A vitamina E também pode prevenir a ocorrência de diátese exsudativa, a qual é caracterizada pelo acúmulo de líquido particularmente no tecido subcutâneo das regiões peitoral e abdominal com poucos tecidos hemorrágicos. Em função da presença de sangue, as regiões afetadas apresentam coloração verde-azulado.

A adição de 0,1ppm selênio como  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  à dieta, causa regeneração acinar pancreática completa dentro de duas semanas e uma marcada recuperação clínica. Administrar  $15\mu\text{g}$  de selênio às aves com sinais de diátese exsudativa pode melhorar extremamente os sinais clínicos dentro de 6 dias (Bartholomew *et al.*, 1998).

Os níveis dietéticos elevados da vitamina E (15 a 20 vezes a quantidade necessária para a prevenção de outras doenças de deficiência da vitamina E) protegem da degeneração pancreática causado pela deficiência do selênio (Whitacre *et al.*, 1987.)

### Excesso de selênio

O selênio inorgânico em excesso interfere com o metabolismo do enxofre devido à formação de complexos do enxofre-selênio e à substituição do selênio pelo enxofre na cisteína.

O selênio orgânico em excesso, geralmente como selenometionina, é incorporado prontamente em proteínas porque o tRNA<sup>met</sup> não distingue a selenometionina da metionina e a selenometionina é incorporada prontamente em proteínas no lugar do metionina. Este desvio resulta no prejuízo da síntese protéica e na sua função danificada.

Ocorre uma diminuição na taxa de crescimento das aves alimentadas com 5mg de selênio/kg de ração (Todorovic *et al.*, 1999). Salyi *et al.* (1993) relataram uma incidência de diarreia aquosa, fraqueza, sonolência, edema cerebelar na intoxicação aguda por selênio em frangos de corte. As lesões hepáticas incluem a degeneração vacuolar, apoptose das células do sistema mononuclear fagocítico.

Na [Tabela 10](#), é possível verificar os principais efeitos da deficiência de alguns minerais sobre o desenvolvimento embrionário.

**Tabela 10** - Sintomas comuns de deficiências de minerais no embrião.

Manganês

Pico de mortalidade antes da eclosão. Embriões com condrodistrofia, nanismo, encurtamento dos ossos longos, má formação de cabeça, edema e empenamento anormal.

Zinco

Mortalidade antes da eclosão, depleção da coluna vertebral, olhos subdesenvolvidos e falta de membros.

Cobre

Mortalidade na fase inicial de incubação (3 dias) sem má formação.

Iodo

Aumento do tempo de incubação, redução do tamanho da tireóide e fechamento incompleto do abdômen.

Ferro

Baixo hematócrito e hemoglobina, circulação extra-embriônica pobre.

Selênio

Alta incidência de embriões mortos na fase inicial de incubação.

Cálcio e Fósforo

\* À medida que a deficiência materna progride, a mortalidade embrionária passa do estágio final de incubação para o inicial. Pernas curtas e grossas com mandíbula inferior mais curta, protuberância na parte frontal da cabeça, edema de pescoço e abdômen distendido.

Adaptado NRMC (1994); \* Leeson & Summers (1997).

## Considerações finais

Através da consulta das [Tabelas 11](#) e [12](#) puderam-se reunir vários subsídios que contribuem ao diagnóstico sugestivo de várias deficiências nutricionais.

**Tabela 11** - Sinais de deficiência em aves em crescimento, associados com vários nutrientes.

### Lesões de pele

- \* Formação de crostas ao redor dos olhos e bico (Biotina e Ácido Pantotênico) – galinhas e perus.
- \* Coxim plantar rugoso com calosidade e fissuras hemorrágicas (Biotina e Ácido Pantotênico) - galinhas e perus.
- \* Escamas sobre as patas (Zinco e Niacina) - galinhas.
- \* Lesões ao redor dos olhos, aderência de pálpebras (Vitamina A) – galinhas e perus.
- \* Inflamação da mucosa oral - língua preta - (Niacina) - galinhas e perus.

### Anormalidades no empenamento

- \* Crescimento desigual das penas, penas primárias anormalmente longas, penas não lisas (Deficiência de proteína ou desequilíbrio de aminoácidos) - galinhas e perus.
- \* Penas frisadas e rugosas (Zinco, Niacina, Ácido Pantotênico, Ácido Fólico e Lisina) – galinhas e perus.
- \* Pigmentação preta em variedades com penas vermelhas e marrons (Vitamina D) - galinhas.
- \* Despigmentação das penas (Cobre, Ferro e Ácido Fólico) - galinhas e perus.

### Sistema muscular

- \* Distrofia muscular, áreas brancas de degeneração em músculos esqueléticos (Vitamina E e Selênio) – Galinhas, perus e patos.
- \* Miopatia cardíaca (Vitamina E e Selênio) – perus.



\* Miopatia da moela (Vitamina E e Selênio) – perus.

## Diarréia

\* Niacina, Vitamina B2, Biotina - galinhas, perus e patos.

## Desordens ósseas

\* Ossos moles, bico e ossos se curvam facilmente (Deficiência ou desequilíbrio de Cálcio, Fósforo ou Vitamina D) - todas as aves.

\* Articulações aumentadas (Niacina, Zinco) - galinhas, perus, patos, gansos.

\* Perose (Biotina, Colina, Manganês, Zinco, Ácido Fólico, Vitamina B<sub>12</sub>) - galinhas e perus.

\* Ossos curvos (Niacina) - patos.

\* Encurtamento e engrossamento dos ossos da perna (Zinco, Manganês) - galinhas.

\* Dedos tortos (Vitamina B2) - galinhas.

Adaptado NRC (1994).

**Tabela 12** - Sinais de deficiência em aves em crescimento, associados com vários nutrientes.

#### Desordens nervosas

- \* Convulsões com retração da cabeça (Vitamina B<sub>1</sub>) - galinhas e pombas.
- \* Convulsões com hiperexcitabilidade (Vitamina B<sub>6</sub>) - galinhas, perus, patos.
- \* Hiperexcitabilidade (Magnésio, Cloreto de Sódio) - galinhas, perus e patos.
- \* Característica reação de susto com espasmos tetânicos (Cloro) - galinhas.
- \* Paralisia cervical, pescoço estendido e aves com aparência de olhar para baixo (Ácido Fólico) - perus.
- \* Paralisia dos dedos tortos, nervo ciático aumentado e nervo braquial com degeneração da mielina (Vitamina B<sub>2</sub>)  
- galinhas.
- \* Encefalomalácia, espasmos tetânicos com retração da cabeça, lesões hemorrágicas no cerebelo (Vitamina E) - galinhas.

#### Sistema sanguíneo e vascular

\* Anemia - Macroscítica (Vitamina B<sub>12</sub>) - todas as aves. Macroscítica, Hiperocrômica (Ácido Fólico) - todas as aves.

Microscítica, Hipocrômica (Ferro, Cobre) - todas as aves. Microscítica (Vitamina B<sub>6</sub>) - todas as aves.

No entanto, as informações contidas nas [Tabelas 13, 14 e 15](#) proporcionam plenas condições para um diagnóstico conclusivo das diferentes deficiências nutricionais. Contudo, os valores esperados para as medidas bioquímicas e fisiológicas podem ser verificados nas respectivas referências da literatura contidas no NRC (1994).

**Tabela 13** - Medidas bioquímicas e fisiológicas para o diagnóstico de deficiências nutricionais em galinhas e perus.

#### Cálcio

Cálcio sanguíneo em galinhas (em pintinhos, quando a deficiência é severa), proteína transportadora de cálcio intestinal (complicada pelos metabólitos da vitamina D<sub>3</sub> e fósforo).

Fósforo

Fósforo inorgânico no soro e proteína transportadora de cálcio renal.

Cloro

Alcalose, hemoconcentração.

Cobre

Ceruloplasmina plasmática, lisil oxidase na aorta, fígado, tendão e osso, e superóxido dismutase no eritrócito.

Iodo

T3 e T4 plasmáticos.

Ferro

Hematócrito, concentração de hemoglobina no sangue, saturação da transferrina e anemia com lipemia.

Magnésio

Concentração de magnésio no sangue.

Manganês

Condroitina sulfato no sangue, concentração de manganês no osso e superóxido dismutase.

Potássio

Potássio plasmático, ácidos e metabólica (complicada por sódio)

Sódio

Acidose metabólica (complicada por potássio).

<p>Selênio</p> <p>Glutationa peroxidase plasmática.</p>
<p>Zinco</p> <p>Zinco plasmático e ósseo, timidina quinase, fosfatase alcalina e collagenase no osso.</p>
<p>Adaptado NRC (1994).</p>

<p><b>Tabela 14</b> - Medidas bioquímicas e fisiológicas para o diagnóstico de deficiências nutricionais em galinhas e perus.</p>
<p>Histidina</p> <p>Redução da anserina e carnosina do músculo do peito.</p>
<p>Lisina</p> <p>Hematócrito e hemoglobina reduzidos.</p>
<p>Vitamina A</p> <p>A concentração de vitamina A no fígado é um indicativo de deficiência, o que não é válido para a vitamina A no sangue. As enzimas xantina desidrogenase hepática e arginase renal estarão aumentadas. Redução da glicogênio fosforilase no fígado e nos músculos vermelho e branco. A tireóide aumenta de tamanho e os níveis de T3 e T4 diminuem.</p>
<p>Vitamina D</p> <p>Proteína transportadora de cálcio intestinal, metabólito 1,25 (OH)<sub>2</sub> D3 contra 24,25 (OH)<sub>2</sub>D2 no soro (complicados pelo cálcio e fósforo da dieta), fosfatase alcalina plasmática, conteúdo fosfolipídico não proteolipídico da cartilagem raquílica.</p>
<p>Vitamina E</p> <p>Enzimas superóxido dismutase, glutâmico-oxaloacético transaminase e concentração da vitamina E no plasma e nos tecidos (todas estas medidas</p>

também são afetadas pelo selênio).

Vitamina K

Tempo de coagulação da protrombina plasmática.

Tiamina

Transcetolase nos eritrócitos e leucócitos e ácido pirúvico do plasma.

Riboflavina

Xantina desidrogenase hepática e glutatona redutase no eritrócito.

Niacina

Nível e relação dos produtos da excreção de niacina: N<sup>o</sup> metil nicotinamida e N<sup>o</sup> metil – 2 – piridona – 5 –

carboxiamida (não testado para galinhas).

Biotina

Piruvato carboxilase sangüínea e relação dos ácidos graxos C16:1 para C 18:0 no sangue.

Adaptado NRC (1994).

**Tabela 15** - Medidas bioquímicas e fisiológicas para o diagnóstico de deficiências nutricionais em galinhas e perus.

Ácido Pantotênico

Coenzima A hepática.

Piridoxina

Glutâmico – oxaloacético transaminase no soro, relação da glicina-serina para aspártico aminotransferase plasmática.

Folacina

Diidrofólico ácido redutase e serina hidroximetil transferase hepáticas.

Vitamina B<sub>12</sub>

Excreção do ácido metilmalônico e concentração da vitamina B<sub>12</sub> no sangue.

Colina

Fosfolipídios no soro.

Ácido Linoléico

Concentrações de linoleato, araquidonato e eicosatrienoato nos lipídios do sangue.

Adaptado NRC (1994).

## Bibliografia

Almquist HJ. Magnesium requirement of the chick. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 1942; 49:544-545.

Almquist HJ. Vitamin K group VI: Standardization of activity. In: Sebrell Jr WH, Harris RS, editors. The vitamins. New York: Academic Press.;1971 p.418, 1971.

Babior BM, Kipnes RS, Curnutte JT. Biological defense mechanisms. The production by

- leukocytes of superoxide, a potential bacterial agent. *Journal Clinical Investigation* 1973; 52:741-744.
- Bain SD, Newbrey JW. Biotin deficiency may alter tibiotarsal bone growth and modeling in broiler chicks. *Poultry Science* 1988; 67:590.
- Bains BS. A manual of poultry diseases. Basle (Switzerland): Editions Roche; 1979.
- Balnave D, Muheereza SK. Improving eggshell quality at high temperatures with dietary sodium bicarbonate. *Poultry Science* 1997; 76:588-593.
- Bar A, Hurwits S. The interaction between calcium and gonadal hormones in their effect on plasma calcium, bone 25- hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase, and duodenal calcium-binding protein, measured by radioimmunoassay in chicks. *Endocrinology* 1979; 104:1455-1460.
- Bar A, Striem S, Vax E, Talpaz H, Hurwitz S. Regulation of calbindin mRNA and calbindin turnover in intestine and shell gland of the chicken. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 1992; 262:800-805.
- Bartholomew A, Latshaw D, Swayne DE. Changes in blood chemistry, hematology, and histology caused by a selenium/ vitamin E deficiency and recovery in chicks. *Biological Trace Element Research* 1998; 62:7-16.
- Beer AE, Scott ML, Nesheim MC. The effects of graded levels of pantothenic acid on the breeding performance of white Leghorn pullets. *British Poultry Science* 1963; 4:243.
- Borges SA, Ariki A, Jerônimo Jr. R, Martins CL, Moraes VMB. Níveis de cloreto de sódio em rações para frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia* 1998; 50:619-624.
- Borges SA. Suplementação de cloreto de potássio e bicarbonato de sódio para frangos de corte durante o verão [dissertação]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1997.
- Bräunlich K. Vitamin B<sub>6</sub>. Basel, Switzerland: F. Hoffmann La Roche; 1974. Report, 1451.
- Burns CH, Gravens WW, Phillips PH. The requirement of breeding hens for sodium chloride. *Poultry Science* 1952; 31:302-306.
- Chan MM. Choline and carnitine. In: Machlin LJ, editor. *Handbook of vitamins*. New York: Marcel Dekker; 1984.
- Chatterjee GC. Nutrient deficiencies in animals: vitamin C. In: Rechcigl Jr M, editor. *Handbook series in nutrition and food, section E: Nutrition disorders*. Palm Beach: CRC Press; 1978. p.149.
- Chicco CF, Ammerman CB, Wallegghem PAV, Waldroup PW, Harms RH. Effects of varying dietary ratios of magnesium, calcium, and phosphorus in growing chicks. *Poultry Science* 1967; 46:368-373.

Choi JH, Han IK. Dietary interaction of phosphorus with sodium from either chloride or bicarbonate affects laying hen performance. *Poultry Science* 1983; 62:341- 344.

Coelho MB. Vitamin stability. *Feed Management* 1991; 42(10):24.

Cohen I, Hurwita S, Bar A. Acid-base balance and sodium to chloride ratio in diets of laying hens. *Journal of Nutrition* 1972; 102:1-8.

Coleman RA. *et al.* Determining individual amino acid requirements in poultry by the indicator amino acid oxidation technique: a review. Australian **Poultry Science** Symposium; 2004 feb. 10; Sydney, Australia.

Colnago GL, Jensen LS, Long PL. Effect of selenium and vitamin E on the development of immunity to coccidiosis in chickens. **Poultry Science** 1984; 63:1136.

Combs Jr. GF. The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health San Diego: Academic, 1992.

Combs Jr. GF. The Vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. San Diego (California): Academic Press; 1992.

Creek RD, Vasaitis V. The effect of excess dietary protein on the need for folic acid by the chick. **Poultry Science** 1963; 42:1136.

D'Mello JPF. Amino acids in farm animal nutrition. Wallingford: CAB International; 1994.

Daghir NJ, Haddad KS. Vitamin B<sub>6</sub> in the etiology of gizzard erosion in growing chickens. **Poultry Science** 1981; 60:988.

Dawson E, Ferguson TM, Deyoe CW, Couch JR. Pantothenic acid deficient turkey embryos. **Poultry Science** 1962; 41:1639.

De Luca, HF. The vitamin D system in the regulation of calcium and phosphorus metabolism. *Nutrition Review* 1979; 37:161.

Edwards Jr. HM, Veltmann Jr. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyscondroplasia in young chicks. *Journal of Nutrition* 1983; 113(8):1568-1575.

Faria DE. Avaliação de determinados fatores nutricionais e de alimentação sobre o desempenho e a qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais [tese]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1996.

Ferguson TM, Whitesid CH, Creger CR, Jones ML, Atkinson RL, Couch JRB. Vitamin deficiency in the mature turkey hen. **Poultry Science** 1961; 40:1151.

Fischer da Silva AV, Flemming JS, Franco SG. Utilização de diferentes sais na prevenção do estresse calórico de frangos de corte criados em clima quente. *Revista do Centro de Ciências Agrárias* 1994; 13:287-292.



- Fischer da Silva AV, Flemming JS. Interferência da temperatura no equilíbrio ácido-base em frangos de corte e sua resposta frente à suplementação com bicarbonato de sódio, cloreto de amônia e Stacidem. *Revista do Centro de Ciências Agrárias* 1990; 11:23-30.
- Fisher C, Laursen-Jones AP, Hill KJ, Hardy WS. The effect of copper sulphate on performance and the structure of the gizzard in broilers. *British Poultry Science* 1973; 14:55-68.
- Fisher C. Use of copper sulfate as a growth-promoter for broilers. *Feedstuffs* 1973; 45(16):24-5.
- Froehli DM. Importance of folic acid in turkey diets explored. *Feedstuffs* 1987; 59(17):26.
- Fuller HL, Kifer PE. The vitamin B<sub>6</sub> requirement of chicks. *Poultry Science* 1959; 38:255.
- Gilbert RW, Sander JE, Brown TP. Copper sulfate toxicosis in commercial laying hens. *Avian Diseases* 1996; 40:236-9.
- González FH, Silva SC. Introdução à bioquímica veterinária. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2003.
- Griminger P. Effect of copper sulfate on egg production and shell thickness. *Poultry Science* 1977; 56:359-61.
- Harms RH. Effecting of removing salt, sodium or chloride from the diet of commercial layers. *Poultry Science* 1991; 70: 333-336.
- Hill FW, Scott ML, Norris LC, Heuser GF. Reinvestigation of the vitamin A requirements of laying and breeding hens and their progeny. *Poultry Science* 1961; 40:1245.
- Hooge DM. A importância dos eletrólitos. *Avicultura Industrial* 1999; (1068):20-26. Hooge DM. Eletrolite balance in turkeys, layers examined. *Feedstuffs* 1998; 70:17-19.
- Hooper JH, Halpin JL, Fritz JC. The feeding of single massive doses of vitamin D to birds [abst]. *Poultry Science* 1942; 21: 472.
- Hy-Line Internacional. Hy-Line Variedade W-36: Guia de manejo comercial 2000-2001. Nova Granada: Hy-Line do Brasil; 2000-2001.
- Jackson N. The effect of dietary copper sulphate on laying performance, nutrient intake and tissue copper and iron levels of the mature, laying, domestic fowl. *British Journal of Nutrition* 1977; 38:93-100.
- Jaffe GM. Vitamin C. In: Machlin LJ, ed. *Handbook of vitamins*. New York: Marcel Dekker; 1984. p.199.
- Jensen LS. Vitamina A requirement of breeding turkeys. *Poultry Science* 1965; 44:1609.
- Johnson NE *et al.* Changes in dimensions and mechanical properties of bone in chicks fed high levels of niacin. *Food and Chemical Toxicology* 1995; 33:265-271.

Jukes TH, Bird FH. Prevention of perosis by biotin. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1942; 49:231-232.

Julian RJ. The effect of increased sodium in the drinking water on right ventricular hypertrophy, right ventricular failure and ascites in broiler chickens. *Avian Pathology* 1987; 16:61-71.

Junqueira OM, Costa PT, Miles RD, Harms RH. Interrelationship between sodium chloride, sodium bicarbonate, calcium, and phosphorus in laying hen diets. *Poultry Science* 1984; 63:123-130.

Keshavarz K. Influence of feeding a high calcium diet for various durations in prelaying period on growth and subsequent performance of white Leghorn pullets. *Poultry Science* 1987; 66:1576-1582.

Klasing KC, Austic RE. Nutritional diseases. In: Saif YM, editor. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003. p.1027-053,1231 p.

Kolb E. *Fisiología veterinária*. 2nd ed. Zaragoza: Editora Acribia; 1976.

Kuchinski KK, Harms RH, Russel G. Re-evaluation of the sodium of the commercial laying hen. *Poultry Science* 1997; 59(supl 1):236.

Leclercq B. Specific effects of lysine on broiler production: comparison with threonine and valine. *Poultry Science* 1998; 77:118-123.

Leeson E, Summers JD. *Nutrition of the chicken*. 4th ed. Guelph (Ontario): University Books; 2001.

Leeson S, Diaz GJ, Summers JD. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. Guelph (Ontario): University Books; 1995.

Leeson S, Summers JD. *Commercial poultry nutrition*. 2nd ed. Guelph (Ontario): University Books; 1997.

Leske KL, Coon CN. A Bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolysis and total phosphorus retention of feed ingredients as determined with broilers and laying hens. *Poultry Science* 1999; 78(8):1151-1157.

Lima IL. Níveis nutricionais utilizados nas rações pela indústria avícola. *Anais do Simpósio Internacional sobre Exigências Nutricionais de Aves e Suínos*: 1996; Viçosa (MG). Brasil. p.389-402.

Loveridge N, Thomson BM, Farquharson C. Bone growth and turnover. *Poultry Science Symposium: Bone biology and Skeletal Disorders in Poultry*. Abingdon, Oxfordshire: Arfax Publ;1992. p.3-17.

Macari M, Furlan RL, González E. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1994.

- Marks J. A guide to the vitamins. Their role in health and disease. Lancaster (England): Medical and Technical Publishing.; 1975.
- Matterson LD, Scott HM, Jungherr E. Salt tolerance of turkeys. **Poultry Science** 1946; 25:539-554.
- Maynard LA, Loosli JK, Hintz HF, Warner RG. Animal nutrition. New York: McGraw Hill Book; 1979.
- McDonald MW. Salt deficiency in laying diets. 12th World's Poultry Congress; 1962; Sydney. p.212-215.
- McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD. *et al.* Animal nutrition. 6th ed. London: Longman; 2002.
- McDowell LR. Minerals in animal and human nutrition. San Diego (California): Academic Press; 1992.
- McDowell LR. Vitamins in animal nutrition. Comparative aspects to human nutrition. San Diego (California): Academy Press; 1989. 486p.
- McWard GW. Magnesium tolerance of the growing and laying chicken. **British Poultry Science** 1967; 8:91-99.
- Meschy F. Balance eletrolítico y productividad en animales monogástricos. Resumos do Curso de Especialización Avances en Nutrición y Alimentación Animal; 1999; Barcelona: FEDNA; 1999. p.1-13.
- Miles RD, Harms RH. Relationship between egg specific gravity and plasma phosphorus from hens fed different dietary calcium, phosphorus and sodium levels. **Poultry Science** 1982; 61:175-177.
- Miller SC. Calcium homeostasis and mineral turnover in the laying hen. In: Whitehead CC, editor. Bone biology and skeletal disorders in poultry. Oxford: Carfax Publishing; 1992. p.103-116.
- Mongin P, Sauveur B. Interrelationships between mineral nutrition, acid-base, growth and cartilage abnormalities. **Proceedings Poultry Science** 1977; 12:235-247.
- Mongin P. Recent advances in dietary anion-cation balance: application in poultry. **Procedure Nutrition Society** 1981; 40:285-294.
- Morais SCD, Menten JFM, Brainer MMA. *et al.* Altos níveis dietéticos de cobre no desempenho e no colesterol sérico e muscular de frangos de corte. **Scientia Agrícola** 2001; 58(1):1-5.
- Munger LL, Su JJ, Barnes HJ. Coumafuryl (Fumarin) toxicity in chicks. **Avian Disease** 1993; 37:622-624.
- Naidoo D. The activity in sites of 5' nucleotidase, phosphomonoesterase and thiamin

pyrophosphatase in vitamin B1 deficient brain tissue. *Acta Psychiatrica et Neurologica Scandinavica* 1956; 31:205.

National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. Washington (DC): National Academy Press; 2001. 381p.

National Research Council. Nutrient requirements of poultry. 9th ed. Washington (DC): National Academy Press; 1994.

Norman AW, De Luca HF. The preparation of H<sup>3</sup> and D and their localization in the rat. *Biochemistry* 1963; 2:1160.

Olson JA. Vitamin A. In: Machlin LJ, editor. *Handbook of vitamins*. New York: Marcel Dekke; 1984. p.1.

Ortolani EL. Macro e microelementos. In: Spinosa HS, Górnica SL, Bernardi MM. *Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p.641-651

Pardue SL. Recent findings on vitamin C supplementation in poultry. In: Hoffmann The role of vitamins on animal performance and immune response. New Jersey: Nutley; 1987.

Patience JF. A review of the role acid-base balance in amino acid nutrition. *Journal of Animal Science* 1990; 68:398-408.

Patrick H. *et al.* Biotin and prevention of dermatitis in turkey poult. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1942; 48:456-458.

Pearce J, Jackson N, Stevenson MH. The effects of dietary intake and of dietary concentration of copper sulphate on the laying domestic fowl: effects on some aspects of lipid, carbohydrate and amino acid metabolism. *British Poultry Science* 1983; 24:337-48.

Peeler HT. *et al.* Studies of the effect of vitamin B<sub>12</sub> on hatchability. *Poultry Science* 1951; 30:11-17.

Pesti GM, Rowland GN, Ryu KS. Folate deficiency in chicks fed diets containing practical ingredients. *Poultry Science* 1991; 70:600-604.

Pollard WO, Creek RD. Histological effects of certain nutrients deficiencies in the chick bone development. *Poultry Science* 1964; 43:1415.

Robertson EI. *et al.* Response of anemic chicks to pteroylglutamic acid. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1947; 64:441-443.

Roche. *Vitamin nutrition for poultry*. Nutley (NJ): Hoffmann-La Roche; 1989. 122p.

Rossi P, Rutz F, Anciuti MA. *et al.* Influência de níveis crescentes de zinco orgânico sobre o desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo selênio orgânico. Lexington: Alltech; 2004. CD- ROM.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL. *et al.* Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2nd ed. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia; 2005.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Ferreira AS, Oliveira RF, Lopes DC. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa (MG): UFV ; 2000.

Ruiz N, Harms RH. Riboflavin requirement of broiler chicks fed a corn – soybean diet. **Poultry Science** 1998; 67:794.

Ruiz N, Harms RH. The niacin requirement of broiler chickens fed a corn – soybean meal diet from three to seven weeks of age. **Poultry Science** 1987; 66(Supp.1):37.

Rutz F. Absorção de vitaminas. fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. 2nd ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP; 2002.

Saif YM, Barnes HJ, Fadly AA, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. (editors). Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University; 2003.

Saif YM, Barnes HJ, Fadly AA, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. (editors). Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University; 2003.

Salyi G, Banhidi G, Szabo E, Sandor G, Ratz F. Acute selenium poisoning in broilers. *Magyar Allatorvosok Lapja* 1993; 48:22-26.

Sanberlich HE. Ascorbic acid. In: Olson RE, Broquist HP, Chichester CO, Drby WJ, Kolbye AC, Stalvey RM, editors. Nutrition reviews, present Knowledge in nutrition. Washington, DC: The Nutrition Foundation; 1984. p.260.

Sauveur B, Mongin P. Interrelationship between dietary concentrations of sodium, potassium and chloride in laying hens. *British Poultry Science* 1978b; 19:475-485.

Sauveur B, Mongin P. Tibial dyschondroplasia, a cartilage abnormality in poultry. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* 1978a; 18:87-92.

Scott ML, Nesheim MC, Young RJ. Nutrition of the chicken. Ithaca (NY): M.L.Scott & Associates; 1982.

Sebastian S, Touchburn SP, Chavez ER. *et al.* Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn- soybean diet supplemented with microbial phytase. **Poultry Science** 1997; 76(12):1760-1769.

Shafey TM. Calcium tolerance of growing chickens: effect of ratio of dietary calcium to available phosphorus. *Word's Poultry Science Journal* 1993; 49(1):5-18.

Shane SM, Young RJ, Krook L. Renal and parathyroid changes produced by high calcium intake in growing pullets. *Avian Disease* 1969; 13:558-567.

- Siddons RC. Nutrient deficiencies in animals: folic acid. In: Rechcigl Jr M, editor. Handbook series in nutrition and food, section E: Nutritional disorders. Palm Beach: CRC Press; 1978. p.132.
- Siske W, Zeman L, Klecker D. The egg shell: a case study in improving quality by altering mineral metabolism naturally. Proceedings Altech's Annual Symposium Biotechnology In The Feed Industry; 2000; Nottingham: Nottingham University Press; 2000. p.327-346.
- Sklan D, Plavnik I. Interactions between dietary crude protein and essential amino acid intake on performance in broilers. **British Poultry Science** 2002; 43:442-449.
- Stevenson MH, Pearce J, Jackson N. The effects of dietary intake and of dietary concentration of copper sulphate on the laying domestic fowl: effects on laying performance and tissue mineral contents. **British Poultry Science** 1983; 24:327- 35.
- Stillmak SJ, Sunde ML. The use of high magnesium limestone in the diet of the laying hen. I. Egg production. **Poultry Science** 1971; 50:553-564.
- Sturkie PD, Singsen EP, Matterson LD, Kozeff A, Jungherr EL. The effects of dietary deficiencies of vitamin C and the B complex vitamins on the electrocardiogram of chickens. **American Journal Veterinary Research** 1954; 15:457.
- Sullivan TW. Studies on the dietary requirement and interaction of magnesium with antibiotics in turkeys to 4 weeks of age. **Poultry Science** 1964; 43:401-405.
- Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MW, Pearson JE, Reed WE. A laboratory manual for isolation and identification of avian pathogens. 4th ed. : Kennett Square, PA: American Association of Avian Pathologists; 1998.
- Swayne DE, Shlosberg A, Davis RB. Salt poisoning in turkey poults. **Avian Disease** 1986; 30:847-852. Tapia Romero E, Rojas RE, Arias LE, Avila G. Resumenes ALPA 85. Chicco CF; 1985 (Abst).
- Tesseraud S. *et al.* Response of chick lines selected on carcass quality to dietary lysine supply: live performance and muscle development. **Poultry Science** 1999; 78:80-84.
- Todorovic M, Mihailovic M, Hristov S. Effects of excessive levels of sodium selenite on daily weight gain, mortality and plasma selenium concentration in chickens. **Acta Veterinaria (Belgrade)** 1999; 49:313-320.
- Underwood EJ, Suttle NF. The mineral nutrition of livestock. 3rd ed. Wallingford: CABI Pub; 1999.
- Underwood EJ. The mineral nutrition of livestock. 2nd ed. Farnham Royal (SL): Commonwealth Agricultural Bureaux; 1981.
- Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd. Ithaca (NY): Cornell University Press; 1994.

- Vasquez EFA, Herrera APN, Santiago GS. Interação cobre molibdênio e enxofre em ruminantes. *Ciência Rural* 2001; 31(6):1101-1106.
- Wages DP, Ficken MD, Cook ME, Mitchell J. Salt toxicosis in commercial turkeys. *Avian Disease* 1995; 39:158-161.
- Waldroup PW. *et al.* The effects of increased levels of niacin supplementation of broiler chickens. ***Poultry Science*** 1985; 64:1777.
- Waldroup PW. *et al.* The utilization of grain amaranth by broiler chickens. ***Poultry Science*** 1985; 64:759-762.
- Ward NE. Vitamin supplementation rates for U.S. commercial broilers, turkeys, and layers. *Journal Applied Poultry Research* 1993; 2:286-296.
- Weaver VM, Welsh J. 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation prevents hypocalcemia in magnesium-deficient chicks. *Journal of Nutrition* 1993; 123:764-771.
- Welsh J, Schwartz R, Krook L. Bone pathology and parathyroid gland activity in hypocalcemic magnesium- deficient chicks. *Journal of Nutrition* 1981; 111:514-524.
- Whitacre ME, Combs JGF, Combs SB, Parker RS. Influence of dietary vitamin E on nutritional pancreatic atrophy in selenium- deficient chicks. *Journal of Nutrition* 1987; 117:460-467.
- Whitehead CC, Shannon DWF. The control of egg production using a low-sodium diet. ***British Poultry Science*** 1974; 15: 429-434.
- Whitehead CC, Sharp PJ. An assessment of the range of dietary sodium for inducing a pause in laying. *British Poultry Science* 1976; 17:601-611.
- Wideman Jr RF, Closser JA, Roush WB, Cowen BS. Urolithiasis in pullets and laying hens: role of dietary calcium and phosphorus. ***Poultry Science*** 1985; 64:2300-2307.
- Wilson HR. Effects of maternal nutrition on hatchability. ***Poultry Science*** 1997; 76:134-143.
- Xu T, Leach Jr RM, Hollis B, Soares Jr JH. Evidence of increased cholecalciferol requirement in chicks with tibial dyschondroplasia. ***Poultry Science*** 1997; 76:47-53.
- Young RJ, Norris LC, Heuser GF. The chicks requirement for folic acid in the utilization of choline and its precursors betaine and methylaminoethanol. *Journal of Nutrition* 1955; 55:353-362.

## Enfermidades metabólicas em frangos de corte

### 9.1 - Enfermidades metabólicas em frangos de corte 977

*Elisabeth Gonzales, Marcos Macari, Ibiara Correia de Lima Almeida*

*Paz*



Enfermedades metabólicas em frangos de corte

Introdução	972
Síndrome ascítica ou síndrome da hipertensão pulmonar	972
Etiologia	978
Fatores predisponentes no desenvolvimento da SHP	979
Genética	979
Altitude	983
Temperatura	983
Ventilação	983
Manejo	983
Nutrição	983
Outros fatores	983
Sinais clínicos, lesões e diagnóstico da SHP	984
Monitoria da SHP	984
Síndrome da morte súbita	986
Etiologia	986
Sinais clínicos e diagnóstico da SMS	987
Fatores predisponentes à ocorrência de SMS em frangos	988
Discondroplasia tibial	989
Etiologia, sinais clínicos e diagnóstico	990
Fatores relacionados com a ocorrência de DT	992
Genético	992
Equilíbrio ácido-básico	994
Metabolismo da vitamina D	994
Níveis de cálcio e aminoácidos	994
Deficiência de cobre e níveis de cistina e homocistina	994
Relação Cálcio:Fósforo	995
Contaminação da dieta	995
Condições do meio ambiente	995
Controle das enfermidades metabólicas dos frangos	995
Medidas práticas para o controle dos distúrbios metabólicos	995
Bibliografia	996

# Enfermidades metabólicas em frangos de corte

**Elisabeth Gonzales, Marcos Macari, Ibiara Correia de Lima Almeida Paz**

## Introdução

Com os avanços nas práticas de melhoramento genético, nutrição, manejo e sanidade na criação de frangos de corte aumentaram os problemas de mortalidade e perdas por condenações no abatedouro causadas por distúrbios metabólicos diretamente relacionados aos altos níveis de produção obtidos. São as chamadas “doenças da produção”. Não existe um patógeno primário envolvido, mas a incidência dessas doenças está crescendo de um modo significativo em todo o mundo. Entre os problemas metabólicos registrados pode-se destacar a síndrome ascítica (SHP) ou síndrome da hipertensão pulmonar (SHP), a síndrome da morte súbita (SMS) e a discondroplasia tibial (DT), conseqüências de desarranjos metabólicos associados com a rápida taxa de crescimento do frango de corte moderno.

## Síndrome ascítica ou síndrome da hipertensão pulmonar

Ascite não é uma doença e sim uma condição patológica que se caracteriza pelo extravasamento de líquido dos vasos sanguíneos e seu acúmulo na cavidade abdominal dos animais. A síndrome da hipertensão pulmonar (SHP) é um conjunto de sintomas com características epidemiológicas, clínicas e anatomopatológicas constantes, entre as quais está incluída a ascite. É considerada uma síndrome uma vez que tem caráter multifatorial, sendo desencadeada a partir de uma interação entre variações ambientais, nutricionais e as respostas fisiológicas das aves, desfavoráveis ao desenvolvimento normal do animal.

A maior incidência da SHP é observada em lotes de frangos, embora documentada também em produção comercial de patos e perus.

O primeiro caso de ascite foi registrado em 1933, diagnosticado em uma ave Plymouth Rock Barrada, cuja cavidade abdominal continha 1100mL de líquido ascítico. Em 1946 e 1958 foram descritas ocorrência de ascite em perus. Em lotes de frangos, os relatos de ocorrência de um quadro de SHP foram documentados a partir da década de 70 e para aves criadas em altas altitudes, coincidindo com o aumento vertiginoso da criação em escala comercial de linhagens melhoradas. Posteriormente, a SHP foi diagnosticada em criações de frangos em baixas altitudes, ao nível do mar, sendo considerada na atualidade uma das patogenias que mais oneram o setor produtivo de aves para corte.

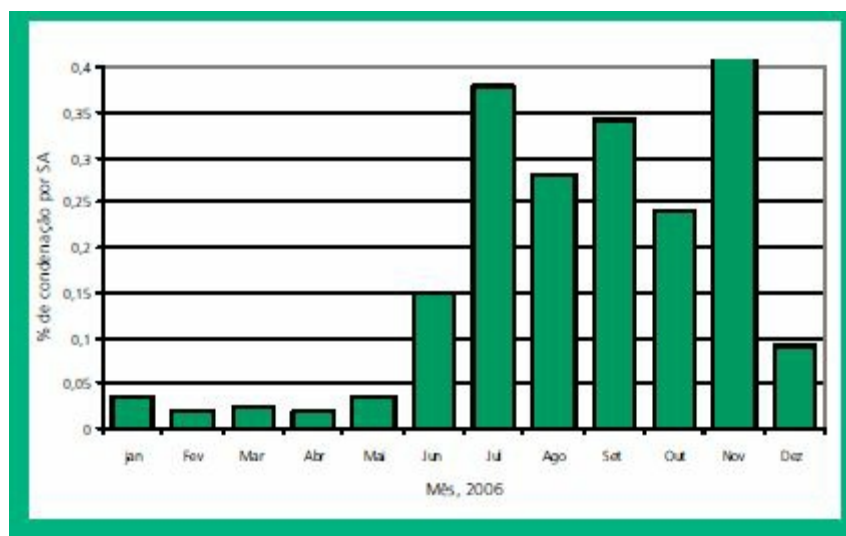
A síndrome ascítica (SA) ou síndrome de hipertensão pulmonar (SHP), como conseqüência de um distúrbio metabólico, está relacionada à alta velocidade de crescimento do frango entre 7 e 21

dias de vida. A maior incidência ocorre em aves machos e no inverno. Geralmente aparece entre a terceira e quinta semanas de idade, com o registro de maior mortalidade no terço final de criação. Porém, pode ser observada em pintainhos desde os três dias de idade.

A SHP pode ser responsável por até 50% das causas de mortalidade total de um lote, com comprometimento da carcaça no abatedouro. Em alguns lotes de machos, a mortalidade pode ser superior a 20%, sendo comum incidências entre 2 e 5%. O percentual de perdas (mortes mais descartes na linha de abate) é elevado nos lotes submetidos à condições que favorecem o desencadeamento do problema: hipóxia, ventilação deficiente, frio, estresse e crescimento rápido com bom desempenho inicial. No Canadá foi realizado um levantamento de condenações em abatedouros associadas com a ascite, constatando-se que entre 1986 e 1996 houve um aumento significativo da incidência da SHP, a qual passou de 3,5 para 19%. Maxwell & Robertson (1997) estimaram que as perdas por SHP podem exceder US\$100 milhões anualmente nos EUA e US\$500 milhões no mundo.

A SHP está presente em todo o Brasil, independente da altitude ou época do ano. Nas empresas do Sul e Sudeste, onde o inverno é mais rigoroso, a SHP ocorre com maior gravidade que nas do Norte e Nordeste.

Devido às diferenças estruturais entre os diversos abatedouros e as diversas formas de fiscalização, bem como treinamento entre os médicos veterinários oficiais do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) torna-se muito difícil a obtenção de dados conclusivos sobre a condenação de síndrome ascítica. Entretanto, é possível se obter um quadro representativo do que ocorre no Brasil pela análise de dados isolados de empresas com condenação controlada e fiscalizadas pelo MAPA. Uma amostragem desse tipo realizada no Estado de São Paulo no ano de 2006 revelou uma incidência média de 0,147% de condenações de carcaça por SA (22821 em 15 milhões de carcaças fiscalizadas), representando a quinta causa de condenações nesses estabelecimentos, principalmente nos meses mais frios (entre maio e setembro) quando há uma maior variação de temperatura na região (**Figura 1**).



**Figura 1** - Porcentagem de condenação de carcaça de frangos de corte por síndrome ascítica em abatedouros do Estado de São Paulo com inspeção federal no ano de 2006. Joaquim J.G.F, 2007. Comunicação pessoal.

Tendo como base essa amostragem e considerando que em 2006 foram abatidos no Brasil cerca de 4,6 bilhões de frangos de corte<sup>1</sup>, estima-se uma perda de cerca de US\$15,8 milhões devido à condenação de carcaças nos abatedouros. Se a esse valor for acrescido o corresponde a 2% de mortalidade de frangos de corte por SHP, é plausível se admitir uma perda total em carne de mais de US\$230 milhões somente com a ocorrência dessa síndrome no Brasil em 2006.

<sup>1</sup>Peso médio de carcaça = 2,04 kg, ao preço médio de varejo em 2006 de R\$2,18/kg (Facta News, n.8, ano 1, 2007) e cotação do dólar 1:1,90.

O Serviço de Inspeção Federal brasileiro (MAPA) condena toda ave com sinais de síndrome ascítica, independentemente do aspecto da carcaça. Países como os Estados Unidos, Canadá e os da Comunidade Econômica Européia não fazem restrições ao consumo de aves portadoras de SHP, desde que estas não apresentem outras complicações, tais como toxemia, caquexia, cianose ou aerossaculite. Entretanto, um dos principais problemas com as carcaças de aves ascíticas é o seu menor período de conservação, o que pode significar perdas ainda maiores para o consumidor.

## Etiologia

Não há uma etiologia única para o problema. As causas são multifatoriais, porém a genética e a interação entre o perfil genético, dieta e meio ambiente é um importante mecanismo desencadeador do processo que leva à SHP e o quadro ascítico.

Há evidências que o principal fator que contribui para o desenvolvimento da SHP é o limite fisiológico do sistema cárdio-respiratório dos frangos, permitindo o desenvolvimento de um quadro de hipertensão pulmonar e, progressivamente, de hipóxia sistêmica e celular. O quadro é agravado por aumento da resistência ao fluxo sanguíneo em nível pulmonar, desequilíbrio entre necessidade e fornecimento de oxigênio e insuficiência cardíaca direita, entre outros fatores. A predisposição à SHP é maior nos frangos porque o pulmão é rígido e fixo na cavidade torácica e o peso do órgão em relação ao peso corporal diminui em função da idade.

Os eventos fisiopatológicos que desencadeiam o desenvolvimento do quadro ascítico podem ter início devido a um aumento da taxa metabólica, com o desenvolvimento de hipóxia sistêmica e vasodilatação nos tecidos periféricos e aumento do retorno venoso para o coração. Com o retorno venoso aumentado, há necessidade de maior débito cardíaco para o sistema vascular do pulmão, cuja musculatura já se encontra distendida. A consequência é uma hipertrofia da artéria pulmonar e aumento da pressão arterial pulmonar. Ocorre maior dificuldade de passagem do sangue através dos capilares pulmonares e com isso reduz a perfusão pulmonar, com menor troca gasosa e hipóxia progressiva. O déficit de oxigênio causa aumento na concentração de hemoglobina, no hematócrito e no número de eritrócitos, com consequente aumento da viscosidade sanguínea. À medida que aumenta a pressão arterial pulmonar, ocorre a hipertrofia cardíaca do lado direito. Como o coração não é capaz de bombear todo o sangue que retorna dos órgãos e tecidos periféricos, há um aumento da pressão venosa tanto no ventrículo direito como átrio direito. Este aumento da pressão venosa é verificado no sistema porta-hepático e como o epitélio dos sinusóides hepáticos são fenestrado, devido ao aumento da pressão ocorre o extravasamento de plasma para o espaço intersticial e acúmulo na cavidade abdominal. Neste momento, a presença do fluido ascítico pode ser observada na cavidade abdominal, bem como uma congestão venosa

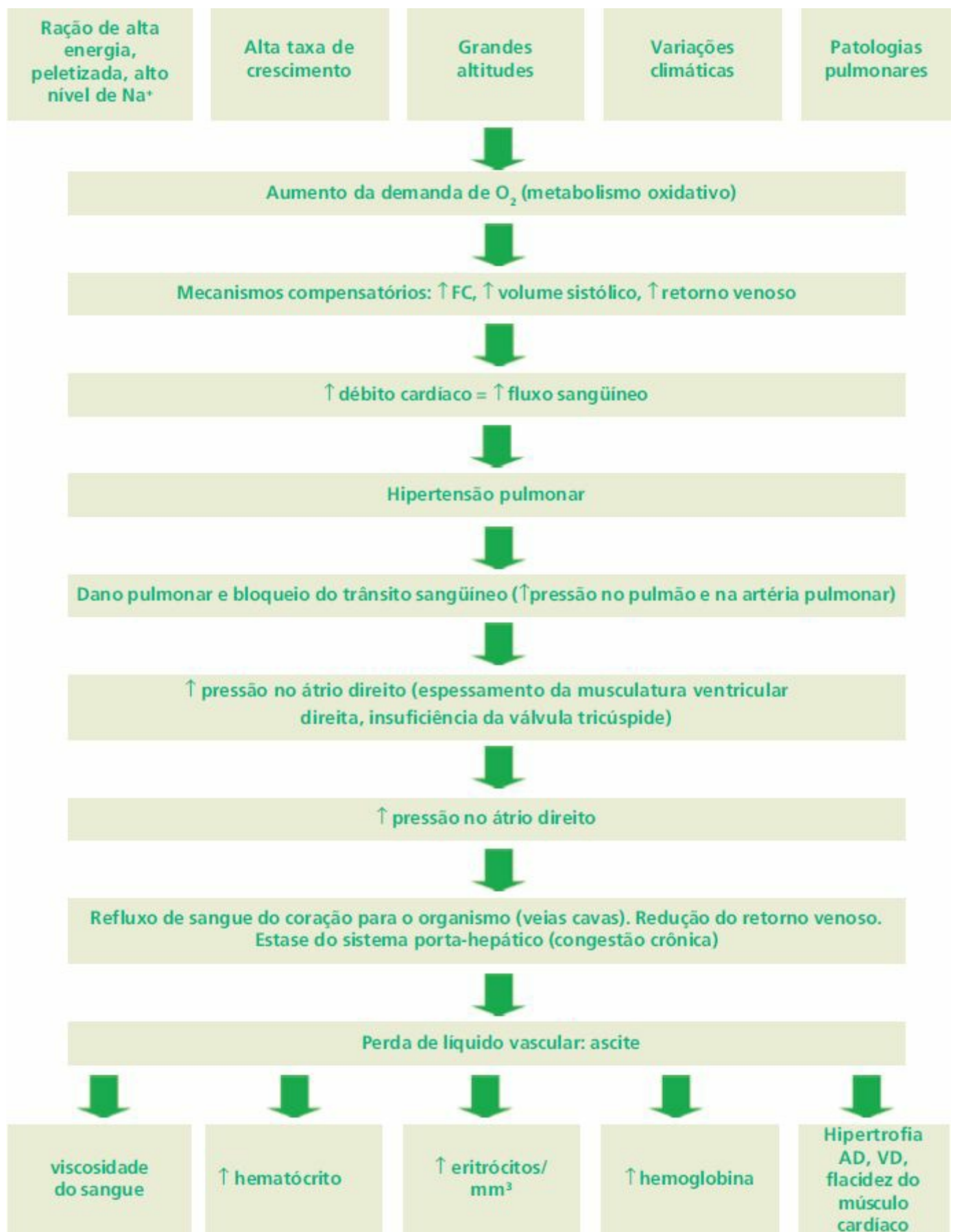
superficial. A hipertrofia cardíaca (atrial e ventricular) evolui e torna incompetente a válvula tricúspide, podendo causar a morte da ave por falência congestiva cardíaca.

Embora bem conhecida a evolução do processo, o mecanismo bioquímico iniciador de todo o processo ainda é motivo de investigação científica. Wideman e colaboradores (Wideman *et al.*, 2007) são de opinião que a maior suscetibilidade a SHP é decorrente da capacidade vascular inadequada combinada com uma predominância funcional de um vasoconstrictor (5-hidroxitriptamine – 5HT) sobre o vasodilatador óxido nítrico (NO). Para Olkowski (Olkowski, 2007), entretanto, a evolução da ascite seria precedida por um quadro crônico de lesão cardíaca, seguindo-se alterações sobre o fluxo sanguíneo, inadequada perfusão do pulmão (SHP) e as conseqüentes alterações nos parâmetros gasosos do sangue (hipercarpenia e hipoxemia).

Por outro lado, outras pesquisas indicam que o estresse oxidativo celular da musculatura cardíaca pode estar envolvido, ou porque a célula tem uma proteção inadequada a agentes oxidantes ou porque o alto metabolismo do frango gera uma quantidade muito grande de radicais livres, os quais nas mitocôndrias são apontados como os maiores responsáveis pelo processo de apoptose, o qual é associado a doenças metabólicas. Há evidências histológicas de acúmulo de peróxido de hidrogênio nas mitocôndrias das células cardíacas de aves que morrem por SHP. Por outro lado, mitocôndrias das células hepáticas de aves acometidas por SHP consomem mais oxigênio para manter o processo de fosforilação oxidativa e potencialmente produzem maiores quantidades de radicais livres, acentuando a hipóxia sistêmica e o estresse oxidativo.

### Fatores predisponentes no desenvolvimento da SHP

Os seguintes fatores são freqüentemente correlacionados com o aumento de ocorrência de SHP em lotes de frangos: criação das aves a grandes altitudes, taxa rápida de crescimento da ave, volume pulmonar diminuído, alta energia da ração, ração peletizada, ambiente frio, variações grandes da temperatura ambiental, ventilação inadequada do galpão, doenças respiratórias, aspergilose, alto nível de sódio na ração, baixo nível de fósforo na ração, toxinas hepáticas, micotoxinas, uso de furazolidona, deficiência de vitamina E e/ou selênio e estresse, conforme ilustrado na [Figura 2](#).



**Figura 2** - Possíveis mecanismos desencadeadores da síndrome ascítica em frangos de corte.

## Genética

A maior incidência de SHP ocorre nas linhagens de crescimento rápido, principalmente nas aves machos. O melhoramento genético com o objetivo de acelerar o ganho de peso e melhorar a conversão alimentar dos frangos determinou um aumento na demanda sanguínea tecidual devido à alta taxa metabólica, de tal modo que o aparato cárdio-respiratório se tornou ineficiente para

suprir o organismo com um sistema adequado de transporte e intercâmbio de oxigênio.

A relação característica genética versus incidência de SHP é evidente quando se observa a incidência de mortalidade pela síndrome entre linhagens de frangos selecionadas ou não para alta taxa de crescimento ([Tabela 1](#)) e entre machos e fêmeas ([Tabela 5](#)).



**Tabela 1** - Causas de mortalidade em frangos de corte machos selecionados para baixa e alta taxa de crescimento.

Mortalidade, %	Taxa de crescimento	
	baixa <sup>1</sup>	alta <sup>2</sup>
<b>Experimento 1</b>		
Total	1,85b	9,51a
Síndrome ascítica	0,00b	4,26a
Síndrome da morte súbita	0,00b	2,29a
Outras causas <sup>3</sup>	1,85	2,96
<b>Experimento 2</b>		
Total	2,20b	17,36a
Síndrome ascítica	0,00b	12,41a
Síndrome da morte súbita	0,00	0,93
Outras causas	2,20b	4,02a
<p>1Linhagens de pescoço pelado. 2Arbor Acres, Avian Farms, Cobb-500, Hubbard, Ross-508, ISA. 3Incluso aves refugadas por mau desenvolvimento, com onfalite, problemas de pernas e as não necropsiadas devido ao adiantado estado de decomposição. a,b Diferente estatisticamente (p&lt;0,05). Gonzales <i>et al.</i>, 1998b.</p>		

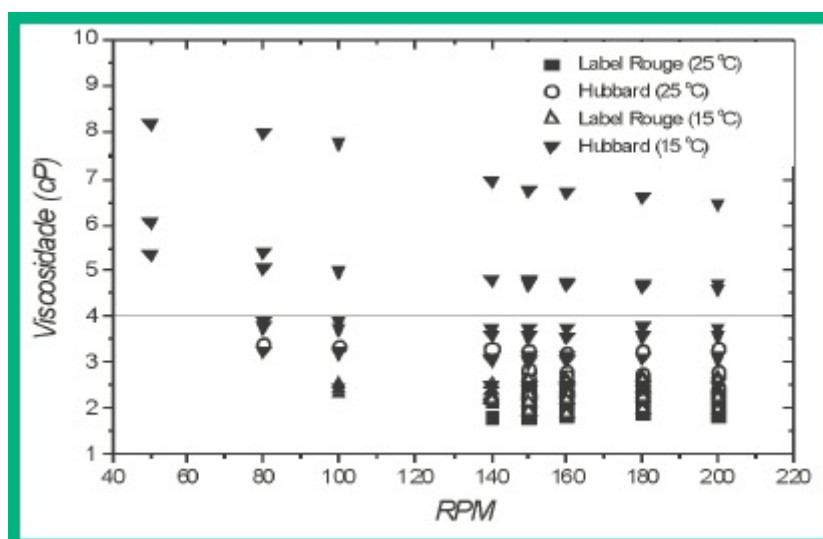
A diferença entre linhagens e sexo para a susceptibilidade ao desenvolvimento de SHP pode ser verificada pelo valor de hematócrito e a viscosidade sanguínea dos frangos. Essas avaliações hematológicas podem refletir a hipertrofia do ventrículo direito e os seus valores são mais altos

em aves susceptíveis a desenvolverem um quadro ascítico. Frangos selecionados para alta taxa de crescimento, e os machos em relação às fêmeas, apresentam esses valores hematológicos superiores, principalmente quando submetidos a ambientes estressantes, como o frio ([Tabelas 2 e 3](#), [Figura 3](#)).

<b>Tabela 2</b> - Valores de hematócrito e número de aves mortas por ascite em frangos de corte Hubbard e pes coço-pelado submetidos a diferentes condições de temperatura ambiente.		
Linhagem / Temp. ambiente <sup>1</sup>	Hematócrito, % <sup>3</sup>	Nº mortos por SHP
Hubbard	29b	4
Termoneutralidade <sup>1</sup>	52a	41
Frio <sup>2</sup>		
Pescoço pelado		
Termoneutralidade	27a	0
Frio	30a	0

<sup>1</sup>de acordo com a idade. 25 °C a partir da terceira semana de criação. <sup>2</sup>de acordo com a idade. 15 oC a partir da terceira semana de criação. <sup>3</sup>n=8 aves. Adaptado de Fontes et al. (1999).

<b>Tabela 3</b> - Médias e desvios-padrões dos valores de microhematócrito em frangos de corte.	
<b>Sexo</b>	<b>Microhematócrito, %</b>
machos	46,20 ± 4,14 a
fêmeas	35,74 3,16 b



**Figura 3** - Viscosidade aparente (cP) em função da velocidade de rotação (RPM). (Spindle SC4-18, viscosímetro LDVII+). Aves com 28 dias de vida.

Vários estudos demonstram que os frangos melhorados para alto desempenho podem apresentar alteração do metabolismo tireoidiano, em relação a aves não selecionadas ([Tabela 4](#)). O hipotireoidismo funcional, sugerido por níveis plasmáticos de T3 baixo e T4 inalterado, poderia determinar uma redução do consumo de oxigênio tecidual e, portanto, predispor as aves à hipoxemia, hipertensão pulmonar, hipertrofia ventricular direita e, finalmente, exsudação plasmática a nível de pericárdio e fígado. Essa deficiência tireoidiana, talvez selecionada indiretamente nos programas de melhoramento genético dos frangos também estaria relacionada com o estresse oxidativo discutido anteriormente.

Tabela 4 - Média de T3, T4 e T3:T4 no plasma de frangos machos de crescimento lento (pescoço pelado) e de outras linhagens de crescimento rápido <sup>1</sup> .			
Linhagem			
T3			T3:T4
T4			
1 dia			
Pescoço pelado	1,5 ± 0,12*		4,7 ±
0,66ns		0,41 ± 0,09ns	
Outras <sup>1</sup>			1,0 ±
0,06	4,1 ± 0,26		0,31 ± 0,03
7 dias			
Pescoço pelado	1,8 ± 0,07*		7,6 ±

0,71*	0,26 ± 0,03*		0,9 ± 0,07
Outras l	9,3 ± 0,25	0,10 ± 0,01	
14 dias			
Pescoço pelado	1,9 ± 0,09*		8,3 ±
0,44ns	0,24 ± 0,02*		
Outras l			1,3
0,07	8,7 ± 0,19		0,16 ± 0,01
21 dias			
Pescoço pelado	1,7 ± 0,11*		6,9 ±
0,71*	0,27 ± 0,04*		
Outras l			0,9 ±
0,06	8,6 ± 0,23		0,11 ± 0,01
28 dias			
Pescoço pelado	1,8 ± 0,23*		6,1 ±
0,86*	0,33 ± 0,07*		
Outras l			1,2 ±
0,07	8,5 ± 0,25		0,15 ± 0,01
35 dias			
Pescoço pelado	1,1 ± 0,13*		6,9 ±
0,84*	0,17 ± 0,02*		
Outras l			0,7 ±
0,06	8,8 ± 0,25		0,08 ± 0,01
42 dias			
Pescoço pelado	1,1 ± 0,09*		10,3 ±
0,39ns	0,11 ± 0,01*		
Outras l			0,5 ±
0,04	9,4 ± 0,28		0,06 ± 0,01

1Média de resultados para as linhagens Avian Farms, Arbor Acres, ISA, Hubbard, Ross and Cobb-500.\*Significativo

(P≤0,05) pelo teste F . ns não significativo (p>0,05). Adaptado de Gonzales

*et al.* (1999).

Tabela 5 - Número (n) e porcentagem (%) de frangos de corte machos suscetíveis à ascite (SUS) q (AS) e os frangos de corte resistentes (RES) que permaneceram saudáveis nas linhas suscetíveis (L)

SUS	RES		Dif. SA%1		Probabilidade
Geração	(n)	(%)	(n)	(%)	entre linhas
S1, 37,5	<0,0001				
AS-S	158	69,2	70	30,8	
AS-R	64	31,7	138	69,3	
Sz, todas	<0,0001				
AS-S	252	69,4	111	30,6	
AS-R-	64	26,1	181	73,9	
S2, selec.					
AS-S	205	79,5	52	20,5	
AS-R	17	11,7	128	88,3	
S3, todas					
AS-S	169	88,5	22	11,5	
AS-R	26	15,8	132	84,2	
S3, selec.			86,6	<0,0001	
AS-S	147	91,3	14	8,7	
AS-R	4	4,5	84	95,5	

1% de incidência de ascite. Adaptado de Druyan *et al.*, 2007.

Cerca de 50% dos frangos de corte modernos podem desenvolver o quadro ascítico se expostos às condições predisponentes (meio ambiente, dieta). Entretanto, essa alta incidência é verificada em linhagens ditas sensíveis à ascite. De fato, pesquisas recentes indicam que a tendência dos frangos de corte em desenvolverem o quadro ascítico está sob controle genético, com uma herdabilidade estimada entre 0,1 a 0,7. Desse modo, Druyan *et al.* (2007) conseguiram obter famílias de frangos com baixas incidências de SHP (linhas AS resistentes), mesmo quando submetidos às condições altamente desafiantes para o desenvolvimento de ascite (Tabela 5). Falta ainda, entretanto, identificar os genes relacionados com a alta sensibilidade à síndrome ascítica e assim se obter, com maior eficiência, linhagens resistentes a essa patologia.

## Altitude

A incidência de SHP é elevada em criações situadas em altitudes superiores a 2000m do nível do mar, devido à rarefação do oxigênio no ar nessas condições. A reduzida pressão parcial de oxigênio na atmosfera provoca hipóxia tecidual e aumento do débito cardíaco.

## Temperatura

A maior incidência de SHP é observada nos meses de inverno em função de um aumento na demanda de O<sub>2</sub> devido ao maior consumo de alimento e produção de calor. Mudanças bruscas na temperatura ambiente (dia/noite) que ocorrem em determinadas épocas do ano (verânico) também contribuem para aumentar o problema, principalmente em galpões sem isolamento térmico. Geralmente quanto maior a altitude, maiores as diferenças entre as temperaturas diurnas e noturnas e maior a incidência de mortes por ascite.

Os programas recentes de melhoramento genético objetivam diminuir o índice de conversão alimentar combinado ao aumento da taxa de crescimento. A consequência é que essas aves apresentam uma pior resposta adaptativa às modificações da temperatura ambiente. O aumento da suscetibilidade à SHP em frangos selecionados pode ser resultante de uma somatória de efeitos da hipóxia tecidual e da má habilidade da ave para sobreviver enquanto mantém uma taxa ótima de crescimento em temperaturas ambientes adversas.

O aquecimento inicial dos pintainhos, principalmente nas regiões mais frias, parece estar muito relacionado com o desenvolvimento da ascite. É interessante criar condições de renovação de ar no galpão, mas não em detrimento do aquecimento de pintainhos na fase inicial de criação. A utilização de estufas nos pinteiros, quando a renovação do ar é adequada, proporciona maior conforto térmico, reduzindo a mortalidade por ascite.

## Ventilação

Trocas de ar inadequadas aumentam as concentrações de partículas no ar, CO, CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub> e diminuem a de O<sub>2</sub>, favorecendo a incidência de SHP. É fato conhecido que esses poluentes iniciam um processo inflamatório, aumentando o número de células fagocitárias e provocando uma seqüência de processos, como isquemia e reperfusão tecidual que favorecem o desencadeamento de aumento de pressão no pulmão.

## Manejo

O manejo inadequado de cortinas (mudanças bruscas na temperatura e ventilação deficiente), manejo físico das aves (pesagens e vacinações), alta densidade populacional, manejo inadequado de bebedouros com aumento da umidade da cama e nível de amônia, fumigação errônea e falta de ventilação nos nascedouros são condições de estresse que predisõem a ave para desenvolver um quadro de síndrome de hipertensão pulmonar.

Vários fatores relacionados ao estado sanitário do lote e às medidas envolvidas no controle sanitário dos plantéis podem favorecer a incidência de SHP. Entre estes pode-se citar: fumigação excessiva com formol (nascedouros e galpões); complicações por aspergilose pulmonar e broncopneumonias; problemas tóxicos que afetam o fígado, coração ou pulmão; pintos de baixa qualidade, resultantes de nascimentos retardados ou com problemas pulmonares; vacinação por pulverização, que podem causar danos no sistema respiratório de pintos de um dia de idade.

## Nutrição

Em geral, fatores que aceleram o desenvolvimento corporal da ave, como a peletização e a alta densidade nutricional das rações, favorecem a incidência de SHP. As rações granuladas e com altos níveis energéticos proporcionam melhoria na conversão alimentar e no desempenho de frangos de corte, porém resultam em maiores taxas de mortalidade total e por ascite. Por outro lado, rações com baixa densidade nutricional propiciam um menor ganho de peso durante o período de 42 dias e menor incidência de SHP.

Um balanço inadequado de aminoácidos ou uma proteína de má qualidade, exigindo da ave um incremento da atividade metabólica para a excreção do nitrogênio não depositado, que é um processo que aumenta a demanda por oxigênio, é também apontado como um fator predisponente para o desencadeamento da SHP.

## Outros fatores

Outros fatores que podem ser relacionados como predisponentes da ocorrência de mortes por ascite são: excesso de sódio na dieta; deficiência de biotina; gorduras com alto nível de peróxidos; raquitismo por reduzir a área pulmonar; ingestão excessiva de proteínas ou de proteína de baixo valor biológico; contaminação da ração por *Crotalaria spectabilis*; e intoxicações medicamentosas.

## Sinais clínicos, lesões e diagnóstico da SHP

A SHP é caracterizada por ser uma patogenia de caráter crônico com a morte da ave, geralmente, em estado avançado da doença.

As aves com a SHP apresentam um quadro clínico mórbido caracterizado por anorexia, perda de peso, respiração ofegante e imobilidade. As canelas se tornam progressivamente desidratadas e sem brilho e a crista e barbelas têm uma coloração cianótica (**Figura 4**). As penas ficam arrepiadas e a ave permanece deprimida, não se alimenta ou bebe água. Nos quadros mais avançados de SHP o abdômen fica dilatado, percebendo-se à palpação a presença de líquido na cavidade abdominal. Nessas condições, a simples manipulação da ave para um exame clínico pode resultar em sua morte.





**Figura 4** - Aparência de crista e barbelas de uma ave com síndrome ascítica.

À necropsia, o líquido ascítico de cor amarelada, às vezes de aspecto gelatinoso, na cavidade abdominal e no espaço pericárdio é o quadro patognomônico da ascite (**Figura 5**). Entretanto, nem sempre a ave afetada pela SHP tem ascite (**Tabela 6**).



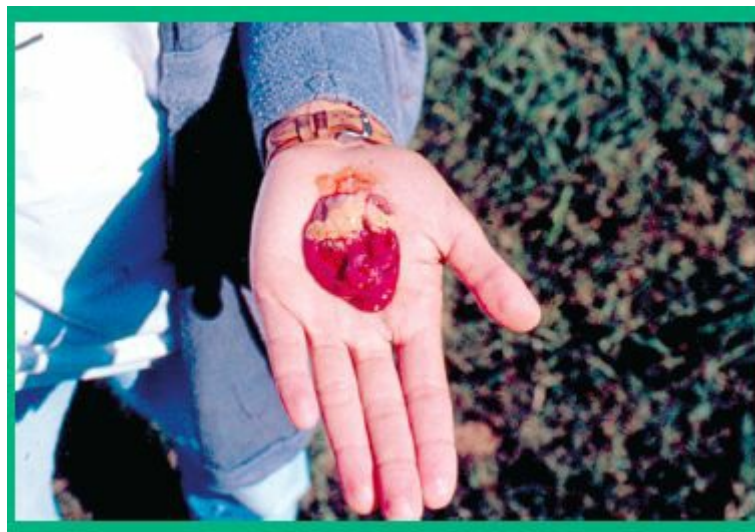
**Figura 5** - Líquido ascítico na cavidade abdominal de uma ave morta por SA.

Tabela 6 - Exsudato líquido (EL) e gelatinoso (EG), hidropericárdio (HP), lesões cardíacas (LC) e hepáticas (LH), trato digestivo congestionado (TGI) e mortalidade total (MT) e por síndrome ascítica (SA). Valores expressos em porcentagem do número de aves necropsiadas.

Sexo	TGI	EL MT	EG AS	HP	LC	LH
Macho (n=120) <sup>1</sup>	52,95a	22,95a	33,84a	73,10a	68,89a	
	16,60a	13,22a	6,89a			
Fêmea (n=98)	37,99a	13,47a	13,98b	50,40b	39,82b	
	7,53b	10,67a	2,88b			

<sup>1</sup>n= número de aves necropsiadas. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p<0,05). Adaptado de Neto (1994).

Na SHP verifica-se também, hipertrofia cardíaca direita ou total flacidez da musculatura cardíaca (**Figura 6**) e congestão pulmonar de um ou ambos pulmões. O fígado apresenta-se no início aumentado de volume e congestionado, tornando-se progressivamente cirrótico nos processos mais avançados. É comum se observar uma película semi-gelatinosa recobrendo o fígado e aderida às costelas. O rim pode estar aumentado de volume e congestionado e o baço pequeno.



**Figura 6** - Hipertrofia cardíaca apresentada em uma ave morta por SA.

As aves apresentam processos de congestão venosa dos vasos superficiais dos vários órgãos e da musculatura esquelética. Nos casos severos, a congestão do trato intestinal é extensa, desde o

duodeno até o reto. A vesícula biliar aumentada de tamanho e o aparelho gastrointestinal vazio demonstram que ave parou de se alimentar há algum tempo.

Em aves pré-ascíticas, que ainda não apresentam a cavidade abdominal invadida pelo líquido ascítico, pode-se observar graus variados de hipertrofia cardíaca direita e hidropericárdio. Um índice cardíaco ( $IC = \text{peso do ventrículo direito} / \text{peso total dos ventrículos}$ ) superior a 0,25 é indicativo de morte da ave por ascite, independente da presença ou não do líquido na cavidade abdominal.

As lesões anatomopatológicas dos órgãos ou tecidos de aves que morrem por ascite são principalmente do tipo congestivas e observadas principalmente nos parabrônquios pulmonares, glomérulos renais, miocárdio, fígado e musculatura esquelética. Estudos morfológicos dos pulmões de aves ascíticas revelaram um aumento significativo de nódulos cartilagosos, principalmente no pulmão esquerdo. As células do miocárdio mostraram-se hipertróficas com hemorragias focais e entre as miofibrilas pôde ser observadas numerosas células inflamatórias. O tecido hepático aparece com vários graus de degeneração, a cápsula de Glisson é mais fina do que o normal e com grande acúmulo de células inflamatórias na região periportal.

### Monitoria da SHP

A monitoria da SHP não é realizada de forma regular pelos produtores de frangos, pois uma vez iniciado o processo a evolução da doença é irreversível. Entretanto, em pesquisas e em programas de seleção de linhagens para aumento de resistência genética à ascite a monitoração tem-se mostrado muito útil.

A significativa e consistente herdabilidade para o índice cardíaco:  $IC = VD/TV$  (0,2 a 0,6) e as elevadas herdabilidades para SHP (0,1 a 0,7) em frangos selecionados para alta taxa de crescimento e excelente rendimento de carne sugerem que a seleção baseada nas médias das famílias reprodutoras para diminuição do índice cardíaco e mortalidade por ascite pode ser efetiva sob condições ambientais desfavoráveis. Como já mencionado, IC superior a 0,25 é indicativo de SHP.

Uma outra técnica para avaliar a hipertrofia cardíaca direita e relacioná-la com a severidade do quadro ascítico, contrapondo-se à avaliação do índice cardíaco, foi desenvolvida: a medida da área do ventrículo direito (AVD), do ventrículo esquerdo (AVE) e da área total do coração (ATC) (McGovern *et al.*, 1999a,b). A severidade do desenvolvimento de quadro ascítico, classificado em escore pelos autores (**Tabela 7**), apresenta alta correlação ( $r = 0,52$ ) com o tamanho da área do VD, mas não com a área do VE. Com escore 0, a AVD foi 2,76cm<sup>2</sup>. Escores superiores a 2,0, apresentaram AVD de 5,0 cm<sup>2</sup>. Segundo os autores, a técnica é mais trabalhosa e dispendiosa do que a medida do IC, porém como é passível de ser registrada utilizando-se processos de análise de imagem por computação, possibilita reavaliações posteriores.

Tabela 7 - Descrição das características de carcaça relacionadas a escores específicos de SHP.

Escore	Identificação
0	Não há lesão ou ligeiro hidropericárdio, leve hipertrofia ventricular direita ou leve congestão e edema pulmonar.
2	Hipertrofia cardíaca mais pronunciada ou dilatação com moderado hidropericárdio e congestão do fígado evidenciado por uma coloração escura e bordas arredondadas.
3	Lesões semelhantes ao escore 2 com a adição de pequeno acúmulo de fluido ascítico em uma ou mais cavidades celômicas, além do pericárdio, e superfície irregular de fígado.
4	Acentuado acúmulo de fluido ascítico em uma ou mais cavidades celômicas, além do pericárdio, e grave lesão hepática.
Adaptado de McGovern <i>et al.</i> (1999a,b).	

As medidas de IC e AVD, embora eficientes como critérios de seleção de linhas de aves resistentes a SHP, são métodos que exigem o sacrifício das aves. O valor de hematócrito e a viscosidade do sangue (ver Fatores Predisponentes) são medidas práticas para a monitoria da SHP, tanto em pesquisas aplicadas como nos programas de seleção, já que são técnicas não invasivas. Ainda, Maxwell *et al.* (1996) sugeriram a detecção bioquímica de troponina T no plasma das aves, pois segundo os autores, esta proteína estrutural do sistema contrátil do músculo não é normalmente encontrada no sangue e, quando presente, a sua origem, cardíaca ou esquelética, pode ser imunologicamente diferenciada. A detecção desta proteína tem sido utilizada como marcador bioquímico que indica a degeneração do músculo cardíaco em humanos que sofreram injúria nas células do miocárdio. Como há uma boa homologia entre a troponina T das aves e dos humanos, o mesmo anticorpo monoclonal dessa proteína utilizado no diagnóstico de doenças cardíacas do homem poderia ser empregado na identificação de aves predisponentes a SHP em programas de melhoramento genético para maior resistência à ascite.

Concluindo, recomenda-se que a monitoria para a seleção de famílias de frangos de corte menos suscetíveis à SHP envolva a exposição das aves às condições indutoras de um quadro ascítico, avaliando-se conjuntamente, além do desempenho e incidência de mortalidade, o índice cardíaco,

os valores de hematócrito, o volume pulmonar, eletrocardiograma e o nível sanguíneo de troponina T.

## Síndrome da morte súbita

Morte súbita pode ser definida como um ato de terminação da vida que ocorre repentinamente sem causa aparente. A morte de origem desconhecida e súbita é registrada com frequência na natureza. Crianças recém nascidas, cavalos e bovinos jovens morrem dessa maneira sem que haja uma razão aparente. Na espécie aviária, a morte súbita pode ser observada em aves adultas, poedeiras, reprodutoras pesadas e em perus. Entre as aves, os casos de mortes súbitas mais bem documentados são os que ocorrem em frangos selecionados para crescimento rápido.

Também denominada “síndrome da morte aguda”, “ataque cardíaco”, “colapso circulatório agudo”, “edema pulmonar”, falência cardíaca aguda ou “flip-over”, a síndrome da morte súbita (SMS) é hoje considerada de ocorrência cosmopolita, registrando-se em várias partes do mundo em níveis que comprometem o rendimento econômico de lotes de frangos bem manejados.

Hemsley, em 1965, na Inglaterra foi o primeiro a relatar casos de “edema pulmonar” em aves que “morriam subitamente em bom estado de desenvolvimento”, responsável por 23% de toda a mortalidade observada em 14 lotes de frangos.

Posteriormente, a ocorrência de mortalidade súbita em frangos de corte foi registrada em inúmeros lotes de frangos criados sob condições satisfatórias de manejo em diferentes continentes (Austrália, Europa, América do Norte, América Central, América do Sul).

No Brasil, os primeiros relatos publicados de mortes de morte súbita datam do início da década de 90, embora casos de mortalidade de origem desconhecida em frangos em bom estado de desenvolvimento sempre foram observados pelos produtores. Entretanto, como não representava prejuízo significativo, essa mortalidade era considerada “normal”.

A porcentagem de mortalidade devida à SMS, registrada em várias partes do mundo, pode variar de 0,4 a 9,0%. Da mortalidade total em lotes de frangos de bom desempenho, 10 a 50% pode ser devida à SMS ([Tabela 8](#)), verificando-se uma maior ocorrência nos machos (60 a 80%), com um pico de incidência entre a segunda e quarta semanas de idade (60%). A maior parte das aves afetadas é encontrada morta em posição supina (decúbito dorsal), sendo o problema sazonal com maior mortalidade no inverno.

Tabela 8 - Mortalidade total e por SMS em lotes de frangos de corte.

Número de Lote	Mortalidade	Mortalidade por SMS				Referência
		total <sup>1</sup> %	Machos1%	Fêmeas1%	Total2%	
38212	Misto	3,8	77	23	30	Bridgen & Riddell, 1975
20000	Misto	ND <sup>3</sup>		74	26	ND
64000	Misto	6,8	74	26	36	Steele & Edgard, 1982
600	Macho	2,2	100	-	76	Bowes <i>et al.</i> , 1988
89998	Misto	8,2	ND	ND	54	Gardiner <i>et al.</i> , 1988
1995	Misto	4,5	67	33	24	Gonzales, 1992
3440	Macho	13,7	100		11	Gonzales, 1998b
<p>1Em relação ao percentual da mortalidade total por SMS. 2 Em relação ao percentual da mortalidade total.</p> <p>3ND = não divulgado.</p>						

## Etiologia

A etiologia da doença é ainda desconhecida. Entretanto, sabe-se que não é de origem infecciosa, uma vez que não se identificou agente patógeno, viral, bacteriano ou fúngico, que pudesse estar envolvido.

O registro das ocorrências de mortes por SMS em frangos coincide com a introdução de linhagens comerciais altamente produtivas, sugerindo uma origem metabólica associada com taxa alta de crescimento. Entretanto, a combinação de fatores nutricionais, genéticos e de meio ambiente parece estar envolvida no processo.

De um modo geral não se observa lesões macroscópicas, e as lesões histológicas do coração e pulmão não são específicas. Há, entretanto, uma quantidade muito grande de alterações bioquímicas, no coração, que podem causar a morte da ave sem que se identifique modificação morfológica significativa.

O distúrbio metabólico parece estar correlacionado a uma suscetibilidade intrínseca dos frangos à hipoxemia, possivelmente influenciada pelo menor crescimento relativo dos sistemas respiratório e cardíaco, em uma época em que a deposição de massa muscular é máxima, ou seja, entre a 2ª e 4ª semanas de idade das aves.

Suspeita-se de uma falência circulatória, ocorrendo as mortes em função de uma anormalidade metabólica que dispara uma fibrilação atrial ou ventricular. Com frequência a morte ocorre em aves aparentemente normal em boa condição corporal sem qualquer sinal clínico pré-existente. Entretanto, as aves que morrem de SMS podem ter um histórico de distúrbios cardíacos e arritmias ventriculares. O crescimento muito rápido pode aumentar a sensibilidade do miocárdio e predispor à fibrilação ventricular, cuja incidência é maior nos machos do que nas fêmeas. Também, pintos de crescimento rápido apresentam um aumento do limiar de estimulação elétrica do miocárdio, o que reforça a teoria de anormalidade metabólica.

Outra possibilidade apontada seria uma redução da captação de cálcio pelo retículo plasmático da célula cardíaca que desencadearia o processo de fibrilação atrial ou ventricular.

Distúrbios fisiopatológicos nos sistemas cardiovascular e respiratório podem também acarretar a morte do animal e, em muitas circunstâncias, a morte súbita, como no infarto agudo do miocárdio e enfisema pulmonar.

A fibrilação atrial associada ao infarto cárdio-embólico do miocárdio ou apoplexia são mecanismos fisiopatológicos altamente prováveis como desencadeadores da morte súbita em frangos.

A doença isquêmica coronariana é outra etiologia a ser considerada para a SMS. A alta taxa de crescimento associada ao déficit cárdio-respiratório pode, em determinadas circunstâncias, induzir isquemia coronariana e conseqüente infarto agudo do miocárdio.

### Sinais clínicos e diagnóstico da SMS

As aves morrem repentinamente e não se evidenciam sinais clínicos característicos, lesões patognomônicas ou alterações macroscópicas e histológicas significativas. O diagnóstico é portanto circunstancial ou de exclusão, no qual deve ser considerado o histórico do lote no diagnóstico da SMS.

Há indicações que 70% das aves encontradas mortas por SMS apresentam-se em decúbito dorsal

(posição supina), com as patas estendidas. Esse fato está relacionado com o comportamento da ave minutos antes da ocorrência da morte, quando se observa perda de equilíbrio, violento bater de asas e uma forte contração muscular. O evento fatídico ocorre entre 30 e 70 segundos após as aves emitirem um grito agudo que muitas vezes é ouvido pelo tratador. Dificilmente pode se diferenciar as aves que morreram por SMS pelo seu comportamento anterior ao evento ou pela posição post mortem. Porém, quando presentes, podem auxiliar no diagnóstico diferencial, se essas observações forem associadas aos achados necroscópicos.

Algumas modificações macroscópicas são indicativas de morte por SMS, tais como aparência saudável da ave, carcaça em bom estado, trato digestivo cheio e com alimento recém ingerido no ingluvío ou moela, vesícula biliar pequena ou vazia e ausência de lesões específicas de outras doenças. A presença de alimento no trato digestivo e a vesícula biliar vazia indicam que a morte não é precedida por morbidade.

Devido ao caráter agudo da morte por SMS, as observações necroscópicas observadas no coração, pulmão e fígado, órgãos que poderiam estar envolvidos primariamente na causa mortis não são apontadas como de ocorrência freqüente. Pode ou não ser observada congestão ou edema pulmonar, congestão ou palidez do fígado, ventrículos cardíacos contraídos, coágulos sangüíneos nos átrios e ventrículos vazios ou átrios dilatados e cheios de sangue. Em muitas aves é possível verificar pequena dilatação do ventrículo direito. Também foram registrados casos de palidez de intestinos, fígado e rins de frangos. Entretanto, esses achados necroscópicos não são consistentes e, portanto, considerados inespecíficos.

Não há dados conclusivos, ainda, para se diagnosticar a SMS com base nos achados histológicos e, apenas um trabalho de pesquisa descreve as modificações histológicas no coração, pulmão e fígado, incluindo degeneração da miofibrila cardíaca, edema do miocárdio com infiltração heterofílica, acentuado edema pulmonar com células inflamatórias na mucosa dos brônquios secundários e hepatite periportal acompanhada de hiperplasia do ducto biliar. Somente em 1994, Kawada *et al.*, reportaram a existência de focos necróticos e lesões do tipo necrótica no miocárdio de aves com SMS, sugerindo que a morte ocorre como consequência de uma necrose progressiva do músculo cardíaco que se dá após inúmeros ataques cardíacos subletais.

Considerando que as aves que morrem por SMS não podem ser identificadas antes da ocorrência fatal e que modificações bioquímicas do sangue são importantes indicadores de doenças coronarianas em humanos, algumas pesquisas tentaram medir níveis de ions, lipídeos, ácido úrico, proteínas sangüíneas e atividade de enzimas do soro que pudessem auxiliar ou na predição ou no diagnóstico da SMS. Porém, os resultados mostraram-se contraditórios. Imaeda (1999) utilizando um protocolo com coleta de sangue no máximo após 30 minutos da morte por SMS, conseguiu um resultado consistente, com diferenças significativas nas atividades das enzimas da lactato-desidrogenase (LDH) e glutâmico-oxaloacético-transaminase (GOT) de aves mortas por SMS em relação a aves sadias sacrificadas. Como a elevação da atividade dessas duas enzimas ocorre em humanos com problemas cardíacos e há evidências que a morte súbita esteja relacionada com distúrbios do coração, o autor recomenda a avaliação desses parâmetros sangüíneos em pesquisas com SMS.

A dificuldade de distinguir a morte por SMS de outras causas é o principal problema de erros em pesquisas que envolvam o estudo dessa patogenia. Por isso, é necessário que nos trabalhos em que



se pesquisem a SMS, o protocolo de diagnóstico seja bem definido, uma vez que é realizado com base nos dados epidemiológicos e nos achados pós- morte. Assim, deveria haver um consenso na definição de um protocolo necroscópico entre os pesquisadores. Uma tentativa nesse sentido foi adotada por Gonzales (1992) com o uso de um protocolo onde os achados de necropsia são registrados em tabela ([Tabela 9](#)), respondendo as questões como uma afirmação ou negação, e o diagnóstico seria feito somente e quando todos os itens forem assinalados. Por exemplo, o diagnóstico de morte por SMS é dado quando houver uma das duas condições:

- 1) Todos os itens da Tabela são respondidos como SIM.
- 2) Todos os itens da Tabela são respondidos como SIM, exceto c, e, f, g que eventualmente podem NÃO ocorrer.

Tabela 9 - Caracterização macroscópica de morte súbita.		
Característica	Sim	Não
a) Bom desenvolvimento, peso igual ou superior à média do lote		X
b) Trato gastrintestinal com alimento		X
c) Coração dilatado, aurículas cheias de sangue	X	X
d) Vesícula biliar pequena ou vazia		X
e) Fígado congesto	X	X
f) Pulmão congesto/com edema	X	X
g) Encontro da ave em decúbito dorsal	X	X
h) Ausência de lesões por outras causas		X

## Fatores predisponentes à ocorrência de SMS em frangos

### Genética

Existe uma diferença de incidência de mortalidade por SMS nas linhagens comerciais de frangos selecionados para crescimento rápido. As linhagens que apresentam maiores ganhos de peso na fase inicial de criação e, principalmente, os machos ([Tabelas 6 e 10](#)), quando criados sob condições de temperatura de inverno apresentam maiores incidências de mortes por SMS. As mortes ocorrem em aves mais pesadas, acima do peso médio do lote.

Tabela 10 - Incidência de mortalidade total e devida à SMS no período de um a 52 dias de criação de frangos machos e fêmeas.				
Mortalidade				
Total	SMS			
Sexo	%	no	no	IR/Total <sup>1</sup>
%	no			
Macho	5,50a		55/1000	
1,30a		13/1000	23,64	
Fêmea	3,21b		32/995	
0,71b		7/995	22,12	
1 IR/Total = índice relativo sobre o número de mortos total.2 A análise estatística foi realizada com os dados percentuais transformados em $(x + 0,05)^{-1}$ . no = número de mortes/número inicial de aves.a <sup>1</sup> b Na mesma coluna, significativo pelo teste SNK.Gonzales (1992).				

### Densidade nutricional

A incidência de SMS é sempre mais elevada quando a densidade nutricional da ração é alta, já que determinam um incremento no crescimento, com conseqüente aumento da taxa metabólica. O alto nível energético associado com alto nível protéico nas rações para frangos são apontados como fatores predisponentes da SMS e, o nível de energia parece ser o mais importante. A suplementação vitamínica ou mineral na ração em níveis superiores aos recomendados não melhora o quadro de SMS.

### Influência do tipo de ingrediente

Os ingredientes que determinam uma maior atividade metabólica (gordura animal, farinha de peixe, glicose monoidratada e subprodutos de abatedouros avícolas, tais como, óleo de frango e farinha de vísceras), aumentam a demanda de oxigênio tecidual e, potencialmente, podem induzir a um aumento na incidência de mortes por SMS e ascite, secundária a uma hipertensão pulmonar. Injeções de ácido láctico no papo podem causar a SMS num período de 1 minuto a 2 horas após aplicação, conforme a dieta que a ave está submetida.

Pequenas alterações (desprezíveis) nas quantidades de cálcio e fósforo na dieta constantemente acima das recomendações do National Research Council podem levar a um desbalanceamento metabólico em certas linhagens de frangos, aumentando a suscetibilidade à mortalidade por SMS.

### **Forma de apresentação das rações**

Foi levantada a hipótese que a peletização da ração propicia um aumento na incidência de SMS por alterar a ingestão de proteína, uma vez que se observa um consumo maior de alimento quando a ração é granulada. Nesse caso, o fator envolvido na indução de mortalidade por SMS é, mais uma vez, o aumento da atividade metabólica. Quando suplementos protéicos (farelo de soja, farinha de canola e de peixe) são submetidos ao processo de peletização, fator(es) tóxico(s) produzido(s) durante o processo podem também predispor à morte por SMS.

### **Inter-relação nutrição, consumo de ração e condições ambientais**

Como a temperatura ambiente exerce grande influência sobre o desempenho dos frangos, o maior consumo de ração no inverno pode ser considerado como um fator acelerador do crescimento, evidenciando uma possível relação de ganho de peso, consumo de ração e estação do ano na incidência de mortalidade por SMS.

O esquema de iluminação contínuo (23 ou 24 horas de luz) pode ser um fator predisponente para o aparecimento da SMS, uma vez que permite um maior consumo de ração com conseqüente aumento do ganho de peso e das exigências metabólicas.

### **Programas de alimentação**

Estudos recentes mostraram que é possível controlar a mortalidade total e por problemas metabólicos em lotes de frangos utilizando-se a restrição alimentar por um período curto (máximo sete dias), durante os estágios iniciais de crescimento (até a segunda semana de idade) com um mínimo de prejuízo produtivo. Porém, outros resultados demonstram que o benefício econômico do uso da técnica de controle da SMS somente é conseguido quando a prevalência de SMS é alta, como no período de inverno ([Tabela 11](#)).

**Tabela 11** - Resultados finais (49 dias) de desempenho e mortalidade de frangos de corte machos submetidos a restrição alimentar quantitativa entre o 8o e 14o dias de idade, no inverno (julho a setembro) e verão (fevereiro a abril).

Nível de Restrição %	Mortalidade			
	PMF <sup>1</sup> G	CA <sup>1</sup>	Total %	SMS %
<b>Inverno<sup>2</sup></b>				
0	2754*	1,94*	13,00**	3,67
10	2722	1,96	7,67	0,33
20	2738	1,95	7,67	1,00
30	2723	1,91	4,67	0,67
40	2668	1,93	2,67	1,33
50	2658	1,90	5,33	1,33
<b>Verão<sup>3</sup></b>				
0	2420*	2,04*	3,67	0,67
10	2417	2,05	5,20	1,20
20	2421	2,03	5,67	1,67
30	2392	2,03	2,00	1,00
40	2347	2,01	2,67	1,00
50	2314	2,02	2,33	0,33

\*Efeito linear significativo ( $p < 0,05$ ). \*\*Efeito quadrático significativo ( $p < 0,05$ ). <sup>1</sup>PMF = peso médio final; CA = conversão alimentar. <sup>2</sup>Temp. mínima:

7 °C; Temp. máxima: 30 °C.<sup>3</sup>Temp. mínima: 18 °C; Temp. máxima: 31 °C.  
Gonzales *et al.*, 1998a.

## Equilíbrio ácido-base

Pode-se observar uma tendência de maior incidência de mortalidade por SMS aos 42 dias de idade em frangos machos alimentados com níveis crescentes de sal na dieta (0,1 a 1,6% de NaCl). As tentativas de relacionar mortalidade por SMS e alterações no equilíbrio ácido-base induzido por um fator dietético são relevantes, porém, não conclusivas, havendo necessidade de maiores investigações nesta área de estudo.

## Discondroplasia tibial

Levantamento realizado nas companhias de produção de frangos nos EUA em 1993 indicou uma ocorrência de 3,3% de mortes e descartes de aves na linha de abate por problemas de pernas, resultando em uma perda anual estimada de US\$80 a 120 milhões. Dentre os problemas de pernas apontados (deficiências nutricionais, tendosinovites bacterianas, micotoxinas e deformações do tipo varus e valgus), uma das ocorrências mais importantes foi a discondroplasia tibial.

A discondroplasia tibial (DT) é uma anormalidade metabólica que ocorre em todas as aves de crescimento rápido, embora seja de ocorrência mais freqüente em frangos. É caracterizada pela formação de um plug ou massa anormal de cartilagem não vascularizada, pobremente mineralizada e tamanho irregular situada abaixo da placa epifisária e ocupando a metáfise da extremidade proximal dos ossos longos, principalmente na tíbia, daí a sua denominação. A DT em aves, semelhante a uma condição de osteocondrosis que ocorre nos mamíferos, foi descrita pela primeira vez por Leach & Nesheim em 1965 e assim denominada por Siller em 1970.

A incidência da DT aumentou consideravelmente na moderna criação para a produção de carne de aves (frangos, patos e perus) oriundas de linhagens geneticamente manipuladas para ter uma massa muscular muito maior do que os seus antecessores não selecionados. As linhagens comerciais de frangos de alta conformação apresentam, de modo geral, incidências similares de DT.

Esse distúrbio aparece freqüentemente entre a terceira e oitava semanas de vida do frango, sendo os machos os mais suscetíveis. Somente as linhagens pesadas apresentam o problema, evidenciando que o melhoramento genético do frango foi um fator muito importante no desenvolvimento dessa patologia. A incidência de casos clínicos de DT não é muito alta, cerca de 2%, mas a queda de desempenho e o descarte de aves no abatedouro por fraturas tornam-se economicamente relevantes.

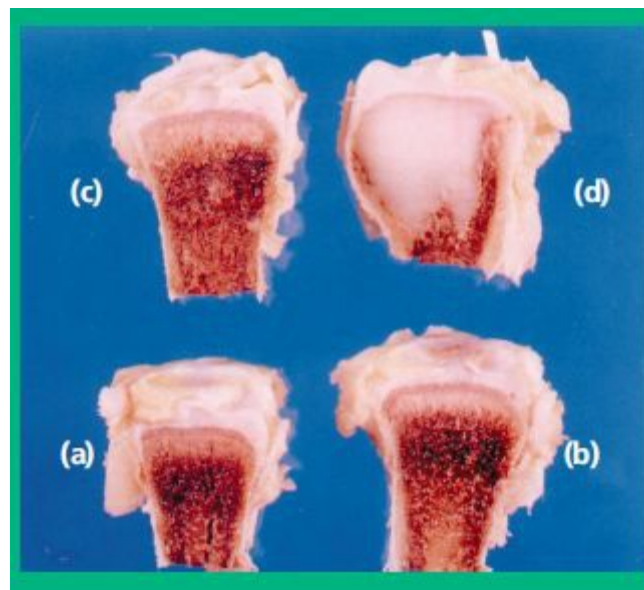
## Etiologia, sinais clínicos e diagnóstico

A calcificação da matriz cartilaginosa é um processo progressivo associado com a maturação dos condrócitos. Para que haja a calcificação da matriz cartilaginosa, deve ocorrer a proliferação, hipertrofia e degeneração dos condrócitos. Neste processo, numerosos eventos, com alterações morfológicas e bioquímicas profundas, ocorrem no disco epifisário dos ossos longos. Há síntese

de proteoglicanas e colágeno, constituintes da matriz extracelular, que posteriormente são degradadas por proteases e collagenases para dar lugar ao processo de mineralização. Essas enzimas são produzidas por células que alcançam a cartilagem hipertrófica através dos vasos sanguíneos que a invadem.

Há muitas dúvidas quanto ao processo que impede a diferenciação dos condrócitos, sendo atribuído a uma disfunção dos fatores autócrinos e parácrinos. No entanto, é fato bem aceito que a maturação dos condrócitos não ocorre devido à falta de vascularização. O resultado é a presença de uma massa cartilaginosa, amorfa, avascular e de tamanho variado dependendo da severidade da lesão. A cartilagem anormal observada no disco epifisário é, portanto, uma persistência da cartilagem pré- hipertrófica que não foi invadida pelos vasos sanguíneos da metáfise e que não sofre calcificação.

Histologicamente, a discondroplasia é identificada como um acúmulo da cartilagem avascular, composta de condrócitos não maduros, pequenas lacunas ovóides e com uma quantidade muito maior de matriz do que a cartilagem hipertrófica (**Figura 7**). Como já mencionado, a lesão é avascular, podendo ser notadas algumas áreas de necrose. Os estudos de ultraestrutura indicam que ocorre hipertrofia incompleta do condrócito. Utilizando-se a microscopia eletrônica, foi possível verificar que os condrócitos atingem apenas 40% do tamanho esperado e sofrem mudanças degenerativas que incluem dilatação do retículo endoplasmático e das cisternas de Golgi, inchaço mitocondrial e núcleo picnótico.



**Figura 7** - Porção proximal da tíbia de frangos de corte com 42 dias de idade.

- (a) - escore 0: placa de crescimento normal, sem espessamento;
  - (b) - escore 1: placa de crescimento com espessamento de aproximadamente 3 mm;
  - (c) - escore 2: placa de crescimento com espessamento até 6 mm;
  - (d) - escore 3 a 5: placas de crescimento com espessamento superior a 6 mm.
- (Cedido por Tânia S. Takita)

Estudos bioquímicos confirmaram a maioria dessas observações morfológicas, como: redução na capacidade oxidativa das células, alterações nos precursores de prostaglandina, redução na habilidade de incorporar  $SO_4$  nas proteoglicanas, redução nos níveis de fosfatase alcalina, colágeno tipo X, fator de crescimento  $\beta_3$  e IGF-I.

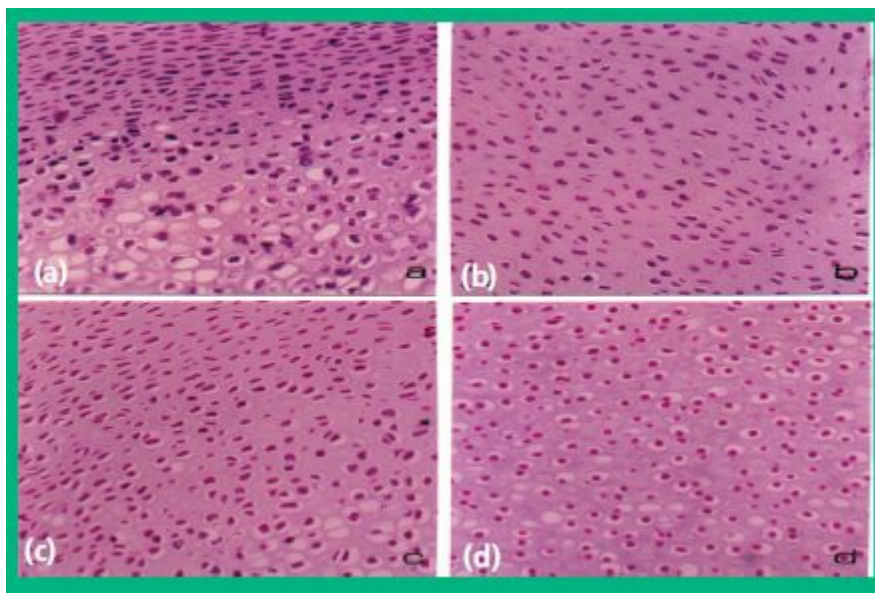
A discondroplasia em frangos pode envolver a cartilagem de conjugação (zona de crescimento de qualquer osso), mas ocorre mais freqüentemente na parte proximal da tíbia, podendo atingir, com menor incidência, a porção proximal do metatarso, distal da tíbia, proximal do fêmur e úmero. O motivo atribuído para a maior ocorrência do problema na tíbia é a sua taxa de crescimento, muito maior do que nos demais ossos longos.

A ave com DT apresenta andar cambaleante ou permanece imóvel, sinalizando um processo doloroso. Com isso, deixa de se alimentar e beber água, com prejuízo do desenvolvimento corporal. Os primeiros sinais de DT no lote podem ser verificados a partir da segunda semana de criação, atingindo o pico de incidência na quarta semana. As aves que não são afetadas com severidade aparentemente se recuperam, mas o desempenho do lote no final do período de criação é prejudicado.

As lesões secundárias associadas com a DT são: curvatura da porção proximal da tíbia, fratura das fíbula e defeitos de angulação da articulação intertarsal. A prevalência da discondroplasia em frangos é normalmente de 1 a 2%, com incidência entre 40 a 50% em populações severamente afetadas. Além do descarte de aves durante o período de criação (refugadas por problema de pernas), a DT é freqüentemente associada com perdas nos abatedouros devido a fraturas tibianas.

A identificação macroscópica da discondroplasia na ave morta pode ser feita seccionando-se longitudinalmente o osso e visualizando-se a placa de crescimento. Com esse método é possível classificar o grau de severidade das lesões, atribuindo-se um escore de 0 a 3. O escore 0 significa ausência de lesão, sem cartilagem abaixo da epífise. No escore 1, pode-se observar uma placa cartilaginosa com espessamento de aproximadamente 3 cm. Ossos que apresentem placas com largura até 6 cm são classificados como de escore 2. Placas com espessamento superior a 6cm, atingindo quase toda a região epifisária do osso recebe escore 3 ([Figura 7](#)).

Histologicamente, a caracterização da severidade da DT recebe o seguinte escore: 0 = placa de crescimento normal; 1 = placa de crescimento com regiões de acúmulo de condrócitos pré-hipertróficos; 2 = placa de crescimento com uma banda larga e distinta de condrócitos pré-hipertróficos; escores 3 a 5 = placas de crescimento apresentando mudanças degenerativas no citoplasma e núcleos dos condrócitos ([Figura 8](#)).



**Figura 8** - Cortes longitudinais da porção proximal da tíbia de frangos de corte com 42 dias de idade.

(a) - escore 0: placa de crescimento normal;

(b) - escore 1: placa de crescimento com regiões de acúmulo de condrócitos pré-hipertróficos;

(c) - escore 2: placa de crescimento com banda larga e distinta de condrócitos pré-hipertróficos;

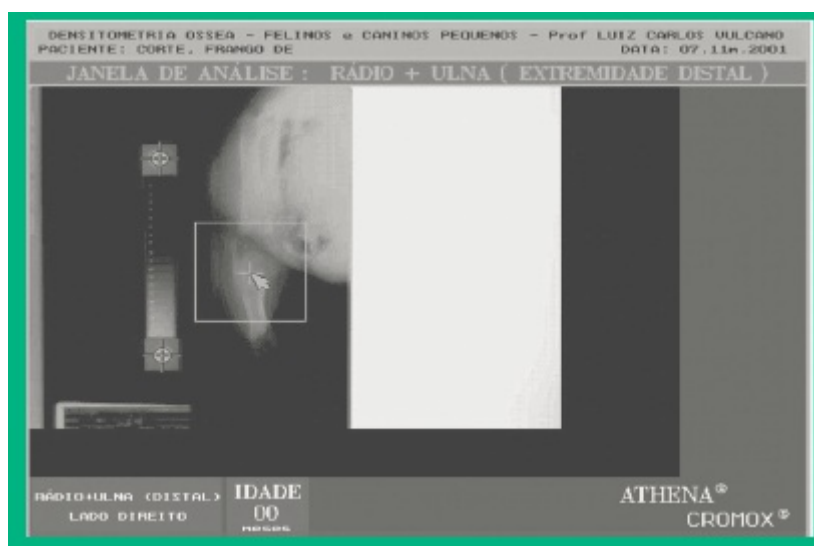
(d) - escore 3 a 5: placas de crescimento apresentando mudanças degenerativas no citoplasma dos condrócitos.

Coloração HE, x175 (Cedido por Tânia S. Takita)

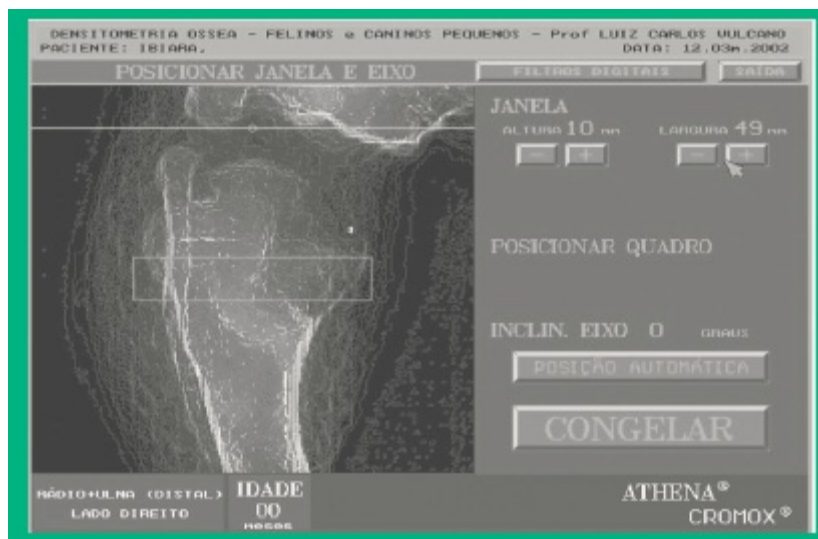
Em aves vivas a discondroplasia pode ser identificada radiograficamente, de um modo muito prático a partir da segunda semana de idade com o uso de um fluoroscópio portátil de raio X, denominado lixiscópio. Também com o uso do lixiscópio é possível a classificação da DT em escores, de modo semelhante às observações macroscópicas do osso dissecado. Apesar do método ser muito útil para a seleção de famílias com baixa incidência de DT a diferenciação entre os escores 0 e 1 com o aparelho é muito difícil, o que exige a confrontação dos resultados com métodos mais precisos. Tanto a observação macroscópica quanto a identificação radiográfica são inconclusivos para a avaliação da incidência e severidade das lesões por DT e a histopatologia é requerida para distinguir algumas lesões de outras patologias da placa de crescimento.

Existe ainda um outro método radiológico de detecção de lesões por DT denominado densitometria óptica radiográfica. Esta metodologia de avaliação é baseada na comparação de tons de cinza da região óssea analisada com os tons de cinza de uma escala de alumínio com densidade pré-defina (phantom), radiografada simultaneamente ao animal. As radiografias são então escaneadas e um programa computacional emite um relatório com o valor da densidade mineral óssea, expresso em milímetros de alumínio, no local avaliado. O alumínio é o metal escolhido para esta comparação, pois sua densidade é muito semelhante à densidade da hidroxiapatita, forma pela qual o cálcio e o fósforo ósseos são ligados (**Figuras 9, 10 e 11**)

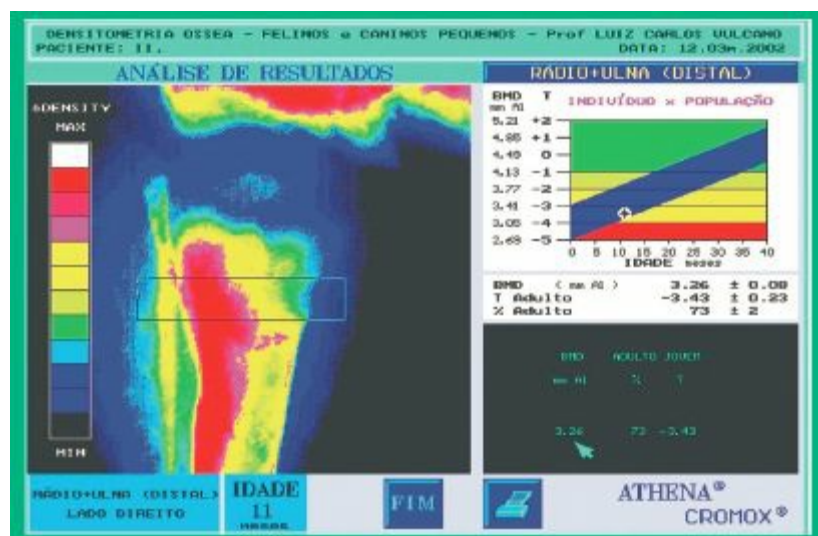




**Figura 9** - Radiografia da região óssea afetada por DT inserida no programa computacional.



**Figura 10** - Imagem gerada pelo programa computacional, com janela de leitura de densidade óptica radiográfica posicionada.



**Figura 11** - Cálculo da densidade mineral óssea (mm de Al), por meio da técnica de densitometria óptica radiográfica.

Os valores de densidade mineral óssea das regiões onde existe lesão de DT elevam-se com o aumento do grau de lesão (**Tabela 12**). Isto é explicado devido aos elevados valores de densidade

óssea das regiões onde a lesão está em processo de implantação. Nos locais onde há o aparecimento da cartilagem de discondroplasia, os valores de densidade óssea são bastante diminutos. Porém, a técnica de densitometria óptica radiográfica permite a realização da leitura integral da região da epífise óssea. Desta forma, obtém-se a média de valores de densidade óssea entre as regiões com cartilagem implantada e regiões com estabelecimento de lesão, o que causa um aumento nos valores de densidade dos ossos lesionados. Isto ocorre por que as regiões limitrofes à lesão caracterizam-se por uma esclerose óssea que aumenta os valores de densidade óssea da estrutura óssea estudada ([Tabela 13](#)). Estas áreas podem aparecer mais radio-densas durante uma nova deposição óssea, ou ainda, devido a uma mineralização dos osteócitos mortos, apresentando valores elevados de densidade.

Tabela 12 - Valores de densidade mineral óssea (DMO) e escore histológico das lesões por discondroplasia tibial.	
Lesão por discondroplasia tibial	DMO (mmAl)
Sem lesão	1,46 -1,77 ( $\pm$ 0,03)
Lesão inicial	1,80 -2,31 ( $\pm$ 0,04)
Lesão média	2,34 – 2,91 ( $\pm$ 0,07)
Lesão grave	2,96 – 3,32 ( $\pm$ 0,05)

Tabela 13 - Densidade mineral óssea (DMO) de regiões da epífise proximal de tíbias com cartilagem de discondropasia implantada (CDI) e regiões em processo de estabelecimento de lesão (RPI).

Escore em processo histológico de implantação	Cartilagem discondroplásica	Região
DMO (mmAl)	implantada	DMO (mmAl)
1 1,38		2,27
2 3,68		1,36
3 1,34		5,31

Sendo assim, a monitoria de lesões de DT pode ser realizada por muitas técnicas, dependendo de seu objetivo. Quando a avaliação é realizada em aviários de produção de frangos de corte, visando a monitoria de índices de incidência, a metodologia mais utilizada é o exame macroscópico realizado durante a necropsia das aves. No entanto, quando esta avaliação é realizada em reprodutores, visando o melhoramento genético e desenvolvimento de linhagens mais resistentes à incidência de DT, técnicas mais avançadas e precisas, como o exame radiológico associado ou não ao exame histopatológico da região afetada devem ser empregados.

## Fatores relacionados com a ocorrência de DT

### Genético

A discondroplasia tibial foi objeto de investigação de muitos melhoristas desde que Leach & Nesheim (1965) demonstraram participação genética em sua incidência. Sheridan et al. (1978) estima a herdabilidade ( $h^2$ ) da discondroplasia em 0,43 na primeira geração, o que não é baixa. Seus resultados sugeriram envolvimento de efeitos ambientais e a presença de um gene recessivo, ligado ao sexo, na linha materna. A DT é significativamente menor em aves machos, de tamanho normal mas heterozigotas (DW/dw) para o gene do nanismo ligado ao sexo, do que nas aves de tamanho normal homozigotas dominantes (DW/DW). Esses estudos demonstraram que é possível se obter, através da seleção, famílias de aves com baixa e alta incidência de DT.

Nas linhagens de frangos comercializadas no Brasil entre 1997 e 1998 constatou-se diferença na incidência de DT, maiores nas aves machos de linhagens de alto desempenho e menor nas não selecionadas (**Tabela 14**), sugerindo que os problemas de pernas são influenciados pela velocidade de crescimento da ave. Observou-se, ainda, que as aves de desenvolvimento lento apresentavam características de crescimento ósseo bem definidas e morfologicamente diferentes daquelas de desenvolvimento rápido, o que muito provavelmente influencia a maior ou menor incidência da DT nas diferentes linhas genéticas de frangos.

Tabela 14 - Incidência de discondroplasia tibial em frangos machos de linhagens comerciais.				
Ross Label	Cobb		Isa	
Escores1 %	n.aves n.aves	%	%	n.aves
1	49 75	68,05 100,00	47	68,12
2	14 0	19,44 0,00	15	21,73
3	1 0	1,39 0,00	3	4,35
4	2 0	2,78 0,00	2	2,90
5	2 0	2,78 0,00	0	0,00
1Descrição de escores: 0 - placa de crescimento normal, 1 - placa de crescimento com regiões de acúmulo de condrócitos, 2 - placa de crescimento com banda larga de condrócitos pré-hipertróficos, 3 a 5 - discondroplasia tibial. Adaptado de Takita (1998).				

Também foi observado que há um efeito da idade da matriz sobre a incidência de DT na progênie, observando-se uma tendência de maiores taxas de incidência em frangos oriundos de matrizes

mais novas, principalmente quando alimentados com ração de alta energia.

Associada ao componente genético na ocorrência de DT, os fatores dietéticos podem afetar a incidência dessa patologia. Isto é, mesmo linhagens selecionadas para baixa incidência de DT podem ter o problema agravado quando associado com balanços nutricionais inadequados.

## Equilíbrio ácido-básico

A proporção dietética de sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ) e cloro ( $\text{Cl}^-$ ), isto é, o balanço de eletrólitos monovalentes, são importantes determinadores no equilíbrio ácido-básico. O  $\text{Na}^+$  e o  $\text{K}^+$  são alcalinogênicos e o  $\text{Cl}^-$ , acidogênico. A concentração no plasma de bicarbonato, o qual constitui, junto com os fosfatos, o principal sistema tampão do sangue, é linearmente afetada pelo balanço de eletrólitos da dieta ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$  em mEq/kg de dieta). O excesso de  $\text{Cl}^-$  diminui o pH e os níveis de bicarbonato, enquanto o  $\text{Na}^+$  e o  $\text{K}^+$  têm efeito oposto.

Quando o equilíbrio ácido-básico é desviado para uma situação de alcalose ou acidose, os passos metabólicos são envolvidos prioritariamente na regulação homeostática em detrimento dos processos produtivos. Muitos experimentos com aves demonstraram que o balanço dietético de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  influencia o ganho de peso, a eficiência da utilização de alimento, o consumo de água, o metabolismo da vitamina D, a incidência de discondroplasia tibial e o antagonismo lisina-arginina nas aves. Quando há excesso de  $\text{Cl}^-$  na dieta, ocorre acidose metabólica que prejudica a mineralização dos ossos longo, ocorrendo maior incidência de DT.

A principal fonte de proteína da ração de frangos é o farelo de soja. Quando outra fonte é usada, por exemplo farinha de carne, farinha de peixe, farelo de canola, pode ocorrer modificação do balanço ácido-básico que normalmente não é levada em consideração pelo nutricionista e que pode funcionar como um fator agravante para o desenvolvimento de DT.

## Metabolismo da vitamina D

A acidose metabólica determina uma redução na conversão da Vitamina D<sub>3</sub> na sua forma biologicamente ativa 1,25-diidroxicolecalciferol (1,25 [OH]<sub>2</sub> – D<sub>3</sub>). A hidroxilação é um processo de duas etapas no qual a vitamina D<sub>3</sub> é convertida no fígado em 25-hidroxicolecalciferol e, posteriormente, a 1,25-diidroxicolecalciferol no rim. A acidose induzida por HCl diminui a hidroxilação no rim. Com isso, pode ocorrer uma má mineralização dos ossos, mais evidente quando há uma deficiência acentuada de  $\text{K}^+$  na dieta.

## Níveis de cálcio e aminoácidos

Foi observado que dietas com níveis marginais ou deficientes de  $\text{Ca}^{2+}$  (0.5%) e excesso de aminoácidos (120% do recomendado pelo NRC) reduzem a calcificação dos ossos de frangos, sem prejuízo do seu crescimento. Isto pode resultar em maior incidência de DT, aumento do descarte de aves durante o período de criação e perdas de aves no abatedouro por fraturas dos ossos longos.

## Deficiência de cobre e níveis de cistina e homocistina

Dietas deficientes em cobre aumentam a incidência de DT em linhas de frangos suscetíveis.

Altos níveis de aminoácidos sulfurados – cistina e homo- cistina – também causam DT. Devido ao fato de que a deficiência de cobre pode induzir a DT, elaborou-se a hipótese de que uma dieta com alto nível de homocistina pode levar a deficiência desse mineral, que determina um aumento da incidência de DT. A suplementação de 250 mg/kg de cobre na dieta reduz o problema, provavelmente, porque diminui a biodisponibilidade da homocistina. Entretanto, a suplementação extra de cobre não previne o efeito do alto nível de cistina (150 a 300 mg/kg) o qual mostra-se reduzido com a adição de molibdênio.

Não são conhecidos os mecanismos pelos quais esses aminoácidos sulfurados aumentam os casos de DT mas, provavelmente, os grupos sulfridil reativos devem estar envolvidos porque são agentes acidificantes. Essa ação, não tão significativa quanto a determinada pelo excesso de Cl- na dieta, pode ocorrer devido à ligação do excesso de enxofre com o cálcio que seria eliminado pelos rins. Redução do problema pode ser alcançada com a adição de mais 0,10 pontos percentuais (pp) do nível de cálcio já existente na dieta, caso haja boa disponibilidade de sulfatos na ração (por ex., farelo de canola).

### Relação Cálcio: Fósforo

Para os frangos a proporção de 2 partes de cálcio para 1 de fósforo disponível é recomendável; no entanto, quando não há um balanço adequado devido ao excesso de fósforo da dieta a incidência de DT aumenta.

### Contaminação da dieta

Dietas contendo matérias primas contaminados com fungo do gênero *Fusarium* determinam aumento de DT em frango devido à presença da micotoxina fusarocromanona. A mínima quantidade 4 a 5 mg/kg dessa toxina no alimento é suficiente para induzir casos de discondroplasia no lote. Com 75 ppm da toxina na ração pode ser observado 100% de DT no lote.

Ração contaminada com 30 ppm do fungicida orgânico (dissulfito de tetrametiltiuram) induziu DT em aves Leghorn de 3 a 4 semanas; contudo, não há relatos de DT em frangos que consumiram ração contaminada com esse fungicida.

### Condições do meio ambiente

Associado com o fator genético, as linhagens de frangos que apresentam maior incidência de DT sofrem influência da temperatura. Com temperaturas mais baixas o problema é agravado.

## Controle das enfermidades metabólicas dos frangos

A manutenção dos tecidos magros do corpo requer mais energia e oxigênio do que a manutenção de outros tecidos. Logo, é inevitável que aves de crescimento mais rápido sejam em geral mais suscetíveis a processos que determinam hipóxia tecidual.

O controle a longo prazo de perdas induzidas pelos distúrbios metabólicos só poderá ser obtida através do melhoramento genético, selecionando-se frangos resistentes às síndromes, paralelamente com as demais características desejáveis.

A curto prazo a incidência das doenças metabólicas em frangos podem ser minimizadas com o uso de programas de manejo que determinem alteração na curva de crescimento das aves, possibilitando:

1. Deposição muscular mais tardia, com maior período para amadurecimento dos sistemas respiratório e cardíaco;
2. Diminuição da taxa metabólica com conseqüente queda do requerimento de oxigênio durante a fase inicial de crescimento.

Tais programas também ajudam a estabelecer um melhor desenvolvimento dos ossos da perna, ao mesmo tempo que melhoram a eficiência alimentar.

### Medidas práticas para o controle dos distúrbios metabólicos

As medidas práticas para combater os fatores predisponentes são:

1. Não estimular excessivamente o crescimento corporal nas duas primeiras semanas de vida como: programas de restrição de alimento, programas de fotoperíodo a partir de 4 dias de idade.
2. Usar dietas com baixa densidade de nutrientes na fase inicial e na forma farelada em todas as fases;
3. Usar programas de luz com maior período de escuro para manter as aves menos ativas e diminuir o consumo de alimento (principalmente no inverno);
4. Utilizar dietas com baixa energia, porém evitando o aumento na ingestão de alimentos e conseqüente excesso de proteínas que demandam energia (oxigênio) para serem desaminadas e excretadas.
5. Reduzir o excesso de proteína na dieta, utilizando matéria-prima de qualidade e especialmente, aminoácidos sintéticos para permitir um adequado balanço de aminoácidos;
6. Proteger a ração com antioxidantes;
7. Suplementar a ração, principalmente na fase inicial, com vitamina C protegida.
8. Observar com atenção o balanço entre cálcio e fósforo da ração.
9. Avaliar a dieta com relação aos níveis de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ . Para o atendimento das necessidades de crescimento de frangos de corte, a relação  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  deve estar entre 0,5 e 1,8 e o balanço dietético de eletrólitos, expresso pela Equação de Mongin =  $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$  deve estar entre 250 e 300 mEq/kg.
10. Não utilizar matéria prima contaminada com micotoxinas;
11. Usar somente pintos de qualidade;
12. Manter a temperatura do galpão nas 2 primeiras semanas de vida o mais uniforme possível;

13. Evitar o excesso de poeira, CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub> no galpão, mantendo uma ventilação adequada;
14. Usar aquecedores (campânulas) de qualidade e bem reguladas, para reduzir a produção de monóxido de carbono e manter constante a temperatura principalmente nas duas primeiras semanas de vida dos pintainhos.
15. Reduzir as causas de comprometimento pulmonar (tais como: poeira, amônia, aspergilose, frio, patologias pulmonares).

No caso específico de discondroplasia tibial, quando há suspeita de problemas relacionados com a conversão da vitamina D3 pelo fígado, recomenda-se o uso do 25(OH)D3, já disponível no mercado para suplementação das dietas de frangos de corte, poedeiras e reprodutores. O uso de 1,250 mcg de 25(OH)D3 equivale a 50 UI de vitamina D3 ou 0,10 mg do produto comercial a 1,25%. Com a suplementação de vitamina D nessa forma, aumenta a conversão renal, obtendo-se maior disponibilidade de 1,25-diidroxicolecalciferol, maior absorção de cálcio, melhor condrogênese (formação de cartilagem) e melhor osteogênese (formação de tecido ósseo).

Para efetuar um programa de restrição alimentar (qualitativa ou quantitativa) os seguintes cuidados devem ser seguidos:

1. Aplicação do programa em lotes com excelente desempenho na 1ª semana pós-eclosão;
2. Utilização nos períodos de maior ocorrência de mortalidade, isto é, no inverno;
3. Arraçoadamento simultâneo de todas as aves submetidas ao programa de restrição;
4. Abate das aves após 3 semanas do término do período de restrição.

## Bibliografia

- Almeida Paz ICL, Mendes AA, Takita TS, Vulcano LC, Guerra PC, Weschsler FS, Garcia RG. Tibial dyschondroplasia and bone mineral density. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2004; 6(4):207-212.
- Almeida Paz ICL, Mendes AA, Takita TS, Vulcano LC, Guerra PC, Weschsler FS, Garcia, RG, Takahashi SE, Moreira J, Pelícia K, Komiyama CM, Quinterio RR. Comparison of techniques of tibial dyschondroplasia assessment in broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2005; 7(1):27-31.
- Almeida Paz ICL, Bruno LDG. Bone mineral density: review. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2006; 8(2):69-74.
- Almeida Paz ICL, Mendes AA, Balog A, Vulcano LC, Komiyama CM, Takahashi SE, Cardoso KF, Silva MC, Garcia EA. Densidade mineral óssea de aves de interesse zootécnico: Aplicações. *Avicultura Industrial* 2007; 98(1152):35-39.
- Bottje WG, Wideman Jr RF. Potential role of free radicals in the pathogenesis of pulmonary hypertension syndrome. *Poultry and Avian Biology Reviews* 1995; 6(3):211-231.
- Campos Neto M, Campos EJ. Suscetibilidade de linhagens de frangos de corte à síndrome



ascítica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2004; 39(8):803-808.

Cherian G. Metabolic and cardiovascular diseases in poultry. ***Poultry Science*** 2007; 86:1013-1016.

Decuypere E, Buyse J, Buys N. Ascites in broiler chickens: exogenous and endogenous structural and functional causal factors. *World's Poultry Science Journal* 2000; 56(4):367-377.

Druyan S, Ben-David A, Cahaner A. Development of ascites-resistant and ascites-susceptible broiler lines. *Poultry Science* 2007; 86:811-822.

Fontes Sf, Hernandez R, Macari M, Bernal FM. Viscosidade do sangue como parâmetro de diagnóstico da síndrome ascítica em linhagens de frangos de corte com diferentes suscetibilidade. *Revista Brasileira de Ciência Avícolas* 2000; 2(1):45-51.

Gonzales E. Estudo da síndrome da morte súbita em frangos de corte [tese]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 1992.

Gonzales E, Junqueira OM, Macari M, Andreatti Filho RL, Garcia EA. Uso da restrição alimentar quantitativa para o controle da mortalidade de frangos de corte machos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 1998a; 27(1):129-136.

Gonzales E, Buyse J, Takita TS, Sartori JR, Decuypere E. Metabolic disturbances in male broilers of different strains. 1. Performance, mortality and right ventricular hypertrophy. ***Poultry Science*** 1998b; 77:1646-1653.

Gonzales E, Buyse J, Sartori JR, Loddi MM, Decuypere E. Metabolic disturbances in male broilers of different strains. 2. Relationship between the thyroid and somatotrophic axes with growth rate and mortality. ***Poultry Science*** 1999; 78 (2):516-521.

Hemsley LA. The causes of mortality in fourteen flocks of broiler chickens. *Veterinary Records* 1965; 77(2):467-472.

Imaeda N. Characterization of serum enzyme activities and electrolyte levels in broiler chickens after death from sudden death syndrome. ***Poultry Science*** 1999; 78:66-69.

Julian RJ. The response of the heart and pulmonary arteries to hypoxia, pressure, and volume: a short review. *Poultry Science* 2007; 86:1006-1011.

Kawada M, Hirosawa R, Yanai T, Masegi T, Ueda K. Cardiac lesions in broilers which died without clinical signs. *Avian Pathology* 1994; 23:503-511.

Leach Jr RM, Lilburn MS. Current knowledge on the etiology of tibial dyschondroplasia in the avian species. *Poultry Science Review* 1992; 4:57-65.

Leeson S, Diaz G, Summers JD. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. Ontario: University Books; 1995. 352p.

Lubritz DL, Smith JL, McPherson BN. Heritability of ascites and the ratio of right to total ventricle weight in broiler breeder male lines. **Poultry Science** 1995; 74:1237-1241.

Luger D, Shinder D, Yahav S. Hyper- or hipothyroidism: its association with the development of ascites syndrome in fast- growing chickens. *General and Comparative Endocrinology* 2002; 127(3):293-299.

Macari M, Furlan RL, Gonzales E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP; 2002. 375p.

Maxwell MH, Robertson GW, Moseley D. A biochemical marker of heart damage in young commercial broiler chicks. **British Poultry Science** 1996; 37suppl:85-86.

Maxwel MH, Robertson GW. World broiler ascites survey 1996. *Poultry International* 1997; 36:16-30.

Mcgovern RH, Feddes JJR, Robinson FE, Hanson JA. Analysis of right ventricular areas do assess the severity of ascites syndrome in broiler chickens. **Poultry Science** 1999a; 78:62-65.

Mcgovern RH, Feddes JJR, Robinson FE, Hanson JA. Growth performance, carcass characteristics, and the incidence of ascites in broilers in response to feed restriction and litter oiling. **Poultry Science** 1999b; 78:522-528.

Neto MG. Lesões macroscópicas e a síndrome ascítica em diferentes linhagens comerciais. In: *Anais da Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas*; 1994; Santos, SP. Brasil. Campinas: FACTA; 1994. p.81-82.

Olkowski AA, Classen HL. Sudden death syndrome in broiler chickens: a review. *Poultry and Avian Biology Reviews* 1995; 6(2):95-105.

Olkowski AA. Pathophysiology of heart failure in broiler chickens: structural, biochemical, and molecular characteristics. **Poultry Science** 2007; 86:999-1005.

Pizauro Júnior JM, Ciancaglini P, Macari M. Discondroplasia tibia: Mecanismos de lesão e controle. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2002; 4(3):169-186.

Rosário MF, Silva MAN, Martins E, Savino VJM, Coelho AAD. Influência do genótipo e do sexo sobre o valor hematócrito em galinhas reprodutoras pesadas. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2000; 2(3):281-286.

Silversides FG, Lefrancois MR, Villeneuve P. The effect of strain of broiler on physiological parameters associated with the ascites syndrome. **Poultry Science** 1997; 76(5):663-667.

Takita TS. Efeito do genótipo, do ambiente e da interação genótipo x ambiente na incidência de discondroplasia tibial em frangos de corte machos [dissertação]. Botucatu: Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista; 1998. 43p.

Wideman Jr. RF, Bottje WG. Current understanding of the ascites syndrome and future research

direction. In: Proceedings of the Nutritional and Technical Symposium, Novus, St.Louis; 1993.

Wideman Jr. RF, Chapman ME, Hamal KR, Bowen OT, Lorenzoni AG, Erf GF, Anthony NB. An inadequate pulmonary vascular capacity and susceptibility to pulmonary arterial hypertension in broilers. **Poultry Science** 2007; 86:984-998.

Seção **10**  
**Enfermidades tóxicas**

**10.1 - Enfermidades tóxicas** **1003**

*Marcos Barcellos Café, Maria Auxiliadora Andrade, Patrícia Tironi  
Rocha*

<b>Introdução</b>	<b>1003</b>
<i>Conceitos básicos da toxicologia</i>	1003
<b>Respostas fisiológicas das aves às intoxicações</b>	<b>1004</b>
<b>Intoxicações por ingredientes de rações</b>	<b>1005</b>
<i>Minerais</i>	1006
<i>Vitaminas</i>	1006
<i>Aminoácidos sintéticos</i>	1006
<i>Cloreto de sódio</i>	1006
<i>Bicarbonato de sódio</i>	1006
<i>Uréia</i>	1006
<b>Intoxicações por medicamentos</b>	<b>1008</b>
<i>Antibióticos</i>	1008
<i>Sulfonamidas</i>	1009
<i>Nitrofuranos</i>	1009
<i>Arsenicais</i>	1009

<i>Anticoccidianos</i>	1010
<i>Anti-Helmínticos</i>	1010
<i>Antifúngicos</i>	1012
<b>Intoxicações por defensivos agropecuários</b>	<b>1012</b>
<i>Inseticidas - Acaricidas</i>	1013
<i>Rodenticidas</i>	1013
<i>Herbicidas</i>	1013
<b>Intoxicações por desinfetantes</b>	<b>1014</b>
<b>Intoxicações por gases tóxicos</b>	<b>1015</b>
<b>Intoxicações por plantas tóxicas</b>	<b>1016</b>
<b>Intoxicações por produtos e subprodutos industriais</b>	<b>1017</b>
<b>Diagnóstico das intoxicações</b>	<b>1017</b>
<b>Tratamento das intoxicações</b>	<b>1018</b>
<b>Prevenção e controle das intoxicações</b>	<b>1018</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>1019</b>

Marcos Barcellos Café, Maria Auxiliadora Andrade, Patrícia Tironi Rocha

## Introdução

A enfermidade tóxica pode ser conceituada como uma doença cujo agente etiológico é uma substância tóxica. Esta, por sua vez é uma substância que, quando em contato com o organismo, produz alterações funcionais ou orgânicas causando danos à saúde animal, ou mesmo a morte. A intoxicação é o efeito nocivo que se produz quando uma substância tóxica é ingerida ou entra em contato com a pele ou as membranas mucosas. Entre os mais de 12 milhões de produtos químicos conhecidos, menos de 3.000 causam a maioria das intoxicações. Contudo, praticamente qualquer substância ingerida em grande quantidade pode ser tóxica.

Na avicultura industrial, a ocorrência de enfermidades tóxicas ou intoxicações é relativamente pouco freqüente, embora a literatura contenha muitas referências a respeito do assunto. A importância dessas enfermidades na patologia avícola é limitada, uma vez que as perdas numéricas e econômicas advindas das intoxicações são significativamente inferiores às perdas produzidas pelas enfermidades infecciosas, parasitárias e nutricionais. Mesmo sendo de menor importância econômica, o patologista ou o sanitarista deve reconhecer, diagnosticar, tratar e prevenir as intoxicações de maior ocorrência na avicultura, já que vários agentes químicos utilizados comumente na avicultura industrial são potencialmente tóxicos, bastando um simples erro de manipulação, pesagem ou de mistura para causar efeitos nocivos ou prejudiciais à produção avícola.

O objetivo do presente capítulo é o de informar, em linhas gerais, quadros mais freqüentes das intoxicações na avicultura industrial. Dado à natureza ampla do assunto, em princípio, procurou-se abordar as intoxicações obedecendo ao critério da substância causadora da enfermidade, segundo sua natureza química e sua importância para a avicultura.

## Conceitos básicos da toxicologia

A toxicologia pode ser definida como a ciência que estabelece os limites de segurança dos agentes químicos ou físicos, entendendo-se como segurança a probabilidade de uma substância não produzir danos em um sistema biológico em condições específicas.

A **toxicidade** de uma substância depende da relação exposição/ efeito, ou seja, de uma relação dose/resposta, na qual a resposta do organismo é dependente da dose do agente tóxico, assim, pode-se afirmar que, qualquer substância pode ser tóxica, dependendo do seu grau de exposição, o que caracteriza a dose tóxica.

A **letalidade** é um índice preciso e quantificável que informa a potência de um agente tóxico, embora não informe suas propriedades. A letalidade é expressa pela dose letal 50 (DL50) ou dose

letal média, que pode ser definida como a dose de uma substância que determina a morte de 50% de uma população de uma mesma espécie em condições experimentais.

A **exposição a um agente tóxico** pode ser aguda, quando a dose total do tóxico é liberada num único evento e rapidamente absorvida, ou crônica, quando liberada em eventos periodicamente repetidos durante um período de tempo. Ressalta-se que uma exposição aguda pode determinar um efeito crônico, da mesma forma, uma exposição crônica pode levar a uma resposta aguda. Normalmente o efeito agudo é de aparecimento rápido e geralmente de curta duração, enquanto que o efeito crônico é de aparecimento mais lento e insidioso e de duração mais prolongada. O efeito pode ser local ou sistêmico, dependendo da ação do tóxico em relação ao local de contato, no caso de efeito local a ação deletéria é causada no sítio de contato, enquanto que o efeito sistêmico ocorre quando a ação do agente tóxico ocorre distante do local de contato.

A **biotransformação** do agente tóxico no organismo das aves depende de vários fatores, contudo essas transformações podem ser basicamente agrupadas em quatro estágios: absorção, distribuição, metabolização e excreção. Um ponto comum e de fundamental importância entre esses diferentes estágios é o movimento do agente tóxico através de membranas, quer celulares, quer de conjuntos de células. A passagem da molécula tóxica através da membrana depende de suas propriedades físico-químicas, principalmente da lipossolubilidade, moléculas lipossolúveis atravessam a membrana mais facilmente. Do grau de ionização, formas não ionizadas tem maior facilidade de movimentação entre membranas. Do tamanho, moléculas de menor peso molecular, abaixo de 500, em geral são mais permeáveis às membranas.

O movimento entre membranas, importante nos processos de biotransformação, se dá basicamente por difusão simples a favor de um gradiente de concentração; difusão facilitada, através de um transportador ou carrier, transporte ativo, através de um transportador e contra um gradiente de concentração com dispêndio de energia; ou ainda através de poros ou canais, que dependem de um gradiente de pressão osmótica ou hidrostática.

## **Respostas fisiológicas das aves às intoxicações**

As respostas fisiológicas das aves frente aos agentes tóxicos dependem do tipo do agente tóxico e do grau ou dose de exposição, contudo, o quadro geral das intoxicações se assemelha em aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos. Normalmente, em um quadro de intoxicação, os sistemas digestivo, respiratório, cardiovascular, nervoso e urinário são os mais afetados e respondem no sentido de preservar a saúde da ave.

O sistema digestivo é o mais afetado nos episódios das intoxicações, uma vez que a maioria dos acidentes toxicológicos é consequência de ingestão de um agente tóxico. Quando o agente tóxico é ingerido pela ave, o trato gastrintestinal (TGI) é o primeiro sistema a sofrer o impacto deletério do agente tóxico. As defesas naturais do próprio TGI minimizam o impacto do agente tóxico. Inicialmente a substância pode ser neutralizada ou modificada pelo conteúdo gastrintestinal como muco, alimentos e secreções, pode ser diluída pela grande quantidade de água normalmente secretada no lúmen do tubo digestivo e, ainda, pode ser alterada pelos ácidos gástricos ou enzimas digestivas. Em consequência dos efeitos lesivos diretos do tóxico sobre o TGI se estabelecerá uma importante diarreia, com alteração de odor, cor e aspecto, às vezes importante



no diagnóstico, exemplificando tem-se o clássico aspecto riziforme da intoxicação por arsenicais ou o aspecto mucossanguinolento nas intoxicações por metais pesados. Além dos efeitos diretos sobre o TGI, o agente tóxico pode produzir alterações nas células colunares do intestino delgado levando a distúrbios absorptivos e, conseqüentemente, queda do desempenho produtivo das aves.

O fígado, em virtude do papel que desempenha no metabolismo, tem uma posição de destaque nos processos tóxicos. A duração e a intensidade da ação tóxica de uma determinada substância estão, muitas vezes, na dependência de sua metabolização por enzimas no microsomo hepático e, normalmente, o tóxico é metabolizado em produtos inativos que são excretados pela urina e bile.

Inúmeros agentes tóxicos são capazes de determinar lesões hepáticas, alguns se comportam como verdadeiras hepatotoxinas e produzem lesões específicas do tipo necrose zonal com infiltração gordurosa e reação inflamatória pobre, caracterizando uma hepatite tóxica, exemplos desse tipo de lesão são as intoxicações por crotalária (semente tóxica) e aflatoxinas.

Outro sistema bastante acometido nas intoxicações é o sistema respiratório, pois se constitui, também, em uma via de absorção e excreção de agentes tóxicos. Qualquer quadro de intoxicação se agrava com o comprometimento da função respiratória. O mecanismo de adaptação da respiração às necessidades periféricas se realiza por um sistema complexo de regulação que mantém as tensões parciais do oxigênio e gás carbônico dentro de limites estreitos. A ação tóxica de substâncias que possuem ação depressora sobre neurônios centrais determinando uma hipoventilação pulmonar, como nas intoxicações por gás carbônico e monóxido de carbono, leva as aves a uma insuficiência respiratória. A insuficiente renovação do ar alveolar produz um aumento da tensão parcial do gás carbônico e uma diminuição da tensão do oxigênio o que resulta em hipoxemia, traduzida por aves cianóticas, principalmente cristas e barbelas.

Além das ações indiretas sobre o sistema respiratório, algumas substâncias tóxicas agem diretamente sobre o trato respiratório causando lesões diretas sobre o mesmo, é o caso de partículas de pó suspensas no ar, gases e vapores irritantes que produzem inflamação sobre os tecidos com os quais entram em contato, assim pode-se observar rinites, bronquites, bronquiolites e até pneumonias em graus variados. O sítio de ação desses gases depende de sua solubilidade, dessa forma, gases mais solúveis, como a amônia, agem mais sobre as vias aéreas superiores e gases insolúveis, como dióxido de nitrogênio, agem basicamente sobre os pulmões.

O sistema cardiovascular desempenha papel importante nas intoxicações agudas, pois seus distúrbios decorrem da ação lesiva direta de agentes tóxicos sobre suas estruturas e mecanismos regulatórios, além de representar complicações no conjunto das intoxicações de um modo geral, mesmo sem efeito direto sobre os órgãos desse sistema.

Alguns poucos agentes tóxicos tem efeito direto sobre o coração, enquanto um grande número de outras substâncias age de forma secundária. O colapso cardiovascular, hipotensão arterial e choque, representam uma das maiores complicações das intoxicações agudas. Esse evento patológico normalmente é causado por: diminuição do volume plasmático, hipovolemia, verificado em hemorragias, hipoprotrombinemia, desidratação e hipotensão graves e estase sangüínea. Além do colapso cardiovascular, o quadro da intoxicação pode ser mais severo por alteração no equilíbrio eletrolítico do sangue, quando se estabelece uma acidose sangüínea, quer respiratória ou metabólica, agravando a saúde da ave.

O sistema nervoso das aves basicamente pode ser comprometido de duas formas: ação direta de agentes tóxicos que modificam a excitabilidade da célula nervosa ou alteram as transmissões nervosas, como por exemplo a estriçnina; e ação de drogas sobre os sistemas de regulação e de equilíbrio humoral, como, por exemplo eletrólitos.

As manifestações neurológicas podem ser conseqüentes a distúrbios metabólicos, distúrbios da vasomotricidade cerebral e distúrbios da função da célula nervosa. O cérebro e o sistema nervoso em geral vivem fundamentalmente de glicose e oxigênio e seu funcionamento normal depende de um equilíbrio hidroeletrolítico e metabólico corretos.

As relações entre as intoxicações e o sistema urinário são estreitas e de grande importância, já que os rins se constituem no principal órgão de excreção do agente tóxico e seus metabólitos. Os rins podem ser acometidos nas intoxicações pela ação direta do agente tóxico, que, concentrada na luz tubular por reabsorção deficiente, se torna um veneno protoplasmático lesando a célula epitelial tubular, nesse caso, quando reabsorvida e atingindo concentrações suficientes, pode lesar o interstício e, também, pela ação celular direta, o agente funciona como uma nefrotoxina, interagindo com as organelas celulares inativando seus sistemas enzimáticos e determinando reações de hipersensibilidade, que constituem uma das explicações das nefrites intersticiais observadas nos quadros de intoxicações agudas.

## Intoxicações por ingredientes de rações

Nutrientes e aditivos comumente utilizados em rações avícolas como: minerais, vitaminas e aminoácidos sintéticos podem ser tóxicos às aves, desde que presentes em doses elevadas na ração, dessa forma procurou-se resumir os principais ingredientes de rações que representam algum risco de causar qualquer tipo de intoxicação às aves e considerou-se como dose tóxica, qualquer dose que provocasse uma simples queda de desempenho das aves.

### Minerais

Os minerais são suplementados nas rações avícolas em forma de mistura mineral concentradas, a possibilidade de intoxicação existe quando há erros de manipulação na incorporação das fontes minerais nas rações. A Tabela 1 resume as doses e os respectivos efeitos tóxicos de alguns minerais.

### Vitaminas

As intoxicações por vitaminas são bastante raras na avicultura industrial, se limitam a erros de dosagem em suplementações na água, ou erros de manipulação de rações. Intoxicações pelas vitaminas A, D3, E, B12 e Colina são mais passíveis de ocorrerem, uma vez que suas doses tóxicas são menores (4 a 10 vezes em relação às recomendações). As outras vitaminas têm uma grande margem de segurança com doses tóxicas acima de 1.000 vezes em relação aos requerimentos. A Tabela 2 mostra os efeitos tóxicos das principais vitaminas utilizadas na alimentação das aves.

### Aminoácidos sintéticos

Com a diminuição do custo dos aminoácidos sintéticos eles estão cada vez mais presentes nas rações avícolas possibilitando erros de manipulação e conseqüentes intoxicações por esses compostos. Segundo Carew *et al.* (1998) doses 2,84 vezes acima das recomendações pelo NRC (1994) de todos os aminoácidos, com exceção da histidina e leucina, causam redução do ganho de peso em frangos de corte. A DL-metionina é o aminoácido potencialmente mais tóxico para as aves, doses acima de 1% diminuem linearmente o ganho de peso e a conversão alimentar de frangos de corte. A Lisina-HCl causa uma discreta redução de desempenho a partir de 1,5% nas rações, contudo níveis até 3% são seguros, a toxicidade da Lisina não se deve à lisina per se e sim pela fração HCl, que pode ser minimizada adicionando um tamponante. Para poedeiras comerciais níveis de até 1% de Metionina, Lisina, Treonina e Triptofano são plenamente seguros (Koelkebeck *et al.*, 1991).

## Cloreto de sódio

Uma das maiores ocorrências de intoxicações na avicultura industrial se deve ao excesso de cloreto de sódio (NaCl) ou sal comum nas dietas avícolas, sendo que a intoxicação pode ser aguda ou crônica. Na forma aguda, as aves são expostas a quantidades excessivas de sal acidentalmente na ração ou água de bebida. Doses acima de 0,5% na água de bebida ou de 0,9% na ração já podem ser consideradas tóxicas, sendo que a DL50 para a galinha doméstica

é de 4g/kg. Vários fatores estão envolvidos no estabelecimento da intoxicação, entre os quais destacam-se a disponibilidade de água, fresca e abundante e o nível de sódio de outros componentes da ração. Os sinais da intoxicação incluem: súbito aumento da ingestão de água, cama molhada, depressão progressiva das aves que se mostram com anorexia, sonolência, sede, dispnéia, opistótono, convulsões, incoordenação e morte, que pode chegar a 100% do lote dependendo das condições envolvidas. A bioquímica sangüínea mostra hipoglicemia, aumento de proteínas plasmáticas, ácido úrico e albumina sérica (Chamandeep-Kaur, 1998). As lesões mais freqüentes são: anasarca com ou sem exsudado gelatinoso subcutâneo, ascites em graus variados, hidropericárdio, edema pulmonar, enterite com edema de parede intestinal, nefrite e hemorragias no miocárdio.

## Bicarbonato de sódio

O bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) tem sido suplementado em rações ou água como estratégia nutricional de combate ao estresse pelo calor em frangos de corte e na melhoria da casca dos ovos em poedeiras comerciais, sendo que erros de dosagem podem propiciar a ocorrência de intoxicações. A literatura cita várias ocorrências desse tipo de intoxicação, onde a mortalidade pode ser alta em suplementações de 0,3 a 0,6% na água de bebida. Já níveis de 0,1% têm sido relatados como seguros. A ocorrência da intoxicação depende do nível de sódio ingerido, devendo ser levado em conta o sódio proveniente de outras fontes na ração. Os sinais da intoxicação são depressão, fraqueza e aumento no consumo de água. As principais lesões concentram-se nos rins que se mostram pálidos e dilatados com túbulos e ureteres distendidos e com presença de cristais de uratos. Precipitação de uratos podem ser observados no epicárdio, superfície hepática e pulmão. Edema subcutâneo e ascite também podem ser observados.

## Uréia

As aves são relativamente resistentes a intoxicação por uréia, a contaminação por uréia em rações avícolas pode acontecer em fábricas de ração que manipulam rações para aves e ruminantes concomitantemente. Quadros de intoxicação aguda com alta mortalidade em lotes avícolas só acontecem quando níveis tão altos como 8% de uréia são incorporados às rações (Javed *et al.*, 1995).

**Tabela 1** - Efeitos tóxicos das principais fontes minerais utilizadas na alimentação das aves.

Mineral	Ave/Fase	Forma Química	Dose Tóxica (ppm)	Efeito Tóxico
Alumínio	Pintinho	AlCl <sub>3</sub>	500	Retardo no crescimento
Alumínio	Pintinho	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	1.000	Retardo no crescimento
Alumínio	Pintinho	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	2.200	Incoordenação e andar cambaleante
Alumínio	Poedeiras	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	3.000	Diminuição da postura
Arsênico	Poedeiras	As <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	100	Diminuição da postura e Redução do peso vivo
Bário	Pintinho	BaCO <sub>3</sub>	200	Retardo no crescimento
Bário	Pintinho	BaCl <sub>2</sub>	2.000	Mortalidade
Bromo	Pintinho	NaBr	5.000	Retardo no crescimento
Cádmio	Pintinho	CdSO <sub>4</sub>	25	Retardo no crescimento
Cádmio	Poedeiras	CdSO <sub>4</sub>	12	Diminuição da postura
Chumbo	Pintinho	Pb acetato	320 a 1.000	Retardo no crescimento, letargia e mortalidade de 50% do lote.
Chumbo	Poedeiras	Pb acetato	200	Diminuição da postura
Cloro	Pintinho	NaCl e KCl	15.000	Retardo no crescimento
Cobalto	Pintinho	CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	200	Retardo no crescimento
Cobre	Pintinho	CuO	806	Retardo no crescimento e mortalidade
Cobre	Pintinho	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	800	Diátese exsudativa e Distrofia muscular
Cobre	Pintinho	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	250 a 500	Retardo no crescimento e erosão de moela
Cromo	Pintinho	K <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	300	Retardo no crescimento
Cromo	Pintinho	Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	300	Retardo no crescimento
Cromo	Poedeira	CrCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	10	Afeta a qualidade dos ovos
Estrôncio	Pintinho	SrO	6.000	Retardo no crescimento
Ferro	Pintinho	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	4.500	Incoordenação e andar cambaleante
Flúor	Pintinho	NaF	500 a 1.000	Retardo no crescimento
Flúor	Matrizes	NaF	1.300	Piora da performance reprodutiva
Iodo	Poedeiras e Matrizes	KI	625	Diminuição da postura, do peso do ovo e da eclodibilidade
Magnésio	Pintinho	MgO	5.700	Problemas ósseos com retardo no crescimento
Magnésio	Pintinho	MgCO <sub>3</sub>	6.000 a 6.400	Retardo no crescimento e mortalidade
Magnésio	Poedeiras	MgSO <sub>4</sub>	19.600	Diminuição da postura
Magnésio	Poedeiras	MgCO <sub>3</sub>	11.200	Diminuição da postura
Manganês	Pintinho	Mn <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	4.000	Retardo no crescimento
Mercúrio	Pintinho	HgSO <sub>4</sub>	400	Retardo no crescimento
Mercúrio	Pintinho	HgCl <sub>2</sub>	250 a 400	Retardo no crescimento e mortalidade
Mercúrio	Pintinho	CH <sub>3</sub> HgCl	5	Mortalidade de 50% do lote
Molibdênio	Pintinho	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	500	Retardo no crescimento e mortalidade
Molibdênio	Poedeiras e Matrizes	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	500	Diminuição da postura e da eclodibilidade
Níquel	Pintinho	NiSO <sub>4</sub>	500	Retardo no crescimento
Níquel	Pintinho	NiCl	400	Retardo no crescimento
Nitrito	Pintinho	KNO <sub>2</sub>	658(N)	Diminuição da Vit. A no fígado e aumento de fígado e tireóide
Selênio	Pintinho	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	10	Retardo no crescimento
Selênio	Pintinho	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	20 (+1.000 Ca)	Retardo no crescimento
Selênio	Poedeiras e Matrizes	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	5 a 10	Diminuição da postura e da eclodibilidade
Sódio	Pintinho	Na Glutamato	8.900	Retardo no crescimento
Sódio	Poedeiras	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	12.000 <sup>a</sup>	Diminuição da postura
Sódio	Pintinho	Na Cl	7.000 <sup>a</sup>	Retardo no crescimento e mortalidade
Sódio	Poedeiras	Na Cl	10.000 <sup>a</sup>	Diminuição da postura
Sódio	Poedeiras	Na Cl	40/60.000	Diminuição da postura
Tungstênio	Pintinho	Tungstenato de Sódio	500	Retardo no crescimento
Vanádio	Pintinho	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	8 a 10	Retardo no crescimento
Vanádio	Pintinho	Ca <sub>3</sub> (VO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	30	Retardo no crescimento
Vanádio	Pintinho	Ca <sub>3</sub> (VO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	200	Mortalidade
Vanádio	Pintinho	NaVO <sub>3</sub>	5	Retardo no crescimento
Vanádio	Poedeira	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	15 a 20	Afeta qualidade de albúmen
Vanádio	Poedeiras e Matrizes	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	50	Diminuição da postura e da eclodibilidade
Zinco	Pintinho	ZnSO <sub>4</sub> ZnSO <sub>3</sub>	1.500	Retardo no crescimento
Zinco	Pintinho	ZnO	800 a 3.000	Retardo no crescimento e diminuição da mineralização óssea
Zinco	Pintinho	ZnSO <sub>4</sub>	2.000	Diátese exsudativa e Distrofia muscular
Zinco	Pintinho	ZnSO <sub>4</sub>	3.000(+ 0,5 ppm Se)	Retardo no crescimento

<sup>a</sup> - adicionado na água de bebida. Fonte: NRC, 1994 (adaptado).

**Tabela 2** – Efeitos tóxicos das principais vitaminas utilizadas na alimentação das aves.

Vitamina	Idade	Dose Tóxica	Dose Segurança <sup>a</sup>	Efeitos Tóxicos
A	1ª semana	26.000 UI/kg	4 a 10	Retardo no crescimento Redução da mineralização óssea Discreto retardo no crescimento
	2ª a 8ª semana	52.800 UI/kg		
D	1 dia	10-12,5 mg/kg	4 a 10	Perda de peso e Calcificação dos túbulos renais
E	21 a 35 dias	2-64.000 UI/kg	100 a 200	Perda de peso Hematócrito reduzido Níveis plasmáticos de Ca e P reduzidos
K	> 7 dias	> 100 mg/kg	1.000	Mortalidade variável
C	1 dia	3 g/kg	1.000	Efeitos tóxicos não estabelecidos
Tiamina	—	—	1.000	Problemas transmissão nervosa <sup>b</sup>
Niacina	8-16 dias	20.000 mg/kg	2.000	Retardo no crescimento
Riboflavina	—	—	1.000	Efeitos tóxicos não estabelecidos
Piridoxina	—	—	1.000	Ataxia, Fragilidade muscular <sup>b</sup>
Ac. Fólico	—	—	1.000	Efeitos tóxicos não estabelecidos
Ac. Pantotênico	—	10 g/kg	1.000	Efeitos tóxicos não estabelecidos
Biotina	1 dia	> 0,5 mg/kg	10	Aumento de vitamina no fígado
B <sub>12</sub>	1 dia	30 mg/g	10	Não afeta crescimento
Colina	1 dia	>2.200 mg/kg	2 a 5	Deficiência de piridoxina Retardo no crescimento Piora na conversão alimentar Odor de peixe estragado nos ovos
	Poedeiras	3-5.000 mg/kg		

<sup>a</sup> - quantidades superiores em relação ao requerimento nutricional. <sup>b</sup> - em animais de laboratório. Fonte: Leeson, Diaz e Summers (1995) (adaptado).

## Intoxicações por medicamentos

Vários medicamentos podem ser utilizados nas rações avícolas com diferentes finalidades, todos eles são seguros e maximizam a produção das aves, contudo são substâncias potencialmente tóxicas e qualquer erro de manipulação, má mistura ou associação indevida pode levar, desde uma simples queda de desempenho, até a mortalidade de 100% do lote. A seguir são descritas os efeitos tóxicos dos principais antibióticos, quimioterápicos, antiparasitários e antifúngicos utilizados pela indústria avícola.

### Antibióticos

Os antibióticos são utilizados na avicultura industrial basicamente com dois objetivos: promotores de crescimento ou curativo de infecções bacterianas, sendo que a diferença na utilização refere-se à dose utilizada e ao tempo de indicação. Doses curativas são maiores e por período limitado, enquanto que doses promotoras de crescimento são menores e por períodos mais prolongados. Como grupo, os antibióticos constituem um conjunto seguro de drogas com baixo poder toxicológico, muitos inclusive livres de efeitos tóxicos. A possibilidade de intoxicação existe, quando doses maiores de alguns antibióticos são empregadas involuntariamente.

**1) Aminoglicosídeos:** gentamicina, kanamicina, neomicina, estreptomicina e espectinomicina são representantes desse grupo. Esses antibióticos são pouco absorvidos no trato gastrointestinal (TGI) das aves, sendo portanto, rara a ocorrência de intoxicações causadas por esses agentes, quando administrados por via oral. A literatura cita que injeções endovenosas ou intramusculares, recomendadas no tratamento parenterais, podem causar: bloqueio neuromuscular agudo, paralisia flácida, fraqueza muscular e distúrbios respiratórios, além de vasodilatação periférica e alterações nos batimentos cardíacos. O principal causador de intoxicações desse grupo é a estreptomicina e diidroestreptomicina cuja DL50 é de 743mg/kg de peso vivo para pintinhos com sete dias de idade e de 1.868mg/kg para aves de 28 dias. Nesses casos, o quadro de intoxicação é

caracterizado por depressão, fraqueza muscular e morte por falência respiratória, muitas vezes a morte ocorre imediatamente após a injeção da droga na ave.

A gentamicina é potencialmente tóxica quando injetada subcutaneamente em peruzinhos de um dia. Donaldson *et al.* (1995) constataram que dose de 1mg por peruzinho possui efeito nefrotóxico e é um fator de risco para ocorrência de mortalidade precoce nessa espécie.

**2) Outros antibióticos:** o cloranfenicol pode causar um leve quadro de intoxicação caracterizado por uma anemia aplástica com depressão medular. Outros antibióticos como: ampicilina, bacitracina, enrofloxacina, eritromicina, lincomicina, penicilina, tetraciclina e tilosina, que são comumente usados na avicultura, possuem uma grande margem de segurança nas aves, sendo rara a ocorrência de episódios de intoxicações.

## Sulfonamidas

As sulfonamidas, por apresentarem um amplo espectro de ação e baixo custo, são drogas muito utilizadas na medicina veterinária, contudo não se pode dizer que são drogas altamente seguras, pois as doses terapêuticas são muito próximas das doses tóxicas. Os efeitos adversos e tóxicos das sulfonamidas já foram descritos em praticamente todas as espécies de animais domésticos. Mesmo utilizadas em doses terapêuticas, em alguns casos as sulfas podem causar efeitos tóxicos. Dessa forma, a utilização desse medicamento na avicultura deve ser feita com cuidado, levando-se em conta: a dose, a idade da ave, a duração do tratamento, a associação medicamentosa e a medicação prévia.

Doses de 0,25% na ração de sulfamerazina podem causar retardo do crescimento de aves jovens, 0,05% a 0,25% de sulfaquinoxalina em rações de poedeiras provocam queda na postura e mortalidade, 0,05% na água de bebida causam efeitos tóxicos.

Entre os efeitos da intoxicação por sulfonamidas, incluem: retardo no crescimento, mortalidade variável, hipertermia, palidez da medula óssea, trombocitopenia, anemia, hemorragia na pele, músculos, baço, rins e outros órgãos internos, necrose focal no fígado e baço, presença de excesso de uratos nos túbulos renais com aspecto esbranquiçado e enterite hemorrágica. Em poedeiras observa-se queda de postura e piora na qualidade da casca dos ovos, com maior incidência de ovos de casca fina, de casca mole, casca rugosa e despigmentação de ovos marrons.

## Nitrofuranos

Os nitrofuranos são um grupo de compostos sintéticos, pouco solúveis e de pequena absorção no TGI. São utilizados na prevenção e tratamento de doenças causadas por *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., na coccidiose e giardiose, entre outras. A furazolidona e a nitrofurazona são os principais representantes do grupo sendo que uma simples dose oral de 150 a 200 mg/kg de nitrofurazona já é o bastante para provocar intoxicação em aves com 14 semanas de idade, com 220 mg/kg foi observado mortalidade de 50% do lote tratado. Além desses efeitos, dependendo da dose, pode-se observar retardo no crescimento e queda de postura. Suplementação de 0,04 a 0,07% de nitrofurazona na ração é o suficiente para causar quadros de intoxicação. Dose de 500mg/kg de furazolidona provoca queda de postura em poedeiras comerciais e já pode ser considerada tóxica. Islam *et al.* (1995) observaram que níveis altos de sal (NaCl) na dieta

agravam o quadro da intoxicação. Os sinais e lesões da intoxicação são: incoordenação, cardiomiopatia, edema pulmonar, congestão dos rins e meninges, hiperexcitabilidade seguida de depressão, palidez e dilatação dos rins, cistos testiculares, enterite catarral, anorexia e fraqueza. A morte sobrevem sem que haja o agravamento do quadro clínico, em alguns casos foi relatada síndrome hemorrágica com trombo- citopenia associada. No ano de 2002 o Ministério da Agricultura por meio da INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº. 38, de Oito de maio proibiu a fabricação, a importação e a comercialização de cloranfenicol, de nitrofuranos e de produtos que contenham estes princípios ativos, para uso em preparação de insumos utilizados na pecuária nacional.

## Arsenicais

Os compostos de arsenicais orgânicos ácido arsanílico, ácido 3-nitro-4hidroxifenilarsônico (3 nitro/ roxarsone) e ácido 4-nitrofenilarsônico (4 nitro) são adicionados às rações avícolas como promotores de crescimento para melhorar o ganho de peso e conversão alimentar, além de participarem dos programas de controle da coccidiose. Doses duas a três vezes acima das recomendações terapêuticas já são suficientes para causar quadros de intoxicações em lotes avícolas, porém, em doses em acordo com a indicação e, em ocorrendo restrição de consumo de água, pode haver quadro de paralisia transitória, normalmente sem ocorrência de mortalidade. Nesses casos, as aves voltam à condição normal depois de restabelecido o consumo normal de água. Wenshyg *et al.* (1997) mostraram que doses acima de 44 mg/kg de roxarsone (ácido 3-nitro-4hidroxifenilarsônico) na ração causaram queda de produção de um lote de poedeiras comerciais, doses de 88 mg/kg na ração paralisaram a postura duas semanas após o início do tratamento. Os sinais da intoxicação por compostos arsenicais se caracterizam por ataxia, incoordenação e paralisia. A mortalidade ocorre nas intoxicações mais severas e a necropsia não revela grandes achados, a não ser um fígado aumentado de volume e friável e uma desmielinização e gliose dos nervos periféricos, principalmente dos nervos ópticos.

## Anticoccidianos

O controle da coccidiose aviária era realizado até a década de 40 com diversos tipos de receitas de alquimia, vinagre, leite desnatado, enxofre. Com a descoberta das sulfas no final da década de 30, essa droga passou a ser a referência no tratamento da coccidiose. Com o extraordinário desenvolvi- mento da avicultura industrial, a partir da década de 40 surgiram várias drogas destinadas ao controle da coccidiose aviária. Entre as décadas de 50 e 70 foram descobertas: roxarsone, nicarbazina, zoalene, amprólio, clopidol, dicoquinato e a monensina, primeiro ionóforo a ser descoberto. Com o aumento do grau de intensificação da avicultura industrial, novas drogas, mais eficazes e de amplo espectro de ação, foram sendo descobertas, possibilitando melhor controle da coccidiose.

Os anticoccidianos normalmente são classificados em dois grupos: os químicos e os ionóforos e, em ambos os grupos, a maioria das drogas apresentam pequenas margens de segurança entre as doses preventivas e as doses tóxicas. A pequena margem de segurança, aliada à dificuldade de mistura desses produtos na ração, tem ocasionalmente causado intoxicações em lotes avícolas. As doses máximas recomendadas dos principais anticoccidianos utilizados, as doses tóxicas e os seus efeitos em frangos de corte e poedeiras estão apresentadas nas [Tabelas 3 e 4](#).

**Tabela 3 – Doses e efeitos tóxicos dos principais anticoccidianos em frangos de corte.**

Anticoccidiano	Dose Máxima Recomendável	Dose Tóxica	Efeito Tóxico
<b>Anticoccidianos Químicos</b>			
Amprólio	133ppm	< 1.000ppm	Sintomas de deficiência de tiamina
Clopidol	125ppm	2.000ppm 31.500ppm	Retardo de 8% no ganho de peso Mortalidade de 55% do lote
Decoquinatate	40ppm	até 1.600ppm	Sem efeitos tóxicos relatados
Diclazuril	1ppm	até 25ppm	Sem efeitos tóxicos relatados
Halofunginona	3ppm	< 9ppm	Diminuição no consumo de ração e ganho de peso
Nicarbazina	125ppm	200ppm 250ppm+calor	Diminuição do ganho de peso Ataxia, incoordenação e fraqueza
Robenidina	36ppm	250ppm 1.100ppm 2.200ppm	Discreto retardo no ganho de peso Diminuição do ganho de peso Mortalidade de 60% do lote
Zoalene	—	250 a 500ppm 860ppm	Piora no crescimento e conversão Sintomatologia nervosa, rigidez de pescoço e andar cambaleante
<b>Anticoccidianos Ionóforos</b>			
Lasalocida	125ppm	200ppm 300 a 400ppm	Diminuição do ganho de peso Ataxia, anorexia e perda de peso
Manduramicina	5ppm	30ppm	Piora no crescimento sem mortalidade
Monensina	125ppm	363ppm 442ppm 605ppm	Diminuição do consumo de ração e ganho de peso Diminuição do consumo de ração, ganho de peso e piora na conversão alimentar Idem anterior mais mortalidade
Narasina	70ppm	80 a 240ppm	Diminuição do consumo de ração e ganho de peso
Salinomicina	70ppm	90ppm < 180ppm	Sem efeitos tóxicos relatados Diminuição do consumo de ração e ganho de peso
Senduramicina	25ppm	50 a 75ppm	Diminuição do consumo de ração, ganho de peso e problemas de empenamento

**Tabela 4 – Doses e efeitos tóxicos dos principais anticoccidianos em poedeiras e matrizes.**

Anticoccidiano	Dose Tóxica	Efeito Tóxico
<b>Anticoccidianos Químicos</b>		
Amprólio	700ppm 1.250ppm 1.400ppm 2.000ppm	Diminuição da eclodibilidade Sintomas de deficiência de tiamina Redução no consumo de ração e fertilidade dos machos Queda de postura
Clopidol	500ppm	Sem efeitos tóxicos relatados
Diclazuril	5ppm	Sem efeitos tóxicos relatados
Halofunginona	3ppm	Sem efeitos tóxicos relatados
Nicarbazina	20ppm 50ppm 100ppm 125ppm	Discreta diminuição da eclodibilidade Diminuição da eclodibilidade para 60% Queda de postura Queda de postura e aparecimento de manchas na gema e despigmentação da casca de ovos marrons
	400ppm 700ppm	Idem anterior + Diminuição do tamanho dos ovos Eclodibilidade zero, ataxia, incoordenação e fraqueza com alteração do tamanho de fígado e rins
Robenidina	33ppm 132ppm	Sem efeitos tóxicos relatados Diminuição da eclodibilidade
<b>Anticoccidianos Ionóforos</b>		
Lasalocida	75 a 125ppm 150ppm	Redução da eclodibilidade e fertilidade Ataxia e anorexia (aves adultas mais sensíveis)
Maduramicina	5ppm	Sem efeitos tóxicos relatados
Monensina	88ppm 100ppm 264ppm	Sem efeitos tóxicos relatados Redução da fertilidade Diminuição do consumo de ração e queda na postura
Narasina	20ppm 70ppm 700ppm	Sem efeitos tóxicos relatados Queda de postura e eclodibilidade Diminuição significativa da eclodibilidade e do tamanho dos ovos
Salinomicina	25ppm 60ppm	Diminuição do consumo de ração e queda na postura Idem anterior + Diminuição da eclodibilidade

Os perus são espécies bastante sensíveis à intoxicação por ionóforos, especialmente à monensina, narasina e salinomicina, sendo estas duas últimas drogas não indicadas para perus. Doses acima de 50 ppm de salinomicina para perus adultos podem causar mortalidade, dispnéia, ataxia, febre e morte em 5 a 12 horas. Em matrizes de perus, doses de 15 a 30 ppm de salinomicina já ocasionam mortalidade. Segundo os dados disponíveis na literatura, a narasina pode causar mortalidade em perus adultos em doses acima de 25 ppm, porém existem relatos de intoxicação a campo com dosagens inferiores (16 ppm). Já a monensina pode ser tóxica para perus adultos em dosagens a



partir de 100 ppm, sendo que as aves mais jovens toleram doses maiores. O quadro de intoxicação por narasina é muito semelhante ao de intoxicação por monensina em perus e os principais sinais e sintomas são: anorexia, ataxia, paralisia, asas caídas, dispnéia e diarreia. Palidez da musculatura cardíaca e esquelética pode ser observada em intoxicações por ionóforos.

Um fator que concorre para o estabelecimento de uma intoxicação por drogas ionóforas é a interação com outras drogas, por exemplo, aves tratadas simultaneamente com monensina e tiamulina, podem apresentar quadro de intoxicação. As principais interações medicamentosas dos ionóforos com outras drogas estão listadas na **Tabela 5**.

Medicamento	Monensina	Narasina	Manduramicina	Salinomicina	Lasalocida
Cloranfenicol	I/C	I/C	—	I	I
Eritromicina	I	I	C	I	C
Furazolidona	C	—	—	—	C
Sulfaclopirazina	I	I	C	I	—
Sulfadimetoxina	I	I	—	—	I
Sulfametazina	I	—	—	—	C
Sulfaquinoxalina	I/C	I	C	I	C
Tiamulina	I	I	I	I	C
Tilosina	C	C	C	C	—

I = Incompatível; C = Compatível; I/C = Ambos relatados na literatura. Fonte: Dowling, 1992 (adaptado).

## Anti-Helmínticos

Os anti-helmínticos são drogas altamente seguras e dificilmente determinam quadros de intoxicações. Três grupos de drogas anti-helmínticas têm sido mais utilizados na avicultura: benzoimidazóis, imidazotiazóis e piperazina.

**1) Benzoimidazóis** - os principais representantes desse grupo são: tiabendazol, fembendazol, albendazol, carbendazol, mebendazol e flubendazol. Essas drogas são seguras e bem toleradas pelas aves. Doses de até 2.000 mg/kg de mebendazol não produziram efeitos tóxicos em frangos, contudo, em pombos dose de 150 mg/kg se mostrou tóxica. O Tiabendazol na dosagem de 2.000 mg/kg durante cinco semanas em poedeiras comerciais causou diminuição no peso corporal, queda na postura e diminuição no tamanho dos ovos. Febendazol a 50 mg/kg durante cinco dias causou mortalidade em pombos. O flubendazol parece ser bem tolerado pelas aves, na concentração de 30 ppm não houve interferência na produção de ovos.

**2) Imidazotiazóis** - os principais representantes desse grupo são: levamizol e tetramizol. Esse grupo de drogas não são tão seguras como os benzoimidazóis, no entanto podem ser considerados como drogas seguras. A DL50 do teraimidazol para a galinha doméstica é de 2,75 g/kg. Gansos e patos são mais sensíveis ao tetramizol. O levamizol é mais seguro que o tetramizol. Doses de 300 mg/kg de tetramizol são consideradas como tóxica para gansos, no entanto, dose de 640 mg/kg em galinhas não provocou nenhum efeito adverso (McDougald, 1992).

**3) Piperazina** - vários sais de piperazina tem sido usado na terapêutica anti-helmíntica veterinária. A segurança dessa droga é bastante alta, sua DL50 em camundongos é de 11,4 g/kg o que indica uma ampla margem de segurança no seu uso. Em aves doses de até 11.648 mg/kg não causaram efeitos adversos, contudo a partir de 728 mg/kg foi verificada diminuição da palatabilidade da ração tratada (Shumard, 1957).

**4) Outros Anti-Helmínticos** - a ivermectina na dose de 5,4mg/kg em galinhas domésticas pode causar sonolência, na dosagem de 16,2 mg/kg causa apatia seguida de ataxia, em doses de 48,6 mg/kg resulta em morte cinco horas após a injeção. A fenotiazina e a higromicina B, que também são usadas na avicultura, são seguras e nenhuma intoxicação tem sido descrita com o uso dessas drogas.

## Antifúngicos

As intoxicações por antifúngicos normalmente estão relacionadas com a utilização dessas drogas no tratamento de grãos utilizados na fabricação de rações avícolas. Alguns desses antifúngicos são intencionalmente incorporados às rações com o objetivo de proteção da ração de contaminação fúngica, mas são potenciais agentes causadores de intoxicações. Outra possível fonte de intoxicação por agentes antifúngicos é via material de cama utilizado nos aviários, muitos desses materiais por vezes são tratados com agentes antifúngicos que podem causar intoxicações.

Um agente antifúngico muito utilizado em rações e camas avícolas é o sulfato de cobre, que tem sido causador de freqüentes intoxicações em lotes avícolas. O sulfato de cobre normalmente é utilizado nas doses de 0,02 a 0,04% nas rações avícolas, perfazendo um nível de 50 a 140 ppm de cobre na dieta. A DL50 do sulfato de cobre é de 900 mg/kg. Segundo Wideman *et al.* (1996) níveis de 200 mg/kg de cobre na dieta de frangos de corte já são suficientes para causar sinais de intoxicação cúprica. Em poedeiras comerciais, Gilbert *et al.* (1996) descreveram um quadro de intoxicação por sulfato de cobre em aves que consumiram rações com 1.437 mg/kg de cobre. Os sinais e lesões da intoxicação por sulfato de cobre são: queda de ganho de peso, diminuição da postura, úlceras na cavidade oral, principalmente na faringe, gastroenterite catarral, necrose de coagulação da mucosa de esôfago e papo, depressão temporária, convulsões, paralisia, coma e morte. O sinal mais freqüente é uma hipertrofia do proventrículo, com grau variado de proventriculite.

Outros agentes antifúngicos como a violeta de genciana e o ácido propiônico são drogas seguras e não têm sido relatadas intoxicações por essas drogas na avicultura.

Alguns fungicidas utilizados no tratamento de grãos e madeira podem causar intoxicação em aves. A literatura aponta o arasan (thiram) e o captan como agentes fungicidas causadores de intoxicações em aves. A arasan na dose de 20 mg/kg já causa queda na qualidade do albúmen e cascas dos ovos em poedeiras e, acima de 158 mg/kg, causa paralisação da postura, enquanto que o captan causa intoxicação em concentrações a partir de 430 mg/kg nas rações avícolas.

## Intoxicações por defensivos agropecuários

A literatura é farta sobre casos de intoxicações em lotes avícolas devido a inseticidas, herbicidas, rodenticidas e outros defensivos agropecuários. A entrada dessas substâncias no sistema produtivo avícola se produz de forma variada, normalmente via alimentação, contaminação ambiental e cama. A ocorrência desse tipo de intoxicação é relativamente freqüente devido à toxicidade dessas drogas, e seu uso corrente no combate de vetores que transmitem doenças para as aves.

## Inseticidas - Acaricidas

**1) Organoclorados** - essas drogas possuem efeito acumulativo e se depositam no tecido adiposo e no fígado das aves. São moderadamente tóxicas quando administradas de 50 a 200 mg/kg. A intoxicação mostra um quadro clínico-patológico caracterizado por distúrbios nervosos como: tremores, hiperexcitabilidade, ataxia e convulsões. Os sintomas nervosos podem estar acompanhados por ascite, aumento de peso das vísceras, hemorragias e enterite catarral. Também se observa queda de postura e despigmentação da casca dos ovos, diminuição da eclodibilidade, mortalidade embrionária e alterações na qualidade da casca dos ovos. Os organoclorados são drogas de uso controlado e, em muitos países, está proibida, sua utilização na avicultura é cada dia mais restrita.

**2) Organofosforados** - nesse grupo enquadram-se diversos tipos de drogas que se caracterizam por agirem inibindo a enzima colinesterase na sinapse nervosa causando, dessa maneira, uma marcada ação tóxica. Dentre os sinais, destacam-se: anorexia, hipermotilidade gastrointestinal, arritmias cardíacas, constricção bronquiolar e da pupila, sendo que a morte normalmente é causada por falência respiratória. A dose tóxica depende do produto e da espécie. Existem evidências que doses baixas, como 2 a 55 mg/kg de malation na ração, já podem afetar a eclodibilidade de ovos de matrizes pesadas. As aves intoxicadas podem ser tratadas com injeção de 0,2 mg/kg de atropina.

**3) Carbamatos** - esse grupo de drogas tem o mecanismo de ação semelhante ao dos organofosforados e também sintomatologia de intoxicação semelhante. Algumas drogas desse grupo mostraram efeitos teratogênicos em embriões de galinhas. Pequenas doses tóxicas podem prejudicar o desempenho das aves sem a manifestação de sinais de intoxicação.

**4) Piretróides** - esses grupo de inseticidas e acaricidas é bastante seguro no combate de insetos e ácaros que acometem as aves e não têm sido relatadas intoxicações em aves devido a estes compostos.

Para comparar a toxicidade de diferentes inseticidas a [Tabela 6](#) mostra a DL50 em ratos.

**Tabela 6 – Toxicidade de diferentes inseticidas ou acaricidas em ratos machos.**

Inseticida / Acaricida	Dose Letal Média (DL <sub>50</sub> )
<b>Organodorados</b>	
	DL <sub>50</sub> mg/kg <sup>-1</sup>
Aldrin	39
Dieldrin	46
Endrin	18
Clordano	335
DDT	113
Lindano	88
<b>Organofosforados</b>	
	DL <sub>50</sub> mg/kg <sup>-1</sup>
Paration	7
Fention	190
Formotion	535
TEPP	1,1
Malation	1.375
Dipterex	630
Bromophos	1.600
<b>Carbamatos</b>	
	DL <sub>50</sub> mg/kg <sup>-1</sup>
Carbaril	850
Baygon	83
Moban	150
Zectran	37
<b>Piretróides</b>	
	DL <sub>50</sub> mg/kg
Aletrina	700
Resmetrina	1.500
Permetrina	1.000
Cipermetrina	250
Fenvalerato	450

Fonte: Larini, 1987.

## Rodenticidas

A maioria das drogas utilizadas atualmente nos programas de controle de roedores são seguras e dificilmente causam intoxicações nas aves. Segundo Arends (1997) existem basicamente três grupos de drogas utilizadas no combate a roedores. O primeiro, e principal, é representado por drogas anti-coagulantes de múltipla dose, são drogas extremamente seguras e representadas por: warfarin pival, diphacione e clorophacione. O segundo grupo de raticidas são anti-coagulantes de dose simples, de poder toxicológico maior, contudo, ainda bastante seguros, são exemplos: brodifacoum e bromadiolon. O terceiro grupo inclui drogas de ação fulminante e aguda como o brometalim, sulfato de estricnina e sulfato de talium. Muitas dessas drogas têm sua comercialização controlada e só podem ser utilizadas por pessoal autorizado. Normalmente essas drogas têm sua apresentação em forma de iscas, que são colocadas estrategicamente em locais longe das aves e próximos aos roedores, o que reduz a possibilidade de intoxicações em lotes avícolas.

## Herbicidas

Vegetais tratados com herbicidas (agrotóxicos) podem entrar no sistema de produção das aves e causar intoxicações. Existe uma grande quantidade de drogas herbicidas e todas elas com potencial tóxico para as aves. Normalmente os episódios de intoxicações por essas drogas se relacionam com o tratamento de lavouras de grãos e sua posterior inclusão nas rações avícolas. Uma outra possibilidade de introdução dessas drogas no sistema produtivo avícola é no tratamento de madeira que pode vir a ser utilizada como material de cama de aviário. A **Tabela 7** reúne algumas características dos principais herbicidas com possibilidade de intoxicação de lotes avícolas.

Tabela 7 – Toxicidade, sinais e sintomas de intoxicação dos principais herbicidas.		
Herbicida	DL <sub>50</sub> mg/kg (Ratos)	Sinais / Sintomas / Lesões
Pentaclorofenol	145	- Debilidade - Anorexia - Aumento da temperatura corporal - Colapso e morte
Fenoxiácidos	375 a 1.500 entre os diferentes compostos	- Sonolência - Rigidez muscular - Ataxia - Úlceras necróticas no intestino - Depressão e morte
Paraquat e Diquat (Quaternários de amônio)	100 e 400	- Hiperexcitabilidade - Incoordenação - Convulsão e morte
Dinitrofenóis	30	- Hipertermia acentuada - Colapso e morte
Compostos Derivados da Uréia	A maioria desses compostos são de baixo poder toxicológico, sem importância em intoxicações nos animais, apenas o Tebutiuron e o Monuron podem causar algum efeito tóxico nos animais domésticos.	
Fonte: Larini, 1987.		

## Intoxicações por desinfetantes

A utilização de desinfetantes na avicultura industrial faz parte dos programas de biossegurança das empresas avícolas, vários compostos em diferentes diluições são utilizados com múltiplas finalidades. O programa de limpeza e desinfecção de instalações e equipamentos é de suma importância na prevenção de doenças e manutenção do equilíbrio microbiológico do sistema produtivo. Os desinfetantes utilizados na avicultura industrial são seguros, contudo todos eles têm riscos toxicológicos e podem causar intoxicações nas aves. Vários casos de intoxicações por desinfetantes têm sido relatados na literatura e a ocorrência desse tipo de intoxicação nas unidades produtivas não é rara.

**1) Cresóis** - os cresóis são de natureza fenólica e se compõem de vários compostos derivados de ortocresol, metacresol e paracresol. Apresentam boa ação bactericida, sendo inclusive, eficaz contra bactérias ácido-resistentes, possuem limitada ação viricida e nenhuma ação esporicida. São de baixo custo, sendo amplamente utilizados nos programas de limpeza e desinfecção de instalações e equipamentos. Possuem um odor característico o que pode ajudar no diagnóstico das intoxicações. A intoxicação por cresol causa: desuniformidade do lote, fraqueza, depressão, as aves tem a tendência de se aglomerar, empenamento irregular, sintomas respiratórios e edema subcutâneo. Na necropsia se observa: transudato subcutâneo amarelado nas porções ventrais, palidez do músculo do peito, ascite, fina camada fibrinosa na superfície do fígado, o baço se apresenta diminuído e pálido, palidez e dilatação renal, é comum observar hidropericárdio e palidez de miocárdio, os pulmões se encontram edematosos e com áreas de hepatização. Nas vias aéreas superiores se encontram muco, irritação e às vezes sangue. Tem sido reportada mortalidade de 2 a 56% do lote, sendo esta dependente da concentração, do tempo de exposição, da idade do lote, da densidade de alojamento, das condições climáticas e da ventilação.

**2) Amônia Quaternária** - os compostos de amônio quaternário possuem boa ação sobre bactérias tanto Gram-positivas como Gram-negativas agindo pouco contra vírus, fungos e esporos. Esses compostos se combinam facilmente com proteínas, gorduras e fosfatos e têm sua ação reduzida na presença de matéria orgânica. São muito utilizados na desinfecção de equipamentos e superfícies livres de matéria orgânica. Como regra geral são substâncias de baixa toxicidade tanto na ingestão

oral, como na aplicação local. No entanto, doses superiores a três vezes a recomendação já podem se causar efeitos tóxicos. Em perus foi relatado um quadro de intoxicação com doses acima de 200 ppm; na concentração de 500 ppm foi verificado mortalidade de 33% do lote entre 6 e 17 dias de utilização do produto na água de bebida (Huber, 1983). Em poedeiras comerciais foi registrado por Dhillon *et al.* (1982) mortalidade de 1,7% e 1,9%, em apenas uma semana, em dois lotes de poedeiras com 25 semanas de idade devido à intoxicação acidental por compostos de amônio quaternário. Hutchison *et al.* (1996) relataram mortalidade de 4% causada por uma intoxicação por amônio quaternário utilizado na limpeza (flushing) de bebedouros nipple, em um lote de frangos de corte.

Os sinais da intoxicação são: queda de produção, aumento da mortalidade, desidratação, resistência a ingestão de água, agitação, as aves apresentam movimentos deglutitórios constantes, edema facial, descargas oculares, movimentação lateral da cabeça, tosse, cristas cianóticas, ataxia, convulsões e morte. À necrópsia nota-se: úlceras diftérica- caseosa na base da língua, lesões na cavidade bucal e faringe, presença de pseudomembrana nas mucosas do esôfago, papo e proventrículo, erosão de moela, ruptura de folículos ovarianos e peritonite.

**3) Cloro** - soluções de hipoclorito de sódio são amplamente utilizadas como desinfetantes e no tratamento da água de bebida. O cloro tem baixo poder toxicológico e é bem tolerado pelas aves. Damron e Flunker (1993) mostraram efeitos adversos de soluções de hipoclorito de sódio a partir de 100 ppm em frangos de corte e 40 ppm em poedeiras comerciais. Nestes experimentos os autores utilizaram até 500 ppm de cloro e não observaram sinais de intoxicação, embora tenha sido registrada uma queda de desempenho das aves. Em altas concentrações, o cheiro do cloro é facilmente perceptível, fazendo desse tipo de intoxicação bastante rara na avicultura industrial.

**4) Formol** - a solução de formaldeído é uma solução aquosa que encerra não menos que 37% do gás formaldeído que é incolor, irritante e possui ação antibacteriana, antiviral e antifúngica, além de manter sua ação germicida na presença de matéria orgânica. Por todas essas características, aliadas ao seu baixo custo, é amplamente utilizada na avicultura, principalmente nos incubatórios, contudo, possui um alto poder toxicológico, carcinogênico e irritante. Prolongadas exposições ao formol causam inquietação, irritação do trato respiratório superior, conjuntivite, úlceras de córnea e fotofobia. Sander *et al.* (1995) relataram que embriões expostos a 130 ppm de gás formaldeído nos últimos três dias de incubação, mostraram uma redução dos movimentos dos cílios traqueais aos cinco dias de idade, sendo assim, é importante manter a qualidade do ar para o pintinho que foi submetido a exposição e prolongada ao formol no incubatório.

## Intoxicações por gases tóxicos

A presença de gases no ambiente avícola é bastante comum, vários gases são constantemente produzidos pelas próprias aves e outros por bactérias presentes nas excretas das aves e no ambiente avícola, outros ainda, são utilizados com finalidades sanitárias, ou nos sistemas de aquecimento. Alguns desses gases, quando se acumulam no ambiente das aves, podem ser extremamente tóxicos e causar severas intoxicações. Neste contexto, dois gases merecem destaque, a amônia ( $\text{NH}_3$ ) e o monóxido de carbono ( $\text{CO}$ ).

**1) Amônia**- a amônia é um gás incolor e altamente irritante, é produzido na cama do aviário por

fermentação microbiana de substâncias nitrogenadas (principalmente ácido úrico) presentes nas excretas das aves. O aumento da umidade da cama e altas temperaturas promovem intensa produção de amônia, que pode se acumular no ambiente das aves em condições de baixa ventilação. Esse gás atua principalmente como irritante para as mucosas do trato respiratório superior e olhos. Por ser altamente solúvel, pode ser facilmente absorvido pelas vias aéreas e mucosa conjuntiva. A severidade das lesões provocadas depende da concentração do gás no ar e do grau de exposição.

Níveis de 25ppm podem ser detectado pelo homem através do odor característico, concentrações de amônia acima de 40 ppm já afetam o sistema de defesa das aves. Estudos (Nagaraja, 1992) têm mostrado que níveis de 40 ppm de amônia diminui a capacidade de eliminação bacteriana do sistema respiratório. A amônia interfere nos movimentos ciliares do epitélio da traquéia, chegando a destruí-los e aumenta a atividade das células caliciformes que produzem muco, o excesso de muco diminui os movimentos ciliares e facilita a colonização de bactérias patogênicas. Além disso, a amônia diminui a atividade funcional dos macrófagos, facilitando ainda a infecção bacteriana.

Os sinais e lesões da intoxicação por amônia variam de acordo com a idade da ave, o grau de exposição e concentração do gás. Com 20 ppm, durante 42 dias, pintinhos apresentaram edema e hemorragias pulmonares. Frangos de corte mostraram diminuição de 7 a 24% na frequência respiratória em níveis de 100 ppm. Entre 50 e 100 ppm foram observados: queda na produção, aumento da secreção lacrimal, traqueíte catarral, queratoconjuntivite e fotofobia.

**2) Monóxido de Carbono** - o monóxido de carbono é um gás incolor e inodoro e resulta da combustão incompleta de materiais ricos em carbono. As fontes de intoxicação são os sistemas de aquecimento das aves que quando mal regulados ou mal manejados, por exemplo, com seus filtros sujos, podem produzir uma combustão incompleta que na presença do ar propicia a formação de CO<sub>2</sub>, o qual pode reagir com o carbono (C) transformando-se em monóxido de carbono (CO).



O acúmulo de CO em ambientes avícolas mal ventilados pode ser letal para as aves. Concentrações de 0,04 a 0,05% já são suficientes para causar intoxicação. Os sinais e lesões da intoxicação são: sonolência, respiração laboriosa, incoordenação, opistótono, espasmos, convulsão e morte. Entre os achados de necropsia que chamam a atenção é a alteração da cor do sangue, tipo vermelho cereja, além disso, pode-se observar alteração da coloração da musculatura pulmões e timo, que se apresentam cianóticos.

**3) Outros gases** - metano, dióxido de carbono, sulfeto de hidrogênio e outros são produzidos em quantidades muito baixas nos ambientes avícolas e raramente causam quadros de intoxicação.

## Intoxicações por plantas tóxicas

As plantas tóxicas, principalmente suas sementes, podem causar quadros de intoxicação em lotes comerciais contaminando as rações. Essas plantas podem estar presentes nas lavouras e, na colheita mecanizada, as sementes dessas plantas tóxicas se misturam com os grãos e entram nas

fábricas de ração. Caso a fábrica de ração não proceda a pré-limpeza, através de peneiras vibratórias, a semente tóxica será processada juntamente com os grãos e fará parte da ração, conseqüentemente, dependendo da sua concentração, causará a intoxicação das aves que consumirem essas rações. Algumas plantas com potencial tóxico para aves são:

### 1) *Palicourea barbiflora*

Nome Comum: erva de rato graúda.

Princípio Tóxico: ácido monofluoracético, saponina ácida, cafeína.

Partes/Quantidades Tóxicas: folhas e frutos/desconhecida.

### 2) *Ricinus communis*

Nome Comum: mamona, carrapateira, palma de cristo.

Princípio Tóxico: ricina (toxalbumina), ácido ricinolêico.

Partes/Quantidades Tóxicas: sementes/ galinhas: 14,4 g/kg de peso vivo.

Sementes/ gansos: 0,4 g/kg de peso vivo.

Sinais e Lesões: queda das asas, penas eriçadas, crista e barbela de cor acinzentadas, paralisia progressiva com prostração, diarreia, inflamação do esôfago, papo e estômago, enterite catarral hemorrágica, degeneração do tecido linfóide, células parenquimatosas do fígado, rins e proliferação dos ductos biliares.

### 3) *Asclepias curassavica*

Nome Comum: oficial de sala, erva de rato falsa, margaridinha.

Princípio Tóxico: asclepiadina.

Sinais e Lesões: fraqueza, incoordenação, convulsões e prostração.

### 4) *Conium maculatum*

Nome Comum: cicuta, funcho selvagem, cicuta falsa.

Princípio Tóxico: coniceina, d-conidina, coniina.

Partes/Quantidades Tóxicas: folhas (50 a 70 g) e sementes.

Sinais e Lesões: salivação, fraqueza, sinais nervosos, paralisia, diarreia, redução do crescimento, congestão hepática e enterite.

### 5) *Cassia occidentalis e Cassia obtusifolia*

Nome Comum: fedegoso, mata-pasto, manjerioba.

Princípio Tóxico: glicosídeos antraquinônicos, toxalbumina.

Partes/Quantidades Tóxicas: sementes = 4% na ração por 21 dias (morte); sementes = 2 a 4% na ração (redução do ganho de peso e consumo de ração); sementes = inclusões de 1,5 a 10% reduz a produtividade.

Sinais e Lesões: queda de postura, perda de peso, fraqueza, diarreia, hipotermia, ocasionalmente ataxia, diminuição na produção de ovos e resistência da casca, diminuição do consumo e da taxa de crescimento, palidez da musculatura cardíaca e esquelética (músculos semitendinosos e peitorais), degeneração e necrose muscular e congestão hepática.



## 6) *Crotalaria spectabilis*

Nome Comum: crotalaria.

Princípio Tóxico: monocrotalina.

Partes/Quantidades Tóxicas: sementes/entre 0,01% e 0,1%.

Sinais e Lesões: poedeiras: queda na produção de ovos, aumento da mortalidade, ruptura do fígado com hemorragias internas e hidroperitônio, envenenamento crônico associado com enterite necrótica, ascite e anemia.

## 7) *Sesbania macrocarpa*

Princípio Tóxico: saponinas.

Partes/Quantidades Tóxicas: 1% na dieta (diminui crescimento), 3% (diminui o consumo), 6% (diminuição da produção de ovos).

Sinais e Lesões: queda nos índices de produção.

## 8) *Datura stramonium*

Nome Comum: trombeteira, figueira do inferno, erva-do-diabo.

Princípio Tóxico: alcalóides (atropina, escopolamina).

Partes/Quantidades Tóxicas: sementes/ inclusões de 3 a 6% influenciaram a produtividade em períodos superiores a 14 dias (poedeiras) e 21 dias (frangos de corte).

Sinais e Lesões: redução do ganho de peso e eficiência alimentar (frangos de corte).

## Intoxicações por produtos e subprodutos industriais

Vários produtos e subprodutos industriais podem ser considerados contaminantes ambientais e podem entrar no sistema de produção e causar intoxicações. Vários relatos na literatura têm responsabilizado produtos industriais por prejuízos na produção avícola. Um exemplo desse tipo de intoxicação é a causada pelas dioxinas, que são compostos resultantes de processos industriais envolvendo o cloro que contaminam o meio ambiente. Existem vários tipos de dioxinas, a mais tóxica é a 2,3,7,8- tetraclorodibenzenodioxina (TCDD). As dioxinas chegam à avicultura através da cadeia alimentar, via gordura animal, esses compostos são lipossolúveis e se acumulam nas gorduras animais, que podem ser usadas na alimentação das aves provocando quadros de intoxicação. Uma outra forma de contaminação é a utilização de tintas que contenham os hidrocarbonos clorados. A galinha doméstica é particularmente sensível às intoxicações pela dioxina, e o quadro tóxico se caracteriza por edema generalizado, tanto das cavidades como subcutâneo, devido ao severo dano no endotélio vascular, as aves ainda apresentam dificuldade respiratória, ataxia e fraqueza. Ressalta-se, ainda, a importância das dioxinas para a saúde pública, vez que a maioria das fontes de dioxinas para o homem é representado por produtos de origem animal.

Outro produto industrial que pode intoxicar as aves é o óleo lubrificante, que pode ser ingerido pelas aves, por contaminação acidental da ração e causar anorexia, perda de peso, incoordenação, tremores e anemia. Na necropsia revela-se, enterite, degeneração gordurosa do fígado, necrose e degeneração do pâncreas, baço e bursa.

O tetracloreto de carbono, muito utilizado como solvente e removedor de sujeiras pode também causar intoxicação acidental nas aves. A ingestão desse composto interfere no metabolismo lipídico das aves, causando danos hepáticos e renais.

## Diagnóstico das intoxicações

O quadro clínico das intoxicações depende do tipo, da quantidade (dose) e do tempo de exposição ao agente tóxico. Normalmente a ocorrência é localizada e restrita a um, ou um conjunto de lotes de aves, diferente das enfermidades infecciosas que logo se distribuem por toda a região. A morbidade é geralmente alta e pode chegar a 100% se o contato com o agente tóxico se prolongar, do mesmo modo a mortalidade pode ser alta, chegando em alguns casos, a próximo de 100%. No estabelecimento das hipóteses diagnósticas é importante uma cuidadosa investigação enfocando principalmente os seguintes aspectos:

- Histórico do lote, incluindo idade, porcentagem e evolução da mortalidade, ganho de peso ponderal, empenamento, pigmentação, arraçoamento, principalmente mudanças de ração, e estado geral das aves.
- Anamnese da ocorrência, relacionando-a com todas as operações de manejo como, vacinação, medicação do lote, movimentação das aves.
- Fórmula da ração, observando cálculos matemáticos, os aditivos e doses utilizadas.
- Processo de mistura da ração na fábrica de ração, ir à fábrica de ração e observar o tipo de misturador, o tempo de mistura, o desgaste do equipamento. Verificar a qualidade da mistura observando a presença de manchas e/ou pelotas, se for necessário solicite um teste de mistura.
- Observar o aspecto da ração, enfocando cor, cheiro, granulometria, homogeneidade, presença de sementes tóxicas e segregação gravitacional da ração.
- Observar o material e a condição da cama do aviário, incluindo tipo, procedência, umidade e aspecto.
- Verificar a qualidade e possíveis contaminações (físicas químicas e microbiológicas) da água de bebida.
- Checar o programa de biossegurança da granja, correlacionando: desinfecção do galpão, pulverização das instalações, combate a roedores, animais silvestres e insetos.
- Investigar os arredores do galpão, observando a possibilidade de tratamento de pomares, pastos, lavouras ou arborização.
- Observar criteriosamente as aves, através de um exame clínico e necrópsia detalhados. Observar os sinais e lesões, enfocando principalmente os sistemas digestivo, respiratório, cardiovascular, nervoso e urinário.

O conjunto dessas informações pode presumir o diagnóstico da intoxicação na maioria dos casos, contudo em alguns casos a confirmação laboratorial pode ser necessária, nesses casos, o envio de aves (vivas ou mortas), ração, cama ou qualquer substrato suspeito deve ser efetuado.

## Tratamento das intoxicações

O tratamento de qualquer tipo de intoxicação baseia-se fundamentalmente em quatro providências:

- 1) Eliminar imediatamente a exposição do organismo ao agente tóxico.
- 2) Favorecer a excreção do agente tóxico.
- 3) Utilizar medicamentos específicos, antídotos e antagonistas.
- 4) Proceder um tratamento de suporte.

Na avicultura industrial a conduta terapêutica sempre deve ser abordada de forma econômica, baseando-se na relação custo/benefício. Normalmente, quando suspeita-se de uma possível intoxicação suspende-se imediatamente a fonte de contaminação, normalmente a ração. Em alguns casos, dependendo da situação, pode-se entrar com uma terapia para favorecer a excreção do agente tóxico, favorecendo a diurese, ou mesmo impedindo a absorção do mesmo. Para isso, utiliza-se protetores, adsorventes e adstringentes intestinais, cujos representantes mais importantes são: sais de magnésio e bismuto, silicatos de alumínio, pectina, carvão ativado e ácido tânico.

Para a terapia de suporte, normalmente recomenda-se utilizar rações com doses suplementares de metionina, colina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, vitaminas C e E e, ainda, selênio. A utilização de complexos poli-vitâmicos administrados na água de bebida pode também fazer parte da estratégia terapêutica de suporte.

Todas essas possibilidades devem ser analisadas à luz de um contexto econômico, sendo que a decisão do tratamento do lote deve passar inicialmente por critérios de saúde pública. Um lote avícola, com suspeita de intoxicação que acumule resíduos tóxicos na carcaça, com possibilidade de interferência na saúde humana, deve ser eliminado.

## Prevenção e controle das intoxicações

A melhor forma de prevenção das intoxicações na avicultura industrial é a educação dos recursos humanos que trabalham diretamente dentro do sistema de produção. Informação, treinamento e conscientização da mão-de-obra que participa das operações avícolas são de suma importância no estabelecimento e melhoria da qualidade dos processos. Do proprietário da empresa ao mais humilde dos funcionários, todos devem estar devidamente preparados para exercerem suas funções.

Particularmente, as intoxicações podem ser prevenidas dentro das fábricas de ração, tendo um cuidado especial no cálculo, manipulação e mistura de drogas potencialmente tóxicas. Contudo, em todas as operações avícolas, há a possibilidade acidental de introdução de um agente tóxico no sistema de produção pela ração, água, cama e ar, o que pode ser evitado por uma mão-de-obra qualificada, informada, consciente e preparada.

## Bibliografia

Arends JJ. External parasites and poultry pests. In: Calnek BW editor. Diseases of poultry. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p. 785-813.

- Bains BS. A manual of poultry diseases. Switzerland: Editiones Roche; 1979. 297 p.
- Brown TP, Julian RJ. Other toxins and poisons. In: Saif YM editor. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State Press; 2003. p.1133-1159.
- Carew LB, Evarts KG, Alster FA. Growth, feed intake, and plasma thyroid hormone levels in chicks fed dietary excesses of essential amino acids. **Poultry Science** 1988; 77(2):295-298.
- Carlile FS. Ammonia in poultry houses: a literature review. World's **Poultry Science** Journal 1984; 40:99-113.
- Chamandeep K, Sandhu BS, Sandhu HS, Brar RS, Kaur C. Haematological and biochemical studies on sodium chloride toxicity in broilers. *Indian Veterinary Journal* 1988; 75(5):430-433.
- Chiou W, Chen K, Yu B, Chiou WSP, Chen KL, Yu B. Effect of dietary organic arsenicals and cupric sulfate on copper toxicity, liver accumulation and residue in eggs and excreta of laying hens. *Animal Feed Science and Technology* 1988; 73:161-171.
- Daft BM, Bickford AA, Hammarlund MA. Experimental and field sulfaquinoxaline toxicosis in leghorn chickens. *Avian Diseases* 1989; 33:30-34.
- Damron BL. Toxicity of weed seeds common to the southeastern United States: A Review. *The Journal of Applied Poultry Research* 1998; 7(1):104-110.
- Damron BL, Funker LK. Broiler chick and laying hen tolerance to sodium hypochlorite in drinking water. **Poultry Science** 1993; 72:1650-1655.
- Dhillon AS, Winterfield RW, Thacker HL. Quaternary ammonium compound toxicity in chickens. **Avian Diseases** 1982; 26:928-931.
- Donaldson WE, Christensen VL. Possible toxic effects of gentamicin in newly hatched turkey poults. *Journal of Applied Poultry Research* 1995; 4:271-275.
- Dowling L. Ionophore toxicity in chickens: a review of pathology and diagnosis. **Avian Pathology** 1992; 21:355-368. Fowler NG. Anticoccidial Compendium. Belgium:Janssen Pharmaceutica; 1995. 73 p.
- Gilbert RW, Sander JE, Brown TP. Copper sulfate toxicosis in commercial laying hens. **Avian Diseases** 1996; 40(1):236- 239.
- Han Y, Baker DH. Effect of excess, methionine or lysine for broiler fed a corn-soybean meal diet. **Poultry Science** 1993; 72:1070-1074.
- Huber WG. Anti-sépticos e desinfetantes. In: Meyer JL, Booth NH, McDonald LE. *Farmacologia e Terapêutica em Veterinária*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1983. p. 620-643.
- Hutchison TWS, DeWitt WF. Quaternary ammonium compound toxicity in broiler chickens. *Canadian Veterinary Journal* 1996; 37(8):482-85.

- Javed MT, Pervaz S, Khan HA, Chatha ZA, Younis M. Studies on body weight, gross pathology and some serum enzymes of urea induced toxicity in broiler chicks. *Pakistan Veterinary Journal* 1995; 15(3):109-112.
- Julian RJ, Brown TP. Other Toxins and Poisons. In: Calnek BW. (ed). *Diseases of Poultry*. 10<sup>a</sup> Ed., Ames: Iowa State University Press; 1997. p. 979-1005.
- Kannan Y, Harayama H, Kato S. Bone histomorphology in tibial diaphysis of growing chicks administered excessive vitamin A. *Japanese Poultry Science* 1998; 35(2):108-116.
- Koelkebeck KW, Baker DH, Han Y, Parsons CM. Effect of excess lysine, methionine threonine or tryptophan on production performance of laying hens. *Poultry Science* 1991; 70:1651-1653.
- Larini L. *Toxicologia*. São Paulo: Ed. Manole; 1987. 315 p.
- Leeson S, Diaz G, Summers JD. *Poultry metabolic disorders and mycotoxins*. Guelph: University Books; 1995. 352 p.
- McDougald LR, Roberson EL. Drogas usadas contra nematóides. In: Booth NH, McDonald LE. *Farmacologia e terapêutica em veterinária*. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1992. p. 768-786.
- Nagaraja KV. Influencia del amoníaco sobre el sistema de defensa de las aves. *Avicultura Profesional* 1992; 9(3):132-134.
- Nageswara ARN, Feddy VR, Srilatha C. Effects of thiram on performance of layers. *Indian Journal of Poultry Science* 1996; 31(3):173-180.
- National Research Council. *Nutrient requirements of poultry*. 9th ed. Washington, DC: National Academy Press; 1994. 155 p.
- Peckham MC. Poisons and toxins. In: Hofstad MS editor. *Diseases of poultry*. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1984. p.783-818.
- Pereira CA. *Plantas tóxicas e intoxicações na veterinária*. Goiânia: CEGRAF-UFG; 1992. 279 p.
- Reece RL. Review of adverse effects of chemotherapeutic agents in poultry. *World's Poultry Science Journal* 1988; 44:193-216.
- Sander JE, Wilson JL, Rowland GN, Middendorf PJ. Formaldehyde vaporization in the hatcher and effect on tracheal epithelium of the chick. *Avian Diseases* 1995; 39(1):152-157.
- Schvartsman S. *Intoxicações agudas: monografias médicas*. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Ed. Sarvier; 1979.
- Shumard RF. The toxicity to chickens and antihelminthic effect of two forms of a piperazine complex on *Ascaridia gali* and *Heterakis gallinae*. *Poultry Science* 1957; 36:613-618.
- Thomke S, Elwinger K. Growth promotants in feeding pigs and poultry. II. Mode of action of

antibiotic growth promotants. *Annales de Zootechnie* 1998; 47(3):153-167.

Wenshyg C, Koulung C, Bi Y, Wsp C, Kl CBY. Effects of roxarsone on performance, toxicity, tissue accumulation and residue of eggs and excreta in laying hens. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1997; 74(2):229-236.

Wideman Jr RF, Kirby YK, Barton TL, Clark D, Bayyari GR, Huff WE, Moore Jr PA, Dunn PA. Excess dietary copper triggers enlargement of the proventriculus in broilers. *Journal of Applied Poultry Research* 1996; 5(3):219-230

**Aspectos da saúde ocupacional relacionados  
com a avicultura associados a produtos de  
origem avícola**

**11.1 - Aspectos da saúde ocupacional relacionados  
com a avicultura associados a produtos de origem  
avícola**

1025

*Luiz Augusto do Amaral, Fernanda de Rezende Pinto*

**Aspectos da saúde ocupacional relacionados com a avicultura associados a produtos de origem avícola**

<b>Doença de Newcastle</b>	<b>1026</b>
<i>Características da doença nas aves</i>	1026
<i>Características da doença nos seres humanos</i>	1026
<i>Cadeia epidemiológica</i>	1026
<b>Clamidiose aviária ou psitacose</b>	<b>1026</b>
<i>Características da doença nas aves</i>	1027
<i>Características da doença em seres humanos</i>	1027
<i>Cadeia epidemiológica</i>	1027
<i>Medidas de profilaxia</i>	1027
<b>Campilobacteriose</b>	<b>1027</b>
<i>Características da doença nas aves</i>	1027
<i>Características da doença em seres humanos</i>	1027
<i>Cadeia epidemiológica</i>	1027
<i>Medidas de profilaxia</i>	1028
<b>Histoplasmose</b>	<b>1028</b>



<i>Características da doença nas aves</i>	1028
<i>Características da doença em seres humanos</i>	1028
<i>Cadeia epidemiológica</i>	1028
<i>Medidas de profilaxia</i>	1028
<b>Salmoneloses</b>	<b>1028</b>
<i>Características da doença nas aves</i>	1029
<i>Características da doença em seres humanos</i>	1029
<i>Cadeia epidemiológica</i>	1029
<i>Medidas de profilaxia</i>	1029
<b>Influenza aviária</b>	<b>1029</b>
<i>Características da doença nas aves</i>	1030
<i>Características da doença em seres humanos</i>	1030
<i>Cadeia epidemiológica</i>	1030
<i>Medidas de profilaxia</i>	1030
<b>Outras zoonoses as quais o ser humano que trabalha na produção de aves pode estar exposto</b>	<b>1030</b>
<b>Hantavirose</b>	<b>1030</b>
<b>Leptospirose</b>	<b>1031</b>
<b>Algumas substâncias químicas as quais o ser humano que trabalha com avicultura pode estar exposto</b>	<b>1031</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>1033</b>

de origem avícola

Doença de Newcastle .....	1026
Características da doença nas aves .....	1026
Características da doença nos seres humanos .....	1026
Cadeia epidemiológica .....	1026
Clamidiose aviária ou psitacose .....	1026
Características da doença nas aves .....	1027
Características da doença em seres humanos .....	1027
Cadeia epidemiológica .....	1027
Medidas de profilaxia .....	1027
Campilobacteriose .....	1027
Características da doença nas aves .....	1027
Características da doença em seres humanos .....	1027
Cadeia epidemiológica .....	1027
Medidas de profilaxia .....	1028
Histoplasmose .....	1028
Características da doença nas aves .....	1028
Características da doença em seres humanos .....	1028
Cadeia epidemiológica .....	1028
Medidas de profilaxia .....	1028
Salmoneloses .....	1028
Características da doença nas aves .....	1029
Características da doença em seres humanos .....	1029
Cadeia epidemiológica .....	1029

Medidas de profilaxia .....	1029
Influenza aviária .....	1029
Características da doença nas aves .....	1030
Características da doença em seres humanos .....	1030
Cadeia epidemiológica .....	1030
Medidas de profilaxia .....	1030
Outras zoonoses as quais o ser humano que trabalha na produção de aves pode estar exposto .....	1030
Hantavirose .....	1030
Leptospirose .....	1031
Algumas substâncias químicas as quais o ser humano que trabalha com avicultura pode estar exposto .....	1031
Bibliografia .....	1033

# Aspectos da saúde ocupacional relacionados com a avicultura associados a produtos de origem avícola

**Luiz Augusto do Amaral, Fernanda de Rezende Pinto**

A prevenção de enfermidades é o caminho mais adequado para que se promova e proteja a saúde do ser humano. O ser humano está exposto a diferentes tipos de microrganismos causadores de enfermidades em seu dia a dia, enfermidades específicas da espécie humana e enfermidades adquiridas de animais consideradas zoonoses.

O ser humano adquire zoonoses em decorrência de sua exposição a agentes patogênicos eliminados por animais que chegam até ele por via direta, como por exemplo, a mordida e, por via indireta, por meio de alimentos, água, ar, solo e vetores.

Uma das maneiras que o ser humano se expõe a agentes infecciosos é por meio de seu trabalho, sua ocupação profissional, que pode gerar enfermidades com aspecto ocupacional. Dentre as ocupações está aquela das pessoas que trabalham com animais se expondo, assim, a agentes causadores de zoonoses. Este será o enfoque deste capítulo, onde de maneira bem objetiva serão abordados alguns aspectos relacionados à saúde ocupacional das pessoas que trabalham com a produção de aves.

Quando ocorre a transmissão de uma enfermidade entre seres humanos, entre animais e seres humanos ou vice-versa, acontece uma seqüência de fatos relacionados à esta transmissão aos quais se denomina cadeia epidemiológica. Essa cadeia é importante, pois se conhecendo essa seqüência pode-se implementar medidas de profilaxia para controlar ou prevenir a ocorrência de uma enfermidade.

Os elementos que fazem parte dessa cadeia são:

### Fonte de infecção

- vertebrado que alberga e elimina o agente etiológico para o meio exterior. Como exemplos: doentes, portadores e reservatórios.

### Via de eliminação

- principal via pela qual o agente é eliminado pela fonte de infecção. Como exemplos: fezes, sangue, urina, saliva.

### Via de transmissão

- via pela qual o agente chega até o novo hospedeiro. Pode ser direta, como mordida, ou indireta

através da água, alimentos, ar e fomites.

## Porta de entrada

- via pela qual o agente penetra no novo hospedeiro. Como exemplos: pele, mucosa do trato respiratório, mucosa digestiva, mucosa ocular.

## Hospedeiro susceptível

- vertebrado que é passível de ser infectado.

As medidas de profilaxia são as intervenções que se deve fazer em qualquer ponto da cadeia epidemiológica a fim de controlar ou prevenir a ocorrência de uma enfermidade.

Outro termo que deve ser definido é o período de incubação, que é o período de tempo entre a infecção e o aparecimento dos primeiros sintomas da doença.

No caso específico, do tema abordado nesse capítulo, o elo inicial da cadeia, ou seja, a fonte de infecção seria a ave doente ou portadora do agente etiológico e o elo final, o hospedeiro susceptível, seria o ser humano que trabalha com a produção desta espécie, cujos agentes etiológicos eliminados pelos animais chegariam até ele seguindo diferentes caminhos, que sendo conhecidos poderão favorecer a prevenção das doenças ocupacionais relacionadas com a avicultura.

Dentre as doenças que se transmitem das aves aos seres humanos e, portanto, podem colocar em risco a saúde das pessoas que trabalham na avicultura, pode-se destacar:

## Doença de Newcastle

A infecção pelo vírus da doença de Newcastle ocorre em aves domésticas e silvestres, sendo que nas criações comerciais de aves domésticas causa grande prejuízo econômico. A ocorrência nos seres humanos não é muito freqüente e ocorre especialmente como uma doença de caráter ocupacional.

### Características da doença nas aves

A doença basicamente ocorre em duas formas: a forma nervosa, onde as aves apresentam tremores, torcicolos e opistótomos e acomete aves de todas as idades, e a forma respiratória, onde as aves apresentam sintomas respiratórios e acomete aves adultas e pintinhos.

### Características da doença nos seres humanos

Nos seres humanos a doença se caracteriza por conjuntivite, lacrimejamento e congestão dos tecidos conjuntivais. Geralmente a conjuntivite é unilateral. E pode aparecer fotofobia. Em alguns casos a doença apresenta um quadro clínico semelhante à gripe, com pequena elevação de temperatura, inflamação da faringe e calafrios.

## Cadeia epidemiológica

**Fonte de infecção para os seres humanos:** aves infectadas ou doentes.

**Via de eliminação:** fezes das aves.

**Via de transmissão:** ar, através de aerossóis e contato com aves infectadas ou doentes.

**Porta de entrada:** conjuntiva ocular e trato respiratório superior.

**Hospedeiro susceptível:** sob o aspecto ocupacional pessoas que trabalham com as aves.

**Período de incubação na ave:** cinco a seis dias.

**Período de incubação no ser humano:** um a dois dias.

**Medidas de profilaxia:** a principal medida é a vacinação das aves.

Como as pessoas podem adquirir a doença, durante o processo de vacinação com vacina viva, através de pulverização, recomenda-se o uso de máscaras que protejam os vias respiratórias durante o processo, uma vez que tem sido reportados casos humanos cuja infecção ocorreu durante o processo de vacinação (Hanson, 1975).

A lavagem das mãos, de forma adequada, com água, bucha e sabão, após contato com as aves e vacinas vivas também deve ser observada. Ressalta-se o cuidado que se deve ter quando do preparo da vacina viva para que não se coloque a mão, após o manuseio da vacina, nos olhos e na boca.

## Clamidiose aviária ou psitacose

A psitacose é uma zoonose difundida no mundo inteiro. Sua ocorrência está mais relacionada às pessoas que trabalham com patos e pavões e aquelas que tem contato com psitacídeos. A doença é mais rara e benigna quando o agente etiológico que atinge o ser humano é oriundo de galinhas.

A psitacose humana é reportada esporadicamente na literatura antes da pandemia de 1929 e 1930, onde ocorreram aproximadamente 1.000 casos e 200 a 300 mortes em vários países que importaram pássaros exóticos da América do Sul (Schachter, 1975).

Antes de 1940 eram considerados reservatórios da *Chlamydia psittaci*, agente etiológico da psitacose, os papagaios e os periquitos e só a essas aves se dirigiam as medidas preventivas. A partir de 1940 outras espécies de aves como galinha, pombo e pavão foram consideradas reservatórios desse agente (Moreno, 1976).

Trabalho realizado na Checoslováquia, onde foram estudados 1.072 casos de psitacose, mostrou que 825 eram pessoas que trabalhavam em granjas avícolas, 12 eram visitantes de granjas, seis trabalhavam em laboratórios, três eram veterinários, dois trabalhavam em cozinhas e os outros tinham diversas profissões. Este estudo mostra bem o caracter ocupacional dessa doença (Moreno, 1976).

## Características da doença nas aves

A enfermidade nas aves muitas vezes é inaparente. Quando aparece, os sinais clínicos são caracterizados por febre, diarréia, anorexia e sinais respiratórios, sendo comum também o aparecimento de conjuntivite em diferentes graus de severidade.

## Características da doença em seres humanos

As formas mais leves de psitacose no ser humano são semelhantes à doenças respiratórias comuns e muitas vezes passam despercebidas. Entretanto, a enfermidade pode se instalar com mais severidade, aparecendo febre, calafrios, sudorese, dores nos músculos, perda de apetite e dor de cabeça, podendo aparecer também pneumonia. Em pessoas com mais de 50 anos e com imunidade suprimida, a doença pode se apresentar de forma mais grave, caracterizada por aumento do baço e do fígado, vômitos, diarreia, insônia, desorientação, depressão e até delírios (Schachtler, 1976; OPAS, 1997).

## Cadeia epidemiológica

**Fonte de infecção para os seres humanos:** aves infectadas, principalmente papagaio, pato, pavão e pombo.

**Via de eliminação:** fezes e em menor quantidade nas secreções nasais.

**Via de transmissão:** ar através de aerossol em ambiente contaminado e contato com aves vivas e mortas. O agente da doença resiste bem à dessecação, o que favorece este tipo de transmissão.

**Porta de entrada:** aparelho respiratório e conjuntiva ocular.

**Hospedeiro susceptível:** sob o aspecto ocupacional, pessoas que trabalham com as aves.

**Período de incubação na ave:** não definido.

**Período de incubação no ser humano:** 4 a 15 dias.

## Medidas de profilaxia

Baseiam-se na quimioprofilaxia das aves em caso de ocorrência da doença e uso de máscaras oro-nasais pela pessoa que trabalha no manejo das aves que evite a aspiração de aerossol, ou pelo menos um lenço umedecido cobrindo a boca e o nariz (OPAS, 1997).

## Campilobacteriose

As aves têm grande importância na transmissão do *Campylobacter jejuni*, considerado hoje um dos principais agentes bacterianos que causam enterites e diarreias nos seres humanos, principalmente em países em desenvolvimento, onde esse agente alcança a mesma importância das salmonelas (Acha & Szyfres, 1986).

A doença afeta todos os grupos de idade e pode se apresentar de forma esporádica ou em surtos.

Na Grã-Bretanha, 20% das consultas por enterites estavam associadas à campilobacteriose e, em nível nacional seriam 600.000 casos por ano. Pode-se considerar o *Campylobacter* uma importante causa de diarreia infantil no terceiro mundo, segundo Skirrow (1982) citado por Acha & Szyfres (1986).

## Características da doença nas aves

O *Campylobacter jejuni* pode causar diarreia em pintinhos quando o agente é administrado por via oral, mas uma grande porcentagem de aves sem nenhum sintoma contem essa bactéria em seu intestino.

## Características da doença no ser humano

Os principais sintomas são diarreia, febre, dor abdominal, vômitos e sangue nas fezes. Muitas vezes a febre está acompanhada de mal estar, dor de cabeça, dor muscular e dor nas articulações. É comum confundir os sintomas da campilobacteriose com apendicite, levando à realização de laparotomia exploratória (Acha & Szyfres, 1986).

## Cadeia epidemiológica

**Fonte de infecção:** aves doentes ou portadoras do agente.

**Via de eliminação:** fezes das aves.

**Via de transmissão:** contato direto com as aves doentes ou portadoras, e indireto através de água e alimentos contaminados por fezes das aves.

**Porta de entrada:** oral.

**Hospedeiro susceptível:** sob o aspecto ocupacional pessoas que trabalham com as aves.

**Período de incubação na ave:** não definido.

**Período de incubação no ser humano:** três a cinco dias.

## Medidas de profilaxia

Principalmente relacionadas com medidas de higiene, em especial lavar bem as mãos com água, escova e sabão após o manejo com as aves. Não comer, beber ou fumar durante o trabalho com as aves.

## Histoplasmose

A histoplasmose é uma doença de distribuição mundial e, segundo Benedek (1975) citado por Voigt & Kleine (1975), é uma enfermidade que afeta os seres humanos de forma endêmica em muitos países como Estados Unidos, África do Sul e países da América do Sul e Ásia Oriental, sendo que na Europa ocorre esporadicamente.

Já foram detectados surtos entre trabalhadores que se expõem a fezes de aves (OPAS, 1997). Os grupos de alto risco de adquirirem infecção são pessoas que limpam construções rurais como galinheiros e trabalhadores envolvidos em limpeza de parques altamente contaminados com fezes de aves (Furcolow *et al.*, 1961).

A histoplasmose é causada por um fungo o *Histoplasma capsulatum*, que apresenta forma de vida livre e forma de vida parasitária.

No caso da histoplasmose, a ave tem uma participação passiva na epidemiologia já que as suas fezes dão apenas suporte para manutenção e multiplicação do fungo no solo. Casos isolados e surtos têm sido relacionados com solos que apresentam acúmulo de fezes de aves. Parece que esse acúmulo permite que o *Histoplasma capsulatum* possa competir com os outros micror-organismos do solo e assim conseguir sua sobrevivência. (Acha & Szyfres, 1986). Acredita-se que as fezes mais velhas agem estimulando a produção das microconídias do fungo (Goodman & Larsh, 1967).

## Características da doença nas aves

As aves não são susceptíveis à infecção possivel- mente em decorrência da elevada temperatura



corporal (Acha & Szyfres, 1986).

## Características da doença nos seres humanos

Na grande maioria dos casos, a infecção se apresenta na forma assintomática. Quando aparecem os sintomas eles ocorrem em três formas: pulmonar aguda, que se assemelha à gripe, pulmonar crônica, que ocorre geralmente em pessoas com mais de 40 anos com sintomas muito parecidos com a tuberculose pulmonar, e a forma disseminada, mais grave e ocorre principalmente em jovens e idosos, com aumento do fígado e baço, febre e prostração. Essa forma tem letalidade alta.

Os casos mais graves são mais raros, como pode ser observado nos dados citados por Acha & Szyfres (1986) onde entre os anos de 1952 a 1963, nos EUA, ocorreram em média 68 mortes anuais por histoplasmose, apesar da alta prevalência de infecção em áreas endêmicas.

## Cadeia epidemiológica

**Fonte de infecção:** principalmente algumas espécies de morcegos funcionam como reservatório do agente.

**Via de eliminação:** fezes.

**Via de transmissão:** aerossóis oriundos de solo contaminado com fezes de aves ou morcegos. Existem casos relatados cuja via de transmissão do histoplasma foi o contato com a pena de frango (Campbell *et al.*, 1961).

**Porta de entrada:** via respiratória.

**Hospedeiro susceptível:** sob o aspecto ocupacional pessoas que trabalham com as aves. Período de incubação na ave: não definido. Período de incubação no ser humano: 5 a 18 dias

## Medidas de profilaxia

A principal medida é reduzir a exposição das pessoas que trabalham com a produção de aves à poeira, principalmente quando se remove as fezes ou o solo contaminado, com o uso de máscaras protetoras ou com a aspersão de água para evitar a formação de poeira. A utilização de solução de formol a 3% é efetiva para eliminar o *Histoplasma capsulatum* do solo quando se está na presença de um surto (Acha & Szyfres, 1986; OPAS, 1997).

## Salmonelose

A salmonelose, de distribuição mundial, é uma doença que sob a forma de zoonose, ou seja, quando é causada por sorotipos não específicos dos seres humanos, pode chegar ao ser humano por meio do contato direto com os animais, através do ar ou como mais comumente ocorre, através de alimentos, leite ou água contaminados.

Muitos sorotipos de *Salmonella* são patogênicos aos seres humanos e aos animais, encontrando-se muitas diferenças entre um país e outro quanto à prevalência dos diferentes sorotipos isolados de casos humanos. Em muitos países onde existe vigilância sobre a ocorrência de salmonelas, os sorotipos mais notificados são *Salmonella typhimurium* e *Salmonella enteritidis* (OPAS, 1997). Os principais reservatórios de salmonelas, que funcionam como fonte de infecção para o ser humano,

são as aves, bovinos, ovinos e suínos (Bell *et al.*, 1988). A salmonelose em aves jovens pode apresentar uma alta letalidade, cerca de 80% nas primeiras três semanas de vida, e as aves que sobrevivem podem se tornar portadoras por longos períodos, e as aves adultas quando expostas à infecção pelo contato com outras aves, alimentos ou ambiente contaminados podem também se tornar portadoras (Bowner, 1964; Hugh-Jones 1969). O estado de portador crônico é comum entre as aves (OPAS, 1997).

A salmonelose em aves na Suécia é inferior a 1%, na Dinamarca ao redor de 5% e ao redor de 7% na Finlândia, sendo mais elevadas em outros países. Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, não se encontram dados disponíveis, mesmo sendo a vigilância epidemiológica da salmonelose em animais de suma importância, uma vez que a via de transmissão da grande maioria das salmoneloses humanas não tíficas são alimentos de origem animal (Acha & Szyfres, 1986)

### Características da doença nas aves

Existem sorotipos adaptados às aves domésticas como a *Salmonella gallinarum* e a *Salmonella pullorum*, que são menos patogênicas ao ser humano, embora tenham sido descritos casos de salmonelose em crianças devido a esses sorotipos. Uma grande variedade de outros sorotipos é isolada com frequência de aves domésticas e, por essa razão, se considera a ave doméstica um importante reservatório de salmonelas para humanos (Acha & Szyfres, 1986).

Muitos sorotipos podem infectar as aves de maneira assintomática, mas quando ocorrem os sintomas eles são inapetência, sintomas nervosos e diarreia.

### Características da doença nos seres humanos

A salmonelose comumente se manifesta como uma enterocolite aguda, de início repentino, com dor de cabeça, dor abdominal, diarreia, náuseas e às vezes vômitos, sendo que quase sempre aparece febre. Muitas vezes as fezes líquidas e a perda de apetite permanecem por dias (OPAS, 1997).

### Cadeia epidemiológica

**Fonte de infecção:** aves doentes e portadoras.

**Via de eliminação:** fezes das aves.

**Via de transmissão:** contato direto com as aves, água e alimentos contaminados com fezes das aves e mãos do ser humano contaminada.

**Porta de entrada:** via oral.

**Hospedeiro susceptível:** sob o aspecto ocupacional pessoas que trabalham com as aves.

**Período de incubação na ave:** um a cinco dias

**Período de incubação no ser humano:** 12 horas a três dias.

### Medidas de profilaxia

Baseiam-se na higiene adequada das mãos após o manejo com as aves, uma vez que pode haver contaminação das mãos com as salmonelas existentes no ambiente ou nas aves infectadas, podendo ocorrer a transmissão pelo contato direto com a boca ou mesmo a contaminação cruzada

de alimentos, o que pode levar à infecção. Deve-se observar a lavagem adequada das mãos com a utilização de água, bucha e sabão.

## Influenza aviária

A influenza aviária é uma doença infecto- contagiosa, de distribuição mundial, causada pelo vírus influenza A e seus diferentes subtipos. Essa doença pode ser altamente letal para aves domésticas, como galinhas, perus e patos, causando prejuízos econômicos para a avicultura (Ibiapina *et al.*, 2005).

Além disso, a influenza aviária é uma zoonose e representa preocupação permanente aos agentes de saúde pública, uma vez que alguns subtipos de vírus de influenza aviária (H5N1, H9N2, H7N7 e H7N2) foram transmitidos diretamente de aves domésticas para seres humanos, ocasionando doença severa e óbitos (Webster & Hulse, 2004). Por esse motivo, a influenza aviária é uma das enfermidades avícolas da Lista A da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e de notificação obrigatória ao Serviço Veterinário Oficial do Brasil (Carvalhanas *et al.*, 2007).

Desde 1997 relata-se o ocasional acometimento humano pelos vírus da influenza aviária. Mais recentemente, desde 2004, mais de 200 casos confirmados de infecção humana pelo subtipo H5N1 foram diagnosticados. A maioria dessas infecções resultou do contato direto das pessoas com aves domésticas infectadas ou superfícies contaminadas pelo vírus e mais da metade das pessoas infectadas veio a óbito (CDC, 2007).

### Características da doença nas aves

Na maior parte das aves aquáticas e silvestres, que são reservatórios naturais do vírus da influenza aviária, a infecção se desenvolve de maneira assintomática. Nas aves domésticas ocorrem alterações nos tratos respiratório, digestório, urinário e reprodutor. Os sinais incluem anorexia, apatia, tosse, coriza, sinusite, conjuntivite e excessivo lacrimejamento. (CDC, 2007). Pode ocorrer quadro de diarreia, edema de barbela e desordens neurológicas. Em poedeiras observa-se queda acentuada na produção de ovos e depressão. A forma aguda do vírus altamente patogênico provoca mortalidade repentina e maciça (mais de 80% das aves).

### Características da doença nos seres humanos

Os sintomas de influenza aviária em humanos podem variar desde sinais típicos de gripe (febre, tosse, dor de garganta e dores musculares) e conjuntivite até uma sintomatologia mais severa, com complicações respiratórias que podem levar ao óbito (CDC, 2007).

### Cadeia epidemiológica

**Fonte de infecção para os seres humanos:** aves infectadas ou doentes.

**Via de eliminação:** saliva, secreções respiratórias e fezes das aves infectadas.

**Via de transmissão:** contato direto com aves infectadas, ou indireto com superfícies, objetos, água e alimentos contaminados por excreções destas.

**Porta de entrada:** sistema digestório e respiratório.

**Hospedeiro susceptível:** sob o aspecto ocupacional pessoas que trabalham com as aves.

**Período de incubação na ave:** 3 a 5 dias.

**Período de incubação no ser humano:** 7 a 14 dias.

## Medidas de profilaxia

A principal medida é higienizar bem as mãos com auxílio de escova, sabão e água após entrar em contato com aves e sempre utilizar luvas para manusear aves encontradas mortas. Os mesmos procedimentos de higiene devem ser feitos na cozinha ao manipular carne das aves e ovos. Deve-se consumir somente esses produtos cozidos adequadamente. Soluções desinfetantes como hipoclorito sódico a 10%, soda cáustica e formalina são utilizadas para desinfecção das instalações e equipamentos das criações de aves.

## Outras zoonoses as quais o ser humano que trabalha na produção de aves pode estar exposto

Destacam-se duas zoonoses relacionadas aos roedores como fonte de infecção, uma vez que a grande quantidade de ração e milho existentes nas propriedades avícolas pode atrair esses animais em busca de alimento, são elas a hantavirose e a leptospirose.

### Hantavirose

Zoonose relacionada com a presença de roedores silvestres, ratos que vivem no campo. O agente é um vírus eliminado pelas fezes, urina e saliva desses roedores. No ser humano é uma doença grave de alta letalidade, podendo aparecer na forma de síndrome hemorrágica com comprometimento renal, com letalidade em torno de 5%, e na forma respiratória grave, com letalidade ao redor de 50% (OPAS, 1997).

O ser humano se infecta por respirar aerossóis em ambiente infestados por roedores silvestres, em especial locais fechados com pouca ventilação. Entretanto, em alguns casos em que a contaminação é intensa, a infecção pode ocorrer mesmo em locais abertos.

O controle de roedores silvestres é difícil; o mais importante é impedir o acesso desses animais aos depósitos de ração e aos galpões, através de medidas que impeçam a sua entrada. O acondicionamento adequado dos alimentos, milho e ração é fator importante para evitar a presença desses roedores.

A via de transmissão da hantavirose são aerossóis oriundos de ambiente contaminado que são aspirados. Deve-se, portanto, tomar cuidado de não varrer ambiente seco que suspenderia muita poeira, ventilar bem o ambiente antes de manusear ração, umedecer o ambiente antes de varrer e, se possível, utilizar máscara oro-nasal protegendo-se da aspiração de poeira, que pode ser substituída em último caso por lenços umedecidos cobrindo o nariz e a boca (OPAS, 1997).

### Leptospirose

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial causada por bactérias do gênero

Leptospira. O sorovar icterohemorrhagiae está relacionado com os roedores, em especial com as ratazanas *Rattus norvegicus*, que são reservatórios e eliminam grande quantidade de leptospiras na urina. Como esses roedores têm o hábito de urinar nos alimentos, facilita a disseminação do agente no meio ambiente.

O ser humano pode se infectar pelo contato direto com a urina dos roedores e também pela água e alimentos contaminados.

A doença no ser humano, em especial a causada pelo sorovar icterohaemorrhagiae, relacionado com os roedores, se caracteriza por: febre, dor de cabeça, dores musculares, conjuntivite, náusea, vômito, diarreia e icterícia.

No caso de granjas avícolas onde se depositam os alimentos como ração e milho de maneira inadequada, a proliferação dos roedores pode ser muito grande, levando a prejuízos de ordem econômica e de saúde pública.

O controle dos ratos deve ser realizado de maneira periódica com a utilização de raticidas, mas o mais importante são as medidas tomadas no ambiente a fim de impedir o acesso desses roedores aos alimentos das aves, evitando assim a sua proliferação.

Após essa breve abordagem sobre a possível exposição ocupacional do trabalhador à algumas zoonoses quando do manejo de aves, depreende-se que as medidas de higiene, como a lavagem adequada das mãos após o trabalho, o controle das doenças nas aves, a higiene ambiental e a utilização de meios que impeçam a respiração de aerossóis oriundos de ambientes contaminados, são medidas importantes a serem observadas pelas pessoas, visando à proteção da sua saúde durante o dia-a-dia de trabalho na avicultura.

## Algumas substâncias químicas as quais o ser humano que trabalha com avicultura pode estar exposto

Geralmente, na prática do dia na criação de aves, o ser humano está em contato com algumas substâncias químicas que são utilizadas principalmente no controle de vetores, parasitas e também no processo de desinfecção. Abordaremos de forma rápida algumas dessas substâncias, baseado nas informações contidas em Linton *et al.* (1987) e Windholz *et al.* (1976).

**Formol:** o formaldeído é utilizado como desinfetante e geralmente é encontrado na forma de solução aquosa denominada formalina com 34 a 38% do gás formaldeído dissolvido. É uma substância bastante irritante para a pele, trato respiratório e olhos. A ingestão da solução de formaldeído leva a dores abdominais intensas, depressão do sistema nervoso e coma. A morte pode advir da falência circulatória. A exposição crônica ao formaldeído pode causar alterações na pele e problemas respiratórios. Deve-se, portanto, evitar inalação do produto e contato com a pele. O uso de luvas e máscaras ao manusear o produto é indicado. A lavagem imediata da parte do corpo que teve contato com o produto é importante.

**Hipoclorito de sódio:** utilizado como desinfetante e no tratamento da água, geralmente encontrado em solução aquosa com 12% de cloro ativo e também em concentração de 2 a 5% denominada

água sanitária. A ingestão do produto pode causar corrosão da mucosa do esôfago, perfuração gástrica e edema de laringe. A inalação pode causar irritação dos brônquios e edema pulmonar, sendo que o contato prolongado com a pele pode causar irritação. Deve-se lavar bem as mãos após a manipulação do produto e evitar manusear o produto em local pouco ventilado.

**Compostos de amônia quaternária:** utilizados como desinfetante, são altamente tóxicos se ingeridos, podendo causar depressão no sistema nervoso, com convulsões e hipotensão, podendo ocorrer o coma. Podem causar irritação na pele pelo contato prolongado. O produto deve ser manuseado com cuidado e as mãos devem ser lavadas após o seu manuseio.

**Hidróxido de sódio:** denominado de soda cáustica, utilizado como desinfetante na forma de solução aquosa. É uma substância muito irritante e corrosiva e sua ingestão pode causar vômito, prostração e colapso. A inalação do produto em forma de pó pode causar irritação do aparelho respiratório. O manuseio do produto pode causar irritação da pele. O produto deve ser manuseado com cuidado com uso de luvas. Deve-se evitar a inalação do hidróxido de sódio e também de poeiras em ambientes com alta concentração do produto.

**Fenol:** os compostos a base de fenol apresentam amplo espectro de ação desinfetante e alta solubilidade em água. Comercialmente pode ser encontrado na forma cristalina ou de soluções aquosas, que apresentam concentrações de 2 a 5%. São produtos tóxicos para os animais, e prejudiciais ao meio ambiente. Para o ser humano, seu manuseio pode causar irritações na pele e mucosas, levando a queimaduras severas. Pode ser fatal se inalado ou ingerido. A inalação causa irritações nos olhos e nariz, afeta o sistema respiratório e pode levar à convulsões. O contato com os olhos ocasiona irritações severas, podendo levar à cegueira, e se ingerido pode causar gangrena e ulcerações no sistema digestório. O uso de luvas, óculos de proteção e máscara são indicados para manusear os produtos à base de fenol. Em caso de contato com os olhos, deve-se lavá-los imediatamente com muita água por, pelo menos, 15 minutos. Em contato com a pele deve-se lavar o local com água e sabão até a remoção completa do produto.

**Cresol:** cresóis são substâncias derivadas dos fenóis, apresentando-se menos tóxicos e menos cáusticos que o fenol. No entanto, em sua forma concentrada possui ação irritante e corrosiva. Deve-se evitar a ingestão e inalação do produto, além do contato com a pele, olhos e mucosas. Deve-se utilizar luvas e óculos de proteção para manipular as soluções de cresóis, evitando-se queimaduras nos olhos e pele. Em caso de acidentes, deve-se lavar o local atingido com água em abundância.

**Iodo:** o iodo é utilizado como desinfetante na forma de solução aquosa. É uma substância muito irritante para os olhos e pele. Por ser corrosivo, sua ingestão provoca queimaduras na boca, garganta e estômago, causando dores abdominais, diarreia, febre, vômito e choque. Em contato com a pele observam-se queimaduras, irritação e muita dor local. O contato com os olhos causa irritação e pode levar a danos oculares permanentes. A exposição crônica ao iodo ocasiona sintomas como insônia, conjuntivite, inflamações das mucosas nasais, bronquite, taquicardia, diarreia e perda de peso. Ao manusear esse produto, deve-se evitar contato direto com a pele, se isso ocorrer, lavar o local com bastante água limpa corrente. Além disso, é recomendado o uso de luvas e máscara protetora ao aplicar o produto.

**Inseticidas organofosforados:** são produtos químicos que são absorvidos pelo corpo humano por

diversas vias, tais como a via dérmica, respiratória e pelas mucosas. A intoxicação por via oral ocorre em casos de acidentes, sendo que, para a exposição ocupacional, as vias dérmica e respiratória são as mais importantes. O indivíduo intoxicado apresenta dor de cabeça, vertigens, salivação, náuseas, vômitos, fraqueza muscular, diarreia e convulsões, dependendo da dose do produto que foi absorvida. Deve-se tomar muito cuidado ao manipular o produto. O uso de luvas é recomendado e o uso de roupa que não deixe o corpo exposto também pode ser usada. Deve-se sempre manipular o inseticida em local com boa ventilação, pois minimiza a inalação do mesmo. Caso haja contato com a pele, lavar imediatamente em bastante água corrente.

**Inseticidas piretróides:** são facilmente absorvidos pelos trato digestivo e respiratório e são pouco absorvidos pela pele, mas podem desencadear reações alérgicas em contato com a pele. Os sintomas no ser humano intoxicado são ardência e sensação de queimadura no rosto, vertigens, dor de cabeça e falta de apetite. A via respiratória parece ser a mais importante na exposição ocupacional, por isso a manipulação em local ventilado e uso de máscara apropriada são medidas importantes.

De maneira geral o cuidado no manuseio dos produtos impedindo o contato com a pele, importante via de absorção de muitos deles, e a lavagem imediata do local quando ocorre o contato usando bastante água corrente são medidas importantes.

O manuseio desses produtos em local bem ventilado também é importante no sentido de minimizar a inalação e a absorção pela via respiratória. Quando o manuseio tem que ser feito em ambiente de pouca ventilação, o uso de máscara apropriada é indicado.

Os produtos químicos devem ser armazenados nos frascos próprios ou em vasilhame identificado e longe do alcance de crianças e animais domésticos.

Os vasilhames que tiveram contato com produto químico não devem ser utilizados para outra finalidade, e quando forem descartados devem ser de maneira adequada, não deixando que causem impacto ambiental e nem risco à saúde das pessoas.

Após o manuseio de qualquer produto químico a lavagem das mãos em bastante água corrente é muito importante para evitar a ingestão acidental e a contaminação de alimentos e água.

Após a ocorrência de qualquer acidente como ingestão e contato com sintomas de irritação além dos cuidados imediatos já citados deve-se procurar socorro médico e sempre levar a embalagem do produto para auxiliar a intervenção médica.

Além de todas as medidas preventivas deve-se buscar sempre a utilização de produtos menos tóxicos, afim de que se possa proteger a saúde do trabalhador e causar o menor impacto ambiental possível, pois só assim estaremos em concordância com o processo da vida.

## **Bibliografia**

Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington: OPS; 1986.

Bell JC, Palmer SR, Payne JM. The zoonoses: infections transmitted from animals to man. London: Edward; 1986.

Bowner EJ. The challenge of salmonellosis major public health problem. American Journal Medical Science 1964; 247:467-501.

Campbell CC, Hill GB, Falgout BT. Histoplasma capsulatum isolated from feather pillow associated with histoplasmosis in a infant. Science 1961; 136:1050-1051.

Carvalhanas TR, Paiva TM, Barbosa H. Influenza humana e aviária. [cited 10 jun. 2007]. Available from: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa38\\_influ.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa38_influ.htm)

CDC-Control Disease Center. Dact sheet - key facts about avian influenza (bird flu) and avian influenza A (H5N1) virus. [cited 27 jun. 2007]. Available from: [http://www.cdc.gov/flu/avian/gen-info/pdf/avian\\_facts.pdf](http://www.cdc.gov/flu/avian/gen-info/pdf/avian_facts.pdf).

Ferreira AP, Astolfi-Ferreira CS. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura; 2006 abr. 04-06; Chapecó, SC. Brasil. p.56-69.

Furcolow ML, Tosh FE, Larsh HW, Lynch HJ, Shaw G. The emerging pattern of urban histoplasmosis: studies on an epidemic in Mexico, Missouri. New England Journal of Medicine 1961; 264:1226-1230.

Goodman NL, Larsh HW. Environmental factors and growth of Histoplasma capsulatum in soil. Mycopathologia 1967; 33:145-156.

Hanson RP. Newcastle disease. In: Hubbert WT, McCulloch WF, Schnurrenberger PR, editors. Diseases transmitted from animals to man. Illinois: Charles & Thomas; 1975. p. 369-381.

Hugh-Jones ME. Epidemiological studies os *Salmonella* senftenberg II. Infecyions in farm animals. Journal of Hygiene Cambridge 1969; 67:89-94.

Ibiapina CC, Costa GA, Faria AC. Influenza A aviária (H5N1) - a gripe do frango. Jornal Brasileiro de Pneumologia 2005; 31(5):436-44.

Jaenisch FRF. Procedimentos de biosseguridade na criação de frangos no sistema agroecológico. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves; 2000. p.1-5.

Linton AH, Hugo WB, Russel AD. Disinfection in veterinary and farm animal. Oxford: Practice.Blackweel Scientific Publications; 1987.

Manual de Produtos Químicos Perigosos. Ficha de informação de produto químico CETESB. (2007). [cited 2007 jul 01]. Available from: [www.cetesb.sp.gov.br](http://www.cetesb.sp.gov.br).

Moreno LS. Las Zoonosis. Barcelona: Aedos; 1976.

Organização Panamericana da Saúde. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Washington; 1997.



Paulino CA. Anti-sépticos e desinfetantes. In: Spinosa HS, Górnaiak SL, Bernardi MM. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.

Safety data for iodine. [cited 2007 jul. 10]. Available from:  
<http://physchem.ox.ac.uk/MSDS/IO/iodine.html>

Safety data for phenol. [cited 10 jul. 2007]. Available from:  
<http://physchem.ox.ac.uk/MSDS/PH/phenol.html>

Schachter J . Posittacosis. In: . Hubbert WT, Mcculloch WF, Schnurrenberger PR. Diseases transmitted from animals to man. Illinois: Springfield; 1986.

Voigt A, Kleine FD. Zoonosis. Zaragoza: Acribia; 1975.

Webster RG, Hulse DJ. Microbial adaptation and change: avian influenza. Scientific and Technical Review 2004; 23 (2):453-465.

Windholz M, Budavari S, Stroumtsos LY, Fertig MN. The merck index. 9th ed. Rahway (NY): Merck & Co; 1976.

**Agentes de enfermidades de interesse em  
saúde pública associados a produtos de  
origem avícola**

**12.1 - Agentes de enfermidades de interesse em  
saúde pública associados a produtos de origem  
avícola**

1039

*Oswaldo Durival Rossi Júnior, Angelo Berchieri Júnior, Livia Mara  
Felipe*

**Agentes de enfermidades de interesse em  
saúde pública associados a produtos de  
origem avícola**

<b>Introdução</b>	<b>1039</b>
<b>Origem dos agentes</b>	<b>1040</b>
<b>Principais agentes microbianos patogênicos veiculados por produtos de origem avícola</b>	<b>1041</b>
<i>Salmonella spp.</i>	1041
<i>Febre entérica ou febre tifóide</i>	1042
<i>Septicêmica ou extra-intestinal</i>	1043
<i>Gastrentérica</i>	1043
<i>Campylobacter sp</i>	1044
<i>Dose infectante e mecanismos de patogenicidade</i>	1045
<i>Escherichia coli</i>	1046
<i>Listeria monocytogenes</i>	1047
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1048
<i>Staphylococcus aureus</i>	1049
<b>Papel da alfa-toxina na patogênese</b>	<b>1049</b>
<b>Papel da toxina epidermolítica (ET) na patogênese</b>	<b>1050</b>
<b>Papel da toxina da síndrome do choque tóxico na patogênese</b>	<b>1050</b>
<b>Papel das enterotoxinas na patogênese</b>	<b>1050</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>1051</b>

# Agentes de enfermidades de interesse em saúde pública associados a produtos de origem avícola

Oswaldo Durival Rossi Júnior, Angelo Berchieri Júnior, Livia Mara Felipe

## Introdução

A crescente demanda por produtos alimentícios por parte da população determinou, nas últimas décadas, um significativo processo de desenvolvimento da avicultura brasileira. Este desenvolvimento envolveu ampla transformação pela inovação, iniciada na produção de alimento animal com avanços tecnológicos e da oferta de soja e milho, passando pela genética que propiciou a criação de raças e linhagens com elevada taxa de conversão alimentar e, pelos avanços na defesa sanitária e na tecnologia de criatórios, alcançando a construção de estruturas empresariais modernas que organizaram sistemas de integração com criadores de elevada capacidade na resposta aos desafios da mudança técnica (Gonçalves & Peres, 2006).

Essa evolução e eficiência na produção tiveram seus reflexos na industrialização onde, paralelamente ao comércio da carcaça inteira, expandiu-se o comércio de cortes resfriados ou congelados, com ou sem osso. Mais recentemente, surgiram os produtos prontos ou semi-prontos, ou seja embutidos, reestruturados, temperados e empanados, sendo que as operações de corte e desossa passaram a constituir porcentagem significativa das atividades de um abatedouro (Garcia, 2002).

Dado à forma intensiva de produção, onde as aves são mantidas em galpões sobre camadas de produtos vegetais (camas), é inevitável que estas contenham uma gama bastante variável de microrganismos nas penas, espaços interdigitais, tegumentos cutâneos, sistema digestório e, em menor grau, no trato respiratório. É inevitável também que, por essas vias, esses microrganismos cheguem aos abatedouros. Desta forma, a carga microbiana das carcaças de frangos e seus derivados é representada pela microbiota originária das aves vivas somada àquela incorporada nas fases do abate ou processamento.

Os microrganismos que compõem a microbiota contaminante podem ser divididos em dois grandes grupos, representados por aqueles de ação basicamente deteriorante e por aqueles potencialmente patogênicos. Neste segundo grupo, de forma especial, estão incluídos *Salmonella* spp., *Campylobacter* sp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. Em alguns casos ainda *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas* spp. e *Clostridium perfringens* também podem ser importantes patógenos. Entretanto, são considerados os maiores causadores de doenças transmitidas por alimentos de origem avícola *Salmonella* spp., *Campylobacter* sp. e, em menor grau, *Listeria monocytogenes*.

Esses microrganismos encontram, na carne de aves e na maioria dos sub-produtos, condições favoráveis à sobre- vivência e proliferação, condições estas representadas por fatores intrínsecos como a rica constituição, alta atividade de água e pH próximo à neutralidade (ICMSF,1980).

## Origem dos agentes

Tendo em vista as inúmeras fontes de contaminação a que os alimentos de origem avícola estão expostos, considera-se que os microrganismos podem ter origem de contaminações primárias ou secundárias (Fehlhaber & Janetschke, 1995). É conhecida como contaminação primária aquela em que os microrganismos presentes no organismo animal passam aos produtos obtidos, como a carne, ovos (conteúdo microbiano original). No animal sadio este tipo de contaminação se constitui em uma exceção, tendo em vista que as barreiras orgânicas se incumbem de manter os agentes em seus nichos. Na ocorrência de alterações no estado de saúde ou estresse, o equilíbrio microrganismo-hospedeiro pode se romper e, por exemplo, os microrganismos procedentes do sistema digestório atravessarem a chamada “barreira entérica” e provocarem septicemia. Estes processos se revestem de importância em todos os animais de açougue, e especialmente em aves, que são altamente sujeitas a estresse, pois, podem originar uma bacteremia insipiente pouco tempo antes do sacrifício. Normalmente estes processos aparecem sem qualquer manifestação anatomopatológica aparente, o que impede a sua detecção através da inspeção *post-mortem*. Se neste tipo de contaminação estiverem presentes microrganismos determinantes de zoonoses, existe a ameaça de contágio ao consumidor. Trabalhar com animais sadios e em ambiente limpo e o mais tranqüilo possível são importantes premissas com vistas a evitar a contaminação primária.

Relativamente ao ovo das aves considera-se que seu conteúdo geralmente é estéril, embora, desde o início dos anos 80, tenha sido constatada a presença eventual de *Salmonella* sp. na gema. A mesma pode ser encontrada no ovário ou na parte alta do oviduto da galinha e contaminar o ovo antes da formação da casca (EMBRAPA, 2004). Além da *Salmonella* sorotipos Pullorum, Enteritidis, Typhimurium, outros microrganismos como micoplasmas, *Escherichia coli*, vírus da Encefalomielite e Bronquite Infecciosa das Galinhas podem ser encontrados em ovos, decorrentes de contaminação chamada primária.

Muito mais freqüente é a contaminação secundária que apresenta fontes variadas, compreendendo todas as possibilidades de contaminação existentes fora do organismo vivo. Este tipo de contaminação inicia-se nas incubadoras, se estende durante toda a fase criatória, transporte e se agrava nos processos de abate e industrialização.

O ambiente interno das incubadoras pode ser contaminado através das cascas dos ovos contaminados, das fezes e penugens das aves recém-nascidas e as correntes de ar se incumbem de promover uma distribuição uniforme. A partir daí outras aves recém nascidas são colonizadas por microrganismos que ingerem com fezes, que inalam juntamente com poeira ou por contato com superfícies.

Durante a fase criatória atuam como fontes potenciais de contaminação os alimentos, água, solo, cama, poeira e outros reservatórios e vetores como roedores, aves silvestres, insetos, etc. No transporte várias podem ser as formas da disseminação de microrganismos entre os animais; aves infectadas difundem o agente entre outras, de forma direta ou indireta através dos engradados

(Corry *et al.*, 2002); microrganismos de origem fecal e de secreções nasais aderem-se às penas e pés. Zancan *et al.* (2000) observaram alta frequência de salmonelas em forro de caixas de entrega de pintos; 83% e 50% para as amostras de aves reprodutoras e poedeiras, respectivamente.

As aves contaminadas por todas essas fontes podem chegar à indústria e lá começar a disseminação para todas as carcaças nas diferentes fases do fluxograma de processamento. Barrow (2000) afirma que níveis de infecção por salmonelas menores que 5% entre as aves abatidas, podem chegar a 50% entre as carcaças, decorrente da disseminação do agente durante o transporte e abate. Algumas operações do processamento determinam um aumento significativo da contaminação ou, inclusive, permitem a multiplicação dos microrganismos contaminantes. Outras promovem reduções significativas da contaminação. As mais altas taxas de contaminação das carcaças de frangos ocorrem nas primeiras operações do abate como, pega, sangria, escaldagem e depenagem.

Na água de escaldagem é liberado continuamente terra, poeira, fezes, sangue com grande quantidade de microrganismos, incluindo patogênicos. Esta água atua disseminando os microrganismos para todas as partes da carcaça, principalmente pulmões. Rossi Júnior *et al.* (1988) encontraram populações de *Escherichia coli* e de *Staphylococcus aureus* de  $8,3 \times 10^2$  UFC/mL e  $5,5 \times 10^3$  UFC/mL, respectivamente, em água de escaldagem de abatedouro avícola localizado no estado de São Paulo.

A contaminação das carcaças pelo *Staphylococcus aureus* pode aumentar milhares de vezes durante o processamento, especialmente durante a depenagem (Lahellec *et al.*, 1977; Gibbs *et al.*, 1978; Adams & Mead, 1983; Dodd *et al.*, 1988). Gibbs *et al.* (1978) verificaram que os “dedos de borracha” das depenadeiras permitem a sobrevivência e multiplicação do *Staphylococcus aureus*, persistindo este microrganismo, neste nicho, por meses ou anos. Nesse equipamento ficam depositados restos de matéria orgânica que são utilizados pelos microrganismos. Somado a isto se tem a temperatura do equipamento, em torno de 30°C, decorrente do calor que é transferido pelas aves processadas ainda quentes e que é altamente favorável ao desenvolvimento microbiano (Dodd *et al.*, 1988). Como fator adicional tem-se a dificuldade em promover a efetiva lavagem e desinfecção dos dedos de borracha que normalmente apresentam um certo grau de deterioração e os microrganismos, incluindo o *Staphylococcus aureus*, podem penetrar através da superfície e ficarem protegidos dos agentes sanitizantes. Almeida & Silva (1992) em um estudo com *Escherichia coli* também verificaram aumento da população na superfície das carcaças após as operações de escaldagem e depenagem.

Durante a evisceração os microrganismos podem ser transferidos de uma carcaça a outra por manipuladores e equipamentos. Essa transferência tanto pode ocorrer devido a falhas no processo, quer seja manual ou mecanizado, como também em função da velocidade muitas vezes elevada do fluxograma de abate. A abertura manual da cavidade abdominal e a evisceração manual podem produzir considerável contaminação cruzada, especialmente quando há rompimento dos intestinos (Russell & Walker, 1997).

A lavagem das carcaças ao final da evisceração elimina a matéria orgânica e parte dos microrganismos superficialmente aderidos durante as fases anteriores. Esta remoção é mais evidente quando utilizada água sob pressão, embora alguns estudos mostrem que ela não chega a ser significativa em alguns casos (Silva, 1997). Nesta fase pode ocorrer contaminação com

microrganismos da água como dos gêneros *Pseudomonas* e *Aeromonas* (Barnhart *et al.*, 1989).

A fase de resfriamento tem função básica de evitar o desenvolvimento microbiano e conservar a qualidade da carne. Isto é conseguido pelo abaixamento rápido da temperatura interna e externa da carcaça. A maioria dos abatedouros utiliza sistema de resfriamento envolvendo água e gelo, que pode ser realizado em tanques estáticos ou contínuos. O resfriamento em tanques também tem participação direta na contaminação das carcaças e a carga microbiana das carcaças, ao saírem do tanque, depende da contaminação inicial das mesmas antes do resfriamento, quantidade e vazão da água e relação de aves por volume de água. Populações da ordem de  $1,6 \times 10^3$  e  $2,5 \times 10^3$  UFC/mL de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente, foram encontradas por Rossi Júnior *et al.* (1988) em água de pré-resfriamento de um abatedouro localizado no estado de São Paulo.

A qualidade microbiológica dos produtos de origem avícola é o resultado da ação do conjunto dos fatores tratados, que intervêm nas distintas etapas da produção. Estudos têm demonstrado que a vida útil desses produtos está relacionada com a qualidade microbiológica inicial, porém, como para todos os alimentos, o respeito à cadeia de frio é absolutamente essencial para preservar a qualidade microbiológica e as características organolépticas do produto, bem como a saúde pública.

## **Principais agentes microbianos patogênicos veiculados por produtos de origem avícola**

### *Salmonella* spp.

O gênero *Salmonella*, pertencente à família Enterobacteriaceae, caracteriza-se por se apresentar em forma de bacilos, Gram negativos, não esporulados, oxidase - e catalase +. As salmonelas têm ampla distribuição na natureza, sendo o trato intestinal do ser humano e de animais seu principal reservatório.

O sistema de classificação atualmente adotado (Center for Diseases Control) estabelece que o gênero *Salmonella* apresenta duas espécies e que estas contêm mais de 2400 sorotipos. As espécies são *S. enterica* e *S. bongori*, sendo a primeira subdividida em seis subespécies, *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *hautenae* e *indica*, que são também referenciadas através de algarismos romanos (I, II, IIIa, IIIb, IV e VI). A espécie *Salmonella bongori* está contida no grupo V ([Tabela 1](#)) (Brenner *et al.*, 2000)



**Tabela 1** – Espécies, subespécies e grupos de Salmonela segundo o Center of Disease Control (CDC/ EUA).

<b>Espécie</b>	<b>Subespécie</b>	<b>Grupo</b>
<i>Salmonella enterica</i>	<i>enterica</i>	I
<i>Salmonella enterica</i>	<i>salamae</i>	II
<i>Salmonella enterica</i>	<i>arizonae</i>	IIIa
<i>Salmonella enterica</i>	<i>diarizonae</i>	IIIb
<i>Salmonella enterica</i>	<i>houtenae</i>	IV
<i>Salmonella enterica</i>	<i>indica</i>	VI
<i>Salmonella bongori</i>		V

Os sorotipos com nomes estabelecidos são incluídos no grupo I (Por exemplo, Enteritidis, Typhimurium, Typhi e Choleraesuis) e aqueles sorotipos que não têm denominação, apenas fórmula antigênica, descritos a partir de 1966, estão incluídos nos grupos II, IV e VI. Antes de 1966 apenas os sorotipos dos grupos IIIa e IIIb não recebiam nomes (Brenner *et al.*, 2000).

A maioria dos sorotipos conhecidos (59%) pertence à espécie *Salmonella enterica* subespécie *enterica*. Cepas que compõem este sorogrupo são responsáveis por aproximadamente 99% das infecções que acometem o ser humano e animais de sangue quente. Os demais sorotipos pertencentes às outras subespécies de *S. enterica*, bem como a *Salmonella bongori* podem ser isolados de animais de sangue quente e do ambiente, mas raramente do ser humano ([Tabela 2](#)) (Brenner *et al.*, 2000).

**Tabela 2** - Habitat usual, espécies, subespécies e sorotipos de *Salmonella*, segundo o esquema de Kauffman-White.

<b>Espécie e subespécie de <i>Salmonella</i></b>	<b>Número de sorotipos</b>	<b>Habitat usual</b>
<i>S. enterica subsp enterica (I)</i>	1.454	Animais de sangue quente
<i>S. enterica subsp salamae (II)</i>	489	Animais de sangue frio e ambiente
<i>S. enterica subsp arizonae (IIIa)</i>	94	Animais de sangue frio e ambiente
<i>S. enterica subsp diarizonae (IIIb)</i>	324	Animais de sangue frio e ambiente
<i>S. enterica subsp houtenae (IV)</i>	70	Animais de sangue frio e ambiente
<i>S. enterica subsp indica (VI)</i>	12	Animais de sangue frio e ambiente
<i>S. bongori</i>	20	Animais de sangue frio e ambiente
Total	2.463	

As salmonelas são classificadas sorologicamente de acordo com o esquema de Kauffman-White, baseado nas diferenças antigênicas dos antígenos somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (Vi). Atualmente a classificação também é realizada através de métodos moleculares.

O grau de adaptação ao hospedeiro e o efeito da patogenicidade ao homem variam entre os sorotipos:

1. Sorotipos adaptados ao homem como: *S. Typhi*, *S. Paratyphi* e *S. Sendai* - Agentes da febre entérica ou febre tifóide. Usualmente não são patogênicos a animais.
2. Sorotipos ambíguos como *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* que afetam o homem e um grande número de espécies animais, causando gastroenterite de gravidade variada - usualmente menos severa que a febre entérica. São os agentes de gastroenterites veiculados por alimentos.

3. Sorotipos altamente adaptados a animais como *S. Gallinarum*, *S. Choleraesuis* e *S. Abortusovis*, que eventualmente podem determinar patogenias leves no homem.

A salmonelose no ser humano pode ocorrer de três formas clinicamente distintas:

### Febre entérica ou febre tifóide

Causada pelas *Salmonella* *Thypi* ou *S. Paratyphi*, apresenta período de incubação que varia de 10 a 14 dias pós-infecção, após o que começam a aparecer os primeiros sintomas envolvendo febre remittente, mal estar, anorexia e cefaléia. Constipação é mais comum que diarreia nos estágios iniciais da doença. Depois de três semanas pode haver graves hemorragias intestinais e até perfuração dos mesmos.

A febre entérica ou febre tifóide não é uma zoonose e a infecção normalmente ocorre pelas vias: homem → homem, homem → alimento → homem, homem → água → homem ou homem → objeto → homem.

### Septicêmica ou extra-intestinal

É a forma comumente determinada pelos sorotipos não adaptados ao homem. Febre alta com bacteremia, sem envolvimento do trato gastrintestinal e lesões focais em órgãos como baço, fígado, coração e pulmões são as manifestações mais comuns. Os sorotipos envolvidos apresentam grande capacidade de invasão e dentre eles estão *S. Choleraesuis*, *S. Dublin*, *S. Virchow*, *S. Panama* e *S. London*.

### Gastrentérica

Forma de infecção confinada primariamente ao trato gastrintestinal. O período de incubação mais comum varia de 12 a 36 horas, podendo ser mais curto ou longo, entre 5 e 72 horas. Os sintomas mais comuns são febre, náuseas, vômito, dor abdominal e diarreia. A enfermidade dura de quatro a sete dias, e a maioria das pessoas acometidas se recupera sem qualquer tratamento. São tidos como os mais prevalentes neste tipo de infecção os sorotipos *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Hadar* e *S. Infantis*, entre outros.

Até 5,0% dos acometidos de salmonelose podem tornar-se portadores e eliminarem as salmonelas pelas fezes por anos. A literatura cita o exemplo extremo de um portador que eliminou *Salmonella* *Typhi* por 52 anos. O portador pode eliminar até 10<sup>6</sup> células/grama de fezes (Varnan & Evans, 1991).

Os fatores de virulência das salmonelas são determinados por plasmídeos e cromossomos. Até a algum tempo atrás, o poder de invasibilidade da mucosa intestinal era considerado como o principal fator de virulência. Hoje se sabe que as salmonelas podem produzir endotoxinas, citotoxinas e enterotoxinas, além de fímbrias e flagelos que potencializam a sua patogenicidade.

A susceptibilidade à salmonelose ou a probabilidade de que ao se consumir um alimento contaminado se estabeleça o quadro da doença varia segundo os fatores:

- **Resistência individual:** variável com a idade, com o estado imunológico e com o estado

nutricional. A salmonelose pode ser muito grave em idosos, crianças e pessoas com o sistema imunológico comprometido. Nesses pacientes o agente pode chegar à corrente sanguínea e atingir outros órgãos além do sistema digestório. Se o hospedeiro é uma criança no primeiro ano de vida, particularmente recém-nascido, podem ocorrer complicações sérias, como meningites.

- **Virulência do sorotipo**
- **Número de células ingeridas.** Para os sorotipos adaptados ao ser humano pequenos números já são suficientes. Ex. *S. Typhi* a ingestão de 10<sup>3</sup> células já é suficiente. Os não adaptados como a *S. Pullorum* são necessários números bem mais elevados entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>7</sup> células

As bactérias do gênero *Salmonella* continuam sendo uma das causas mais importantes de infecções alimentares em todo o mundo. Alimentos de origem animal, especialmente os obtidos de aves, e alimentos que contenham ovos, como saladas e produtos de confeitaria, têm sido frequentemente envolvidos em surtos de salmonelose em humanos (Forshell & Wierup, 2006).

Os alimentos de origem animal que são consumidos crus representam, em geral, um maior risco para o consumidor que aqueles que são submetidos a tratamento térmico. Por esta razão, as infecções através do consumo de carne de aves, que normalmente nas preparações culinárias sofrem aquecimentos variados são, na atualidade, menos significativas que aquelas determinadas pelo consumo de ovos utilizados na preparação de alimentos servidos crus, como a maionese. Por outro lado, não pode ser esquecido na epidemiologia da salmonelose, a recontaminação dos alimentos após a preparação, definida como contaminação cruzada, situação que pode ocorrer a partir do contato do alimento pronto a ser servido com superfícies contaminadas ou produtos crus, inclusive de origem vegetal.

As salmonelas não produzem, de maneira significativa, proteases e lipases exógenas quando presentes em um alimento, de tal forma que quando se multiplicam não modificam, de maneira perceptível, as características organolépticas do produto, mesmo ao atingir populações elevadas. Este fato faz com que o alimento seja consumido de maneira inadvertida e que o risco da infecção, por conseguinte, não seja percebido pelo consumidor.

A presença de bactérias do gênero *Salmonella* em produtos de origem avícolas especialmente em ovos e em casos e surtos de infecções humanas tem sido verificada em diferentes países do mundo, na maioria deles predominando o sorotipo *S. Enteritidis*. Segundo Silva & Duarte (2002) a primeira forte evidência do envolvimento da *Salmonella Enteritidis* originária do consumo de alimentos preparados com ovos ocorreu em um grande surto em 1986, nos EUA, envolvendo massa comercial congelada, que tinha dentre seus ingredientes ovos crus. Esse sorotipo, segundo Humphrey (1994), tem a capacidade de colonizar o canal ovopositor da galinha, o que pode vir a causar a contaminação da membrana que envolve a gema durante a formação do ovo.

A partir do seu aparecimento de forma significativa no final da década de 1980, a *Salmonella Enteritidis* tem provocado um aumento do número de casos de infecções relacionados ao consumo de ovos ou alimentos preparados com ovos crus ou insuficientemente cozidos (Forshell & Wierup, 2006). Entre 1985 e 1991, nos EUA, os ovos estiveram envolvidos em 82% dos surtos de infecções alimentares, nos quais o meio de transmissão da *S. Enteritidis* era conhecido (Mishu *et al.*, 1994). No ano de 2004 esta bactéria foi responsável por 76% dos casos de salmonelose. Também naquele país a proporção de isolamentos aumentou de 6% em 1980 para 25% em 1995

(Altekruse *et al.*, 1997). Na Itália, durante o período de 1982 a 1992, as porcentagens de isolamentos de *S. Enteritidis* aumentaram de 2,4 para 57,1% em humanos e de 0,5 para 22,8% em alimentos (Fantasia & Filetici, 1994).

No Brasil, segundo Silva & Duarte (2002), até o início de 1990 a *S. Enteritidis* era apenas mais uma salmonela raramente encontrada em infecções humanas. A partir de 1993 houve uma explosão da ocorrência tanto em fontes humanas como não humanas (Tavechio *et al.*, 1996), chegando a representar 60% dos isolados no Instituto Adolfo Lutz em São Paulo nos anos de 1994 e 1995 (Iriño *et al.*, 1996). Silva & Duarte (2002) afirmam também que embora as carcaças de frangos apresentem altas taxas de contaminação por *S. Enteritidis*, são os ovos e seus derivados os principais responsáveis pelos surtos humanos descritos no Brasil.

Além da contaminação primária (transmissão vertical) os ovos, durante a postura, podem se contaminar externamente através de sua passagem pela cloaca. Logo após a postura e após esfriar, cria-se uma pressão negativa que favorece a entrada de microrganismos; a contaminação é favorecida quando a umidade relativa do ambiente é elevada. Em ambientes secos, higiênicos e sem mudança de temperatura, o interior do ovo se preserva de contaminações. A cama de postura, com presença de fezes e de outras sujidades contribuem para que a casca se contamine com microrganismos.

A contaminação microbiana das cascas dos ovos de consumo e a sua posterior penetração e multiplicação por microrganismos pode ser minimizada através de procedimentos como:

- Coleta dos ovos nos galpões, várias vezes ao dia, reduzindo dessa forma o tempo de exposição ambiental, penetração e multiplicação.
- Sanitização das cascas após coleta.
- Armazenamento sob refrigeração, dificultando a multiplicação dos contaminantes.

A adoção da higienização da casca dos ovos comerciais com sanificantes pode representar uma melhora sanitária na qualidade dos mesmos, contribuindo na redução de sua contaminação microbiana superficial e dos riscos de provocarem infecção de origem alimentar. Considerando também a possível presença de salmonelas na gema do ovo desde o interior da ave, a recomendação é de que esse produto deve ser transportado, conservado, comercializado e mantido nas residências, sob temperatura de refrigeração, para evitar a multiplicação dessa bactéria (EMBRAPA, 2004).

### *Campylobacter* sp.

O gênero *Campylobacter*, pertencente à família *Campylobacteriaceae*, é constituído por bactérias em forma de bacilos, Gram negativos, curvos ou espiralados, podendo se apresentar em forma de “S”, “Til”, “Ç” ou “asa de gaivota” quando aos pares. São móveis por flagelo monotríquico ou politríquico, em uma ou nas duas extremidades. São incapazes de proliferar em presença de ar atmosférico, porém também não se desenvolvem em anaerobiose. São microaerófilos estritos, necessitando, como condição ideal para a multiplicação, de 5 a 6% de O<sub>2</sub> e de 2 a 10% de CO<sub>2</sub>.

Embora algumas espécies do gênero tenham sido isoladas no começo do século XX e as primeiras descrições feitas por Escherich em 1886, somente no final da década de 70 é que esses microrganismos adquiriram interesse, quando foi descoberta sua capacidade em produzir quadros

de enterite no ser humano. Isto coincidiu com o aprimoramento de métodos seletivos de isolamento, com pressão de O<sub>2</sub> reduzida e de CO<sub>2</sub> aumentada (Fehlhaber & Janetschke, 1995).

Pertencendo ao gênero existem várias espécies de interesse em Saúde Pública e Animal, determinantes de patologias que variam desde um quadro de enterite até ao de infertilidade e aborto. Têm maior importância como determinantes de enterite no homem as espécies *Campylobacter jejuni*, *C. coli* e *C. lariidis*, pertencentes ao grupo dos termófilos, sendo a mais importante a primeira (Varnan & Evans, 1991; Larkin *et al.*, 2006).

Allos (2001) afirma que a campilobacteriose é uma causa comum de gastroenterite em todo o mundo, sendo notificado, somente nos EUA junto ao CDC (Center for Diseases Control and Prevention), cerca de 10.000 casos a cada ano.

As diferentes espécies do gênero *Campylobacter* são encontradas no trato intestinal de muitos animais, incluindo a maioria dos animais domésticos como gatos, cachorros e, especialmente, em aves. Bang *et al.* (2001) consideram que, dado ao alto grau de colonização intestinal encontrado entre aves, a contaminação das carcaças nos abatedouros é o principal fator de risco para a infecção humana. Zhao *et al.* (2001), nos EUA, isolaram *Campylobacter* sp. em 70,7% das amostras de frangos, sendo o *C. jejuni* o mais prevalente (53,6%). Whyte *et al.* (2004) estudaram a ocorrência de *Campylobacter* sp. em alimentos na Irlanda, verificando que frangos (49,9%), patos (45,8%) e perus (37,5%) foram os alimentos mais contaminados. A carne ovina (11,8%), suína (5,1%) e bovina (3,2%) e ostras (2,3%) também albergavam o referido microrganismo, apesar de menos expressivas. O *C. jejuni* foi o patógeno mais prevalente com 83,4% de isolamentos, seguido de *C. coli* com 16,6%. Ono & Yamamoto (1999), no Japão, identificaram *C. jejuni* em 45,8% das amostras de carcaças de frango analisadas. Stern *et al.* (1995) verificaram que pós-transporte o percentual de aves que eliminavam *Campylobacter* sp. pelas fezes passou de 12,1% para 56,0%.

A Associação Médica Canadense (Hoey, 1998) afirma que cerca de 90% das carcaças de aves podem estar contaminadas com microrganismos do gênero *Campylobacter* e, dado ao fato de que a dose infectante geralmente é pequena (menos de 500 microrganismos), o órgão sugere que apenas uma gota da água que geralmente flui das carcaças embaladas pode provocar a enfermidade em um indivíduo. Assim, existe extrema preocupação com produtos de origem avícola imprópriamente cozidos e também com a contaminação cruzada.

Uma vez que *Campylobacter* sp. são microrganismos habitantes comuns do trato intestinal de animais, todos os alimentos passíveis de serem contaminados por esta via, além dos de origem avícola, devem ser considerados como possíveis fontes de infecção para o ser humano.

Assim, devem ser motivos de preocupação também carnes em geral, especialmente as mal cozidas, o leite não pasteurizado e a água contaminada.

### Dose infectante e mecanismos de patogenicidade

Existem muitas controvérsias a respeito da dose infectante. Para alguns pesquisadores ela é tida como pequena e isto permite que o microrganismo consiga estabelecer patologias, mesmo com sua incapacidade para se multiplicar na maioria dos alimentos (dado seu caráter de microaerofilia).

Estudos demonstraram que a ingestão de apenas 500 células, transmitidas por água contaminada, foi suficiente para provocar infecção (Varnan & Evans, 1991). Por outro lado, em um estudo realizado por Steele & McDermott (1978) a dose infectante necessária foi de 106 células, sendo veículo o leite. Segundo os pesquisadores a variação na dose infectante esta condicionada à virulência da cepa e à resistência do hospedeiro.

São tidas como propriedades potencialmente patogênicas do *Campylobacter* sp. (Konkel *et al.*, 2001):

- Capacidade de adesão na mucosa intestinal.
- Colonização e caráter invasivo das células intestinais, que seriam responsáveis pelo quadro de disenteria. Nesses casos ocorre a presença de muco e pode haver, inclusive, sangue nas fezes.
- Produção de uma citotoxina e uma enterotoxina termolábil, que teriam como ação a alteração da permeabilidade celular, com conseqüente perda de eletrólitos e água.

Como medidas de prevenção à campilobacteriose podem ser preconizadas: higiene e sanitização em todos os níveis, industrial, comercial e doméstico, envolvendo equipamentos, utensílios e dependências; cozimento de forma adequada, principalmente de produtos avícolas (não deve fluir sucos da carne); higienizar as mãos antes e após a manipulação de produtos crus, principalmente os de origem animal, prevenir a contaminação cruzada, utilizando utensílios separados para os produtos crus e os já tratados termicamente ou higienizando de forma adequada os utensílios utilizados na preparação de produtos crus, antes de utilizá-los com os já tratados termicamente; orientar pessoas com diarreia, quanto a necessidade da lavagem freqüente das mãos, no sentido de diminuir o risco de disseminar a infecção.

### *Escherichia coli*

Pertencente à família Enterobacteriaceae e ao gênero *Escherichia* (que contem ainda as espécies *E. adecarboxilata*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* e *E. blattae*), a *Escherichia coli* apresenta-se na forma de bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos e não esporulados. Considerada como um integrante da microbiota normal do intestino do homem e animais, portanto não patogênica, algumas cepas podem produzir infecções do trato urinário, em feridas, enterites, infecções de origem alimentar e, ocasionalmente, septicemia e meningites. Na década de 1940 foi comprovada a sua responsabilidade por graves epidemias de diarreia em clinicas infantis (Eley, 1992).

*Escherichia coli* é classificada através de sorotipagem, seguindo esquema análogo ao utilizado para as salmonelas. Na sua classificação os determinantes antigênicos são antígenos somáticos (O), capsulares (K) e flagelares (H). Os sorogrupos são definidos pelos antígenos somáticos (O) e os sorotipos pelos capsulares (K) e flagelares (H).

Dentro da espécie *Escherichia coli* encontram-se seis grupos que são patogênicos ao homem, baseados nas propriedades de virulência, mecanismos de patogenicidade ou síndromes clínicas. Estas categorias incluem amostras de *Escherichia coli* enteropatogênicas (EPEC), enteroinvasivas (EIEC), enterotoxigênicas (ETEC), enterohemorrágicas (EHEC), aderente-difusas (DAEC) e enteroagregativas (EA-AggEC), sendo estes dois últimos grupos com patogenia ainda pouco

conhecida.

As cepas EPEC são consideradas como importantes agentes de diarreia infantil. Como fatores de virulência são sugeridos: a elaboração de alguma forma de produto enterotóxico, além da capacidade de aderência e invasão da mucosa intestinal, que alteram a função celular e determinam a diarreia. Nos casos típicos os sintomas aparecem de 12 a 36 horas após a infecção e incluem diarreia aquosa, ocasionalmente com muco e raramente com sangue. Febre e vômito usualmente acompanham a diarreia.

Os sorotipos EIEC têm como principal característica patogênica a capacidade de invadir e proliferar dentro das células epiteliais da mucosa intestinal, causando eventualmente a morte da célula. Esta capacidade invasiva se relaciona com a presença de um grande plasmídeo que codifica a produção de numerosas proteínas de membrana externa associadas com a invasibilidade. O principal local de colonização é o cólon e a manifestação se dá através de diarreia sanguinolenta podendo chegar a um quadro de disenteria similar àquela determinada pela *Shigella sonnei*. Eley (1992) considera este grupo como de agentes de doenças de origem alimentar de caráter infeccioso.

No caso dos sorotipos ETEC, as células que sobrevivem ao ambiente hostil do estômago atravessam a capa de muco do intestino delgado e se aderem às células da mucosa. Neste local produzem um ou dois tipos de enterotoxinas, LT (termolábil) e ST (termoestável), que determinam uma diarreia aquosa profusa, menos severa que aquela sofrida por pacientes com cólera. Estes sorotipos são os responsáveis pela chamada “diarreia dos viajantes” (Varnan & Evans, 1991).

As cepas EHEC produzem uma ou mais verotoxinas (toxinas que provocam efeito citopático em células Vero - células de rim de macaco) denominadas VT1, VT2 e VT3. Estas toxinas são estreitamente relacionadas com a toxina de shiga, produzida pela *Shigella dysenteriae* sorotipo 1, que é o agente etiológico da disenteria bacilar. Entre os efeitos patogênicos se incluem alterações morfológicas nas células epiteliais, atividade mitótica incrementada e infiltração de células polimorfo-nucleares na mucosa. Estas modificações estão associadas sempre à presença de VT livres no cólon e o resultado é uma diarreia aquosa e sanguinolenta (Padhye & Doyle, 1992). A enfermidade provocada pelas VT é conhecida como colite hemorrágica que, em casos mais graves, resulta em um quadro conhecido como síndrome urêmica hemolítica (HUS).

Nesse grupo está incluído o sorotipo O157:H7, considerado por muitos pesquisadores como um microrganismo patógeno emergente (Foster, 1997; Tauxe, 1997) e atualmente incriminado em muitos casos de toxinfecção alimentar, veiculado através de carnes manipuladas ou pré-elaboradas, inclusive hambúrguer.

O primeiro isolamento desse sorotipo ocorreu na Argentina, no ano de 1977, a partir das fezes de um bovino com colibacilose (Orskov *et al.*, 1987). O primeiro surto humano documentado ocorreu em Oregon, EUA, em 1982, onde houve 26 casos, com 19 hospitalizações. O alimento envolvido foi hambúrguer de uma cadeia de restaurantes fast food e diarreia sanguinolenta foi o sintoma predominante (Riley *et al.*, 1983).

O trato intestinal de ruminantes, particularmente bovinos e ovinos, parece ser o principal reservatório das cepas EHEC de *Escherichia coli*. Assim, a forma mais importante de transmissão



é a contaminação fecal dos alimentos, que pode ocorrer por contato direto ou através da água contaminada. Já foram incriminados em surtos, dentre outros alimentos, leite cru, carne bovina mal cozida e outros produtos a base de carne (rosbifes, hambúrgueres e salsichas), frutas e vegetais e maionese industrializada (Silva *et al.*, 2001).

Muito embora os ruminantes sejam tidos como principal reservatório das cepas EHEC de *Escherichia coli*, a aves não podem ser consideradas seguras quanto a não veiculação deste patógeno (Zhao *et al.*, 2001) dado à sua capacidade de sobreviver em condições ambientais adversas. A cepa O157:H7 é resistente a meios ácidos, baixas temperaturas, congelamento e microbiota competitiva (Noveir *et al.*, 2000).

### *Listeria monocytogenes*

As bactérias do gênero *Listeria* caracterizam-se por se apresentarem em forma de bastonetes retos, curtos e com porção terminal arredondada. São Gram positivas e podem se apresentar como células isoladas, em cadeias curtas, dispostas em forma de “V” ou, ainda, em grupos paralelos ao longo do eixo axial. Quando cultivadas entre 20 e 25°C são móveis, apresentando flagelos peritríquios em número máximo de três. Possuem metabolismo aeróbio ou anaeróbio facultativo. Em ágar nutriente, após 24 a 48 horas de incubação, as colônias se mostram translúcidas, com aparência de gotas de orvalho, pouco convexas e de bordos regulares, mostrando-se de coloração cinza-azulada em iluminação natural e com um brilho verde-azulado característico quando a luz é transmitida obliquamente.

No gênero *Listeria* são incluídas sete espécies, sendo estas: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi* e *L. murrayi*. Das espécies citadas a *L. monocytogenes* é o principal patógeno para o homem e animais.

A identificação bioquímica das espécies pode ser realizada através de esquema simplificado, conforme sugerido por Lovett *et al.* (1987), baseado em provas de hemólise, CAMP teste, redução de nitrato, VP e produção de ácidos a partir de carboidratos, dentre outras. Seeliger & Langer (1989) recomendam que o diagnóstico só dever ser confirmado após a realização de análise antigênica.

Através da sorotipagem, realizada com os antígenos O (somáticos) e H (flagelares), são reconhecidos 13 sorotipos de *L. monocytogenes*, caracterizados por números e letras: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e e 7 (Varnan & Evans, 1991). Muito embora haja um número significativo de sorotipos, os casos de infecção tanto animal quanto humana já descritos em diferentes partes do mundo foram causados por um pequeno número deles, sendo o mais importante o 4b.

Diversos pesquisadores acreditam que a patogenicidade da *Listeria monocytogenes* esteja relacionada essencialmente à sua capacidade de multiplicar-se no organismo. Assim, a sua virulência seria decorrente dos produtos solúveis excretados e de componentes antifagocitários presentes em sua superfície (Paquet *et al.*, 1986). Dentre estes últimos encontra-se um lipopolissacarídeo semelhante ao lipopolissacarídeo ou endotoxina das bactérias Gram negativas; este constituinte seria uma endotoxina com ação antifagocitária e também causador de lise das hemáceas dos hospedeiros, fato este mediado pelo complemento e pela IgM (Wexler &

Oppenheimer, 1979). Dos produtos solúveis o mais importante é um elemento tóxico, de caráter hemolítico, conhecido como “listeriolisina O”, que possui ação semelhante às toxinas citolíticas de outras bactérias.

No ser humano, a fase entérica da doença é muito rápida e, na maioria das vezes, passa despercebida. Nesta fase, em que ocorre a ingestão da listeria e a subsequente invasão dos macrófagos, os sintomas são de uma leve diarreia e febre amena. Em pessoas saudáveis a listeriose usualmente não passa da fase entérica, mas em indivíduos susceptíveis, o microrganismo ganha outras partes do organismo provocando a enfermidade. Existem dois tipos de listeriose já reconhecidas:

- **Listeriose materno fetal e neonatal** - é uma das formas mais frequentes, com aproximadamente 75% dos casos já registrados. A mulher gestante exterioriza muito pouco a infecção (pouco de febre) porém, o aborto no segundo trimestre de gestação, ou o parto prematuro com morte intra-uterina do feto, é freqüente.
- **Listeriose em adultos e em crianças** - é menos freqüente que a anterior, mas também bastante grave. A enfermidade pode se manifestar na forma de meningite, meningoencefalite, encefalites puras e septicemias. Acontece primariamente em indivíduos imunodeprimidos.

Os microrganismos do gênero *Listeria* encontram-se amplamente distribuídos na natureza, estando presentes tanto em países de clima temperado quanto naqueles de clima tropical. Esta característica pode ser devido a numerosos fatores, sendo o mais importante deles a sua capacidade para multiplicar-se relativamente rápido em temperatura de refrigeração (Eley, 1992). Constituem um grupo saprófita que vive no nicho solo-planta (ambiental), podendo infectar seres humanos e animais através de várias fontes, particularmente a partir do consumo de alimentos de origem animal e vegetal.

A presença da *Listeria monocytogenes* tem sido reportada a partir de uma grande variedade de alimentos, tanto de origem animal quanto vegetal. Dentre os de origem animal, o leite e seus derivados são considerados os principais veículos de transmissão da listeriose ao ser humano, embora outros também desempenhem papel de importância, dentre eles as aves e produtos da avicultura. Inúmeros estudos já demonstraram a sua presença em carcaças de aves e derivados.

No Brasil, Nunes (1994) analisando carcaças e cortes comerciais de frango comercializados em Goiânia, GO, encontrou 90% de amostras contaminadas com *Listeria* sp. Na região sul do país, Reiter *et al.* (2005) encontraram *Listeria monocytogenes* em 35,6% das amostras de cortes, chegando a 100% e 93,3% de positividade para peitos e asas congeladas, respectivamente. Na África do Sul, Nierop *et al.* (2005) isolaram o agente em 19,2% de carcaças e, Busani *et al.* (2005), na Itália, em percentuais que variavam de 2 a 5%.

Segundo Jemmi & Stephan (2006) a capacidade da *Listeria monocytogenes* de persistir nos ambientes em que são processados alimentos e sua capacidade de se multiplicar em temperaturas de refrigeração, portanto em alimentos conservados desta forma, faz dela uma constante ameaça à saúde pública. Por outro lado, muito embora a *Listeria monocytogenes* não apresente grande resistência ao calor empregado na preparação da maioria dos alimentos, Barbalho *et al.* (2005) acrescentam que a alta incidência de *Listeria monocytogenes* em carcaças de aves é um problema que não pode ser esquecido em função da possível contaminação cruzada com outros alimentos.

## Yersinia enterocolitica

*Yersinia enterocolitica* é considerada um importante agente entérico patogênico, causador de enfermidades de origem hídrica e alimentar, que tem especial importância pela sua capacidade de se desenvolver em alimentos conservados sob refrigeração, sem determinar sinais aparentes de deterioração (Robins-Browne, 1997). Esse agente já recebeu diversas denominações, como *Bacterium enterocolitica*, *Pasteurella X* e *Pasteurella pseudotuberculosis* tipo B fazendo parte, na atualidade, da Família Enterobacteriaceae juntamente com *Yersinia pestis* e *Y. pseudotuberculosis*.

O gênero *Yersinia* se caracteriza por formar colônias pequenas (menos de 1mm de diâmetro), podendo ser móveis ou não, dependendo da temperatura de incubação (a 37°C são imóveis e a 25°C são móveis). A diferenciação entre as espécies é realizada através de características bioquímicas, sendo que a espécie *Y. enterocolitica*, com base nessas características, pode ser dividida em seis biotipos. Cepas não patogênicas são classificadas como do biotipo 1A, enquanto que aquelas potencialmente patogênicas são biotipos 1B, 2, 3, 4 e 5. A sorotipagem da *Y. enterocolitica* pode ser realizada através do antígeno somático “0” (Varnan & Evans, 1991).

Basicamente são dois os aspectos que determinam a patogenicidade de alguns biotipos da *Yersinia enterocolitica* (Dromigny *et al.*, 1994):

- Capacidade de aderência e invasão das células da mucosa intestinal, especialmente do íleo.
- Produção de enterotoxina resistente ao calor (121°C por 30 minutos), ao frio (4°C por sete meses) e variações de pH (1 a 11). Com estas características a enterotoxina pode permanecer viável em alimentos tratados termicamente, naqueles conservados sob refrigeração e naqueles ácidos, assim como resistir à acidez do suco gástrico. As cepas enterotoxigênicas produzem a enterotoxina apenas a 25°C e não a 37°C, o que deixa dúvida quanto a sua produção *in vivo*. Por outro lado, como a enterotoxina persiste em alimentos em função da sua resistência, alguns pesquisadores consideram que ela seria pré-formada no alimento e depois ingerida.

A iersiniose humana pode se apresentar de três formas:

- **Forma entérica ou enterocolítica:** é a mais importante delas. O quadro se caracteriza por uma diarreia líquida ou semilíquida, às vezes viscosa ou purulenta. Raras vezes se mostra sanguinolenta. Demais sintomas como dores abdominais, vômitos e hipertermia (39°C) nem sempre aparecem.
- **Síndrome aguda da fossa ilíaca direita ou forma pseudo-apendicular:** esta forma se caracteriza principalmente por uma dor localizada, por adenite mesentérica e diarreia freqüente, indicando uma ileíte terminal aguda. As náuseas, vômitos e hipertermia não são constantes.
- **Outras formas:** são formas septicêmicas, cutâneas, cutaneaganglionares, articulares, oculares, ósseas e urinárias. São formas que ocorrem quase que exclusivamente em adultos, particularmente em indivíduos com idade avançada, diabéticos, alcoólicos e imunodeprimidos.

Dentre os alimentos já incriminados como veiculadores da *Y. enterocolitica* e determinantes da enfermidade o leite e derivados ocupam posição de destaque. Um dos surtos de iersiniose mais importante ocorrido nos EUA foi determinado por leite contaminado com fezes suína depois da pasteurização (Silliker, 1986). Os suínos e as aves são tidos como possíveis portadores digestivos saudáveis, o que possibilita contaminações das carcaças nas diferentes fases do abate e industrialização, bem como da superfície dos ovos no momento da postura.

Além da sua presença em produtos derivados da avicultura (Warnken *et al.*, 1987; Floccari *et al.*, 2000; Capita *et al.*, 2002) a *Yersinia enterocolitica* tem sido isolada de outros tipos de alimentos como carnes, peixes e outros frutos do mar, vegetais, e também da água e solo.

Estudos até hoje realizados mostram que as infecções alimentares devidas à *Y. enterocolitica* parecem estar relacionadas com os alimentos conservados pelo frio. Nesta situação é difícil definir as medidas de prevenção que permitam limitar a extensão desta enfermidade, ficando por conta de procedimentos de higiene de uma forma geral. Segundo alguns autores estas limitações mostram a importância da vigilância das infecções humanas, que devem ser realizadas por serviços de Saúde Pública e laboratórios especializados.

### *Staphylococcus aureus*

Pertencente à Família Micrococcaceae, Gênero *Staphylococcus*, o *Staphylococcus aureus* caracteriza-se pela sua morfologia em forma de cocos, apresentando-se em agrupamentos semelhantes a cachos de uva, aos pares ou em cadeias curtas devido a sua característica de se dividir em diversos planos. É um microrganismo Gram positivo, imóvel, aeróbio ou anaeróbio facultativo, sendo que sua multiplicação é mais rápida e abundante em condições de aerobiose.

Algumas cepas podem se apresentar pigmentadas, com coloração amarelada, sendo este um fator que depende também das condições de desenvolvimento. É um microrganismo fermentativo e proteolítico, porém, alcança números que produzem toxinas em quantidade suficiente para desencadear a gastroenterite sem alterar o aspecto, odor e sabor do alimento.

O *Staphylococcus aureus* é capaz de produzir mais de 34 diferentes proteínas extracelulares, muitas das quais contribuem com sua patogenicidade ou determinam sua virulência. Uma única cepa pode não produzir todas as exoproteínas mas, em culturas puras, elas podem produzir um número bastante significativo. Como resultado a patogenicidade desse microrganismo é difícil de ser determinada com precisão, porque todos os fatores responsáveis pela virulência e a interação entre eles não são completamente conhecidos (Arbuthnott *et al.*, 1990). Outro ponto de dificuldade no estabelecimento da patogenicidade é a impossibilidade de avaliar individualmente a ação dos fatores de virulência.

A estafilococose no homem engloba uma gama bastante variável de manifestações clínicas que dependem basicamente das propriedades patogênicas da cepa de *Staphylococcus aureus*, do local ou sítio da infecção e do grau de comprometimento das defesas naturais do indivíduo.

**Tabela** - Fatores de virulência extracelulares produzidos pelo *S. aureus*.

<b>Toxinas</b>	<b>Exoenzimas</b>
Toxinas que provocam danos em membranas:	
alfa-toxina	Coagulase
beta-toxina	Estafiloquinase
gama-toxina	Proteases
delta-toxina	Fosfolipase
Toxina epidermolítica (ET)	Lípase
Toxina da síndrome do choque tóxico (TSST)	DNase
Enterotoxinas (8 tipos)	Hialuronidase
Exotoxina piogênica	Fosfatase
Arbuthnott <i>et al.</i> (1990).	

## **Papel da alfa-toxina na patogênese**

Desde a sua identificação, efetuada por Burnet (1929), a alfa-toxina é considerada como o primeiro fator determinante da patogenicidade. Ela é uma toxina letal, necrosante e citolítica para uma variedade bastante grande de células, tendo sua ação principal na membrana, formando poros. Além dessas, outras ações atribuídas a ela incluem paralisia da musculatura lisa e esquelética, alterações em vasos sanguíneos e efeitos tóxicos a nível do sistema nervoso central.

## **Papel da toxina epidermolítica (ET) na patogênese**

A toxina epidermolítica tem a característica de causar lesões vesiculares na pele, principalmente

de crianças. Em muitos casos as vesículas são localizadas mas, ocasionalmente, podem atingir largas áreas tomando o aspecto de pele escaldada. Esta aparência é responsável pela denominação atual da enfermidade: “Síndrome da pele escaldada” (SSS).

A responsabilidade do *S. aureus* como agente da síndrome da pele escaldada foi definitivamente comprovada pelos trabalhos dermatológicos de Lyell (1967), que verificou sua atuação no extrato granuloso da epiderme. Posteriormente Melish & Glasgow (1970) reconheceram a ação da toxina denominada toxina epidermolítica, toxina esfoliativa ou, simplesmente, ET.

## **Papel da toxina da síndrome do choque tóxico na patogênese**

A síndrome do choque tóxico (TSST-1) emergiu como uma “nova” doença em 1980 nos EUA. Foi algo que chamou a atenção pelo fato de atingir mulheres jovens, aparentemente saudáveis, que se mostravam repentinamente enfermas, com múltiplos sintomas. Durante julho de 1980 mais de 120 casos foram registrados pelos Centros de Controle de Doenças (CDC-EUA) (Arbuthnott *et al.*, 1990).

A doença era caracterizada por febre alta, dor de cabeça e pelo aparecimento de uma cor avermelhada por todo o corpo. Usualmente esses sintomas vinham acompanhados por inflamação na garganta, diarreia aquosa, vômitos e queda de pressão. Descamação das áreas afetadas, particularmente pés e mãos, ocorriam durante a fase de recuperação.

A sintomatologia da doença já havia sido descrita dois anos antes por Todd *et al.* (1978), que corretamente identificaram o *S. aureus* como o agente responsável. A maioria dos casos reportados em 1980 ocorreu com mulheres jovens e parecia haver uma estreita relação com a menstruação. A preocupação em associar a TSST com problemas menstruais e uso de absorventes, dificultou a descoberta da existência de casos não associados à menstruação. Hoje se sabe que a TSST acomete tanto mulheres como homens, como consequência de infecções cutâneas, abortos ou infecções pós operatórias. Correntemente a TSS não menstrual acomete de 40 a 50% dos casos reportados.

No Brasil, Lopes *et al.* (1997) estudando 215 mulheres quanto à presença de portadoras de *Staphylococcus aureus* no conduto nasal ou trato vaginal, encontraram 79 colonizadas pelo microrganismo. Destas, 13 demonstraram estar colonizadas pelo *S. aureus* produtor da toxina da síndrome do choque tóxico. Segundo os autores, o percentual de mulheres colonizadas pode ser considerado baixo, quando comparado ao encontrado em países desenvolvidos, e pode ser um fator que contribui para a baixa incidência de TSST no Brasil.

## **Papel das enterotoxinas na patogênese**

As enterotoxinas estafilocócicas são proteínas de composição simples, com peso molecular relativamente baixo (26000 a 34.000Da), cuja cadeia apresenta uma quantidade significativa de lisina, tirosina, ácido aspártico e ácido glutâmico (Baird Parker, 1990), produzidas nos alimentos quando da multiplicação de algumas cepas de *Staphylococcus aureus*. Antigenicamente, oito enterotoxinas são reconhecidas: A, B, C1, C2, C3, D, E e H.

Além das diferenças entre as enterotoxinas no tocante à constituição por aminoácidos, diferenças também existem quanto à produção. As dos tipos A e D podem ser formadas em condições ambientais bem mais adversas (como pH, atividade de água e potencial de oxi-redução não tão favoráveis) do que as necessárias para a formação dos tipos B e C, embora, em condições ideais, estas últimas sejam produzidas em níveis bem mais significativos.

A maioria das intoxicações é provocada pelas enterotoxinas dos tipos A e D, principalmente a A, e isto é explicado pelo fato das condições intrínsecas dos alimentos nem sempre serem as ideais (Baird Parker, 1990).

Embora a biosíntese dessas toxinas seja afetada pelos parâmetros intrínsecos e extrínsecos, elas apresentam algumas propriedades em comum, sendo que a principal delas é a termoestabilidade. Reduções significativas na concentração das enterotoxinas ocorrem somente em temperaturas de 120°C por 10 minutos ou 100°C por duas horas. Isto faz com que as enterotoxinas do *Staphylococcus aureus* uma vez produzidas no alimento dificilmente sejam totalmente inativadas nas preparações culinárias, visto que aqueles níveis de temperatura e tempo nem sempre são atingidos nos aquecimentos corriqueiramente usados.

As enterotoxinas estafilocócicas, diferentemente de outras enterotoxinas, não têm ação citotóxica para a célula da mucosa intestinal. Desta forma, elas não provocam perdas de eletrólitos e água através da luz intestinal. Existem evidências de que elas atuem em neuroreceptores no trato intestinal, gerando um impulso nervoso que através do nervo vago chega no centro do vômito, localizado na camada sub-cortical do cérebro. Assim, são determinadas as reações de vômito e, ocasionalmente, diarreia (Varna & Evans, 1991). Dado a este tipo de ação, alguns autores as consideram como neurotoxinas.

A produção de enterotoxinas pelo *Staphylococcus aureus* pode ser evitada com o controle rigoroso da temperatura de conservação. A multiplicação e produção de enterotoxinas são completamente inibidas em temperaturas inferiores a 7°C (Mossel & Van Netten, 1990). Entretanto, essas temperaturas baixas não são levadas a rigor na conservação de alimentos, especialmente em varejo, sendo, em decorrência disto, registrado o maior número de surtos de intoxicação por descuidos a esse nível.

*Staphylococcus aureus* pertence à microbiota normal do ser humano e de animais. O ser humano é considerado como o mais importante reservatório e o principal responsável pela contaminação dos alimentos, sendo estimado que entre 10 e 40% da população seja portadora em diferentes partes do organismo, particularmente nas mãos e nasofaringe. Relativamente às aves, o *Staphylococcus aureus* pode ser facilmente encontrado na superfície da pele, folículos pilosos, fossas nasais, tecidos lesionados e articulações com artrite. Mead & Dodd (1990) afirmam que a pele das aves é colonizada pelo *Staphylococcus aureus* logo após a eclosão dos ovos e que a população tende a aumentar até o momento em que a ave é abatida.

Alimentos de risco são aqueles em que estão presentes as enterotoxinas não necessariamente as células bacterianas. Uma grande variedade deles pode ser enquadrada como potencialmente predispostos a determinar surtos de intoxicação, mas, os mais propensos, são aqueles manipulados e conservados de forma inadequada após a preparação. Já foram associados com surtos de intoxicação estafilocócica carne bovina, de aves e sub-produtos, leite e derivados e

produtos de confeitaria recheados.

## Bibliografia

- Adams BW, Mead GC. Incidence and properties of *Staphylococcus aureus* associated with turkeys during processing and further processing operations. *Journal of Hygiene* 1983; 91:479-490.
- Allos BM. *Campylobacter jejuni* infections: Update on emerging issues and trends. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 32:1201-1206.
- Almeida PF, Silva EM. Estudo sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 1992; 44:105-120.
- Altekruse SF, Cohen ML, Swerdlow DL. Emerging foodborne diseases. *Emerging Infectious Diseases* 1997; 3:285-293.
- Arbuthnott JP, Coleman DC, Azavedo S. Staphylococcal toxins in human disease. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement* 1990; 101s-107s.
- Baird-Parker AC. The staphylococci: an introduction. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement* 1990; 1s-8s.
- Bang DD, Scheutz F, Ahrens P, Pedersen K, Blom J, Madsen M. Prevalence of cytolethal distending toxin (cdt) genes and CDT production in *Campylobacter* spp isolated from Danish broilers. *Journal of Medical Microbiology* 2001; 50:1087-1094.
- Barbalho TCF, Almeida PF, Almeida RCC, Hofer E. Prevalence of *Listeria* spp. at poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. *Food Control* 2005; 16:211-216.
- Barnhart HM, Pancorbo OC, Dreesen DW, Shotts Jr. EB. Recovery of *Aeromonas hydrophila* from carcasses and processing water in broiler processing operation. *Journal of Food Protection* 1989; 52:646-649.
- Barrow PA. The paratyphoid *Salmonellae*. *Revue Scientifique et Technique* 2000; 19:351-375.
- Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38:2465-2467.
- Burnet FM. The exotoxins of *Staphylococcus pyogenes aureus*. *Journal of Pathology and Bacteriology* 1929; 32:717- 734.
- Busani L, Cigliano A, Taioli E, Caligiuri V, Chiavacci L, Di Bella C, Battisti A, Duranti A, Gianfranceschi M, Nardella MC, Ricci A, Rolesu S, Tamba M, Marabelli R, Capriolli A. Prevalence of *Salmonella* enterica and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of animal



origin in Italy. *Journal of Food Protection* 2005; 68:1729-1733.

Capita R, Alonso-Calleja C, Prieto M, Garcia-Fernández MC, Moreno B. Incidence and pathogenicity of *Yersinia* spp. isolates from poultry in Spain. *Food Microbiology* 2002; 19:295-301.

Corry JEL, Allen VM, Hudson WR, Breslin MF, Davies RH. Sources of *Salmonella* on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. *Journal of Applied Microbiology* 2002; 92:424-432.

Dodd CER, Mead GC, Waites WM. Detection of the site of contamination by *Staphylococcus aureus* within the defeathering machinery of poultry processing plant. *Letters in Applied Microbiology* 1988; 7:63-66.

Dromigny E, Vincent P, Jouve JL. *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica*. In: Bourgeois CM, Mescle JF, Zucca J, editors. *Microbiologia alimentaria*. Zaragoza: Acribia; 1994. p.113-129.

Eley A. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. Zaragoza: Acríbia, 1992. 208p.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de segurança e qualidade para a avicultura de postura. Brasília: CampoPas; 2004. 97p.

Fantasia M, Filetici E. *Salmonella* enteritidis in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 1994; 21:7-13. Fehlleber K, Janetschke P. *Higiene Veterinaria de los Alimentos*. Zaragoza: Acribia; 1995. 669p.

Floccari ME, Carranza MM, Parada JL. *Yersinia enterocolitica* biogroup 1A, serotype O:5 in chicken carcasses. *Journal of Food Protection* 2000; 63:1591-1593.

Forshell LP, Wierup M. *Salmonella* contamination: a significant challenge to the global marketing of animal food products. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2006; 25:541-554.

Foster EM. Historical overview of key issue in food safety. *Emerging Infectious Diseases* 1997; 3:481-482.

Garcia TCLF. Avaliação da qualidade microbiológico de carnes mecanicamente separadas de origem avícola obtidas por dois processos de produção [dissertação]. Jaboticabal (SP): Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP; 2002.

Gibbs PA, Patterson JT, Thompson JK. The distribution of *Staphylococcus aureus* in a poultry processing plant. *Journal of Applied Bacteriology* 1978; 44:401-410.

Gonçalves JS, Peres LH. Exportações brasileiras da cadeia de produção de aves no período 2000-2005: origem, destino e agregação de valor. *Informações Econômicas* 2006; 36:32-47.

Hoey J. *Campylobacter* enteritis: It could happen to you! *Canadian Medical Association Journal*

1998; 158:1056.

Humphrey TJ. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis*: a review. *International Journal of Food Microbiology* 1994; 21:31-40.

Irino K, Fernandes SA, Tavechio AT, Neves BC, Dias AMG. Progression of *Salmonella enteritidis* phage type 4 strains in São Paulo State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 1996; 38:193-196.

ICMSF – International Commission on Microbiological Specification For Foods. *Ecología microbiana de los alimentos. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos*. Zaragoza: Acribia. 1980. 332p.

Jemmi T, Stephan R. *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2006; 25:571-580.

Konkel ME, Monteville MR, Rivera-Amil V, Joens LA. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated enteritis. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 2001; 2:55-71.

Lahellec C, Colin P, Meurier C. Origine et caractérisation des souches de *Staphylococcus aureus* présentes sur les carcasses de volailles et dans les produits transformés. *Bulletin d'Information, Station Expérimentale d'Aviculture de Ploufragan* 1977; 17:84-98.

Larkin C, Donkersgoed C, Mahdi A, Johnson P, McNab B, Odumeru J. Antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from hog, beef and chicken carcass samples from provincially inspected abattoirs in Ontario. *Journal of Food Protection* 2006; 69:22-26.

Lopes CAM, Dias R, Oliveira SL, Bergdoll MS. Staphylococcal carriage and antibodies to toxic shock syndrome toxin 1 in Brazilian women. *Revista de Microbiologia* 1997; 28:85-89.

Lovett J, Francis DW, Hunt JM. *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence and pathogenicity. *Journal of Food Protection* 1987; 50:188-192.

Lyell A. A review of toxic epidermal necrolysis in Britain. *British Journal of Dermatology* 1967; 79:662-671.

Mead GC, Dodd CER. Incidence, origin and significance of staphylococci on processed poultry. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement* 1990; 81s-91s.

Melish ME, Glasgow LA. The staphylococcal scalded skin syndrome: development of an experimental model. *New England Journal of Medicine* 1970; 282:1114-1119.

Mishu B, Koehler J, Lee LA, Rodrigue D, Brenner FH, Blake P, Tauxe RV. Outbreaks of *Salmonella enteritidis* infections in the United States, 1985-1991. *Journal of Infection Disease* 1994; 169:547-552.

Mossel DAA, Van Netten P. *Staphylococcus aureus* and related staphylococci in foods: ecology,

proliferation, toxinogenesis, control and monitoring. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement 1990; 123s-145s.

Nierop WV, Dusé AG, Marais E, Aithma N, Thothobolo N, Kassel M, Stewart R, Potgieter A, Fernandes B, Galpin JS, Bloomfield SF. Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. International Journal of Food Microbiology 2005; 99:1-6.

Noveir MR, Dogan HB, Halkman AK. A note on *Escherichia coli* O157:H7 serotype in Turkish meat products. Meat Science 2000; 56:331-335.

Nunes IA. Bactérias do gênero *Listeria* em carcaças e cortes comerciais de frangos obtidos no varejo [dissertação]. Jaboticabal (SP): Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP; 1994.

Ono K, Yamamoto K. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. International Journal of Food Microbiology 1999; 47:211-219.

Oskorv F, Oskorv I, Villon JA. Cattle as a reservoir of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. Lancet 1987; 2:276.

Padhye NV, Doyle MP. *Escherichia coli* O157:H7 epidemiology, pathogenesis and methods for detection in food. Journal of Food Protection 1992; 55:555-565.

Paquet Jr A, Raines KM, Brownback PC. Immunopotentiating activities of cell walls, peptidoglycans and teichoic acids from two strains of *Listeria monocytogenes*. Infection and Immunity 1986; 54:170-176.

Reiter MGR, Bueno CMM, López C, Jordano R. Occurrence of *Campylobacter* and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing plant. Journal of Food Protection 2005; 68:1903-1906.

Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. New England Journal of Medicine 1983; 308:681-685.

Robins-Browne RM. *Yersinia enterocolitica*. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. Food microbiology fundamentals and frontiers. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1997. p.192-215.

Rossi Jr. OD, Berchieri Jr. A, Nader Filho A, Schocken-Iturrino RP. Estudo bacteriológico em diferentes fases da linha de abate avícola. Ciência Veterinária 1988; 2:06-07.

Russel SM, Walker M. The effect of evisceration on visible contamination and the microbiological profile of fresh broiler chicken carcasses using the Nu-Tech evisceration system or the conventional streamlined inspection system. **Poultry Science** 1997; 76:780-784.

Seeliger HPR, Langer B. Serological analysis of the genus *Listeria* its value and limitations. International Journal of Food Microbiology 1989; 8:245-248.

Silliker JH. *Yersinia enterocolitica*. Food Technology 1986; 8:22.

Silva EN, Duarte A. *Salmonella* Enteritidis em aves: Retrospectiva no Brasil. Revista Brasileira de Ciência Avícola 2002; 4:85-100.

Silva JAA. A microbiologia da carcaça bovina: uma revisão. Higiene Alimentar 1997; 248:82-87.

Silva N, Silveira NFA, Contreras C, Beraquet NJ, Yokoya F, Nascimento CA, Oliveira VM, Tse CL. Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em produtos cárneos e sensibilidade dos métodos de detecção. Ciência e Tecnologia de Alimentos 2001; 21:223-227.

Steele TW, McDermott S. *Campylobacter* enteritis in South African. Medical Journal of Australia 1978; 2:404-406. Stern NJ, Clavero MRS, Bailey JS, Cox NA, Robach MC. *Campylobacter* spp. in broilers on the farm and after transport. Poultry Science 1995; 74:937-941.

Tauxe RV. Emerging foodborne diseases: An evolving public health challenge. Emerging Infectious Diseases 1997; 4:425-434.

Tavechio AT, Fernandes AS, Neves BC, Dias AMG, Irino K. Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella* enteritidis in São Paulo, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 1996; 38:315-322.

Todd J, Fishaut M, Kapral F, Welch T. Toxic Shock Syndrome associated with phage group I staphylococci. Lancet 1978; 2:1116-1118.

Varnan AH, Evans MG. Foodborne pathogens. Mosby Year Book. 1991; London. 557p.

Warnken MB, Nunes MP, Solino AL. Incidente of *Yersinia* species in meat samples purchased in Rio de Janeiro, Brasil. Journal of Food Protection 1987; 50:578-579.

Wexler H, Oppenheimer JD. Isolation, characterization and biological properties of an endotoxin-like material from the gram-positive organism *Listeria monocytogenes*. Infection and Immunity 1979; 28:845-857.

Whyte P, McGill K, Cowley D, Madden RH, Moran L, Scates P, Carroll C, O'Leary A, Fanning S, Collins JD, McNamara E, Moore JE, Cormican M. Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. International Journal Food Microbiology 2004; 95:111-118.

Zancan FT, Berchieri Jr. A, Fernandes AS, Gama NMSQ. *Salmonella* spp. investigation in transport boxes of day-old birds. Brazilian Journal of Microbiology 2000; 31:230-232.

Zhao C, Ge B, Villena J, Sudler R, Yeh E, Zhao S, White DG, Wagner D, Meng J. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork and beef from the Greater Washington, DC, area. Applied and Environmental Microbiology 2001; 67:5431-5436.

**13.1 - Doenças de perus**

*Alberto Back*

**1059**

<b>Introdução</b>	<b>1059</b>
<b>Doenças virais</b>	<b>1060</b>
<b>Enterite dos perus por coronavirus</b>	<b>1060</b>
<i>Introdução</i>	1060
<i>Etiologia</i>	1060
<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1060
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1060
<i>Diagnóstico</i>	1061
<b>Enterite hemorrágica</b>	<b>1061</b>
<i>Introdução</i>	1061
<i>Etiologia</i>	1061
<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1062
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1062
<i>Diagnóstico</i>	1062
<i>Tratamento, controle e prevenção</i>	1062

<b>Doença linfoproliferativa dos perus</b>	<b>1062</b>
<i>Introdução</i>	1062
<i>Etiologia</i>	1063
<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1063
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1063
<i>Diagnóstico</i>	1063
<i>Tratamento, controle e prevenção</i>	1063
<b>Meningoencefalite dos perus</b>	<b>1063</b>
<b>Doenças bacterianas</b>	<b>1064</b>
<b>Arizonose</b>	<b>1064</b>
<i>Introdução</i>	1064
<i>Etiologia</i>	1064
<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1064
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1064
<i>Diagnóstico</i>	1064
<i>Tratamento, controle e prevenção</i>	1065
<b>Bordeteliose</b>	<b>1065</b>
<i>Introdução</i>	1065
<i>Etiologia</i>	1065

<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1065
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1065
<i>Diagnóstico</i>	1066
<i>Tratamento, controle e prevenção</i>	1066
<b>Micoplasmose</b>	<b>1066</b>
<i>Introdução</i>	1066
<b><i>Mycoplasma meleagridis</i></b>	<b>1067</b>
<i>Introdução</i>	1067
<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1067
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1067
<i>Diagnóstico</i>	1068
<i>Tratamento, controle e prevenção</i>	1068
<b><i>Mycoplasma iowae</i></b>	<b>1068</b>
<i>Introdução</i>	1068
<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1068
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1068
<i>Diagnóstico</i>	1069
<i>Tratamento, controle e prevenção</i>	1069
<b><i>Ornitobacteriose</i></b>	<b>1069</b>



<i>Introdução</i>	1069
<i>Etiologia</i>	1069
<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1069
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1070
<i>Diagnóstico</i>	1070
<i>Tratamento, controle e prevenção</i>	1070
<b>Doenças parasitárias</b>	<b>1070</b>
<i>Coccidiose</i>	1070
<i>Terço anterior e terço médio</i>	1071
<i>Terço médio</i>	1071
<i>Terço posterior</i>	1071
<b>Histomoníase</b>	<b>1071</b>
<i>Introdução</i>	1071
<i>Etiologia</i>	1071
<i>Patogênese e epidemiologia</i>	1071
<i>Sinais clínicos e lesões</i>	1072
<i>Diagnóstico</i>	1072

<i>Tratamento, controle e prevenção</i>	1072
<b>Miscelânea</b>	<b>1072</b>
<b>Ruptura aórtica</b>	<b>1072</b>
<i>Diagnóstico</i>	1073
<i>Controle e tratamento</i>	1073
<b>Síndrome da morte súbita em perus</b>	<b>1073</b>
<i>Diagnóstico</i>	1073
<i>Controle e tratamento</i>	1073
<b>Síndrome do coração redondo</b>	<b>1073</b>
<i>Diagnóstico</i>	1073
<i>Controle e tratamento</i>	1073
<b>Síndrome entérica e mortalidade dos perus</b>	<b>1074</b>
<i>Diagnóstico</i>	1074
<i>Controle e tratamento</i>	1075
<b>Bibliografia</b>	<b>1075</b>

Alberto Back

## Introdução

O estudo das enfermidades de perus tem se tornado cada vez mais importante, não só pela relevância científica, mas principalmente pela relevância econômica que a exploração desta espécie está tendo em nosso meio. Há pouco mais de 20 anos o Brasil nem aparecia nos dados estatísticos internacionais e hoje se tornou o terceiro produtor mundial, atrás apenas dos EUA e da União Europeia e o segundo exportador mundial de carne de perus. Em 2008 foram exportadas 210.000 toneladas, representando cerca de um terço do comércio mundial.

O quadro a seguir mostra a evolução da indústria de perus no Brasil, a qual teve início em meados dos anos 60.

Ano	1.970	1.980	1.990	2.000	2.008
Produção total (cabeças)	270 mil	4.9 milhões	9.5 milhões	28 milhões	48 milhões

Acompanhando este crescimento na produção, vieram alguns desafios sanitários que foram vencidos. Hoje pode-se dizer que a saúde de nossos plantéis é comparável com as melhores do mundo. Apesar das limitações, o meio técnico-científico e principalmente a indústria têm feito um esforço significativo na busca do conhecimento para o controle das doenças. O presente capítulo, específico para as doenças de perus, sinaliza o atendimento de uma necessidade e a contribuição para um crescimento contínuo e sustentável desta indústria.

As enfermidades abordadas aqui serão apenas aquelas de maior importância econômica. A apresentação será de forma bastante objetiva e sumarizada, mas sem perder a relevância das informações. As doenças comuns às galinhas e abordadas em outros capítulos não serão tratadas aqui.

O quadro (na página seguinte) mostra as principais enfermidades que acometem galinhas, perus e as que acometem as duas espécies.

**Doenças exclusivas ou  
Doenças comuns as prevalentes em galinhas  
prevalentes em perus**

**Doenças exclusivas ou  
Doenças comuns as prevalentes em perus  
prevalentes em galinhas**

Anemia infecciosa  
Arizonose

Aspergilose

Artrite viral  
Bordetelirose

Botulismo

Ascite  
Bouba aviária

Enterite hemorrágica

Bronquite infecciosa  
coronavirus

Enterite por  
Cólera aviária

Coriza infecciosa  
Erisipela

Colibacilose

Doença de Marek  
Doença de Newcastle

Histomoníase

Doença de Gumboro  
Enterite necrótia

Mycoplasma iowae

Encefalomielite aviária  
meleagridis

Mycoplasma  
Influenza aviária

Laringotraqueíte  
Ornitobacteriose

Micotoxicose

Leucose aviária  
Mycoplasma galliseptium

Pneumovirose (C)

Síndrome da cabeça inchada (BI e E.coli)  
redondo

Síndrome coração

*Mycoplasma synoviae*

Síndrome queda postura (EDS)  
(PEMS)

Síndrome entérico  
Pneumovirose (A e B)

*Coccidiose	
*Coccidiose	Salmoneloses
* as coccídeas são específicas para cada espécie de ave.	

## Doenças virais

### Enterite dos perus por coronavírus

#### Introdução

Enterite dos perus por Coronavirus (EPC), também denominada enterite transmissível dos perus ou bluecomb disease, é uma doença viral entérica contagiosa, de rápida difusão que acomete somente perus. As aves acometidas apresentam intensa diarreia, depressão, anorexia, perda de peso, desidratação e mortalidade. A infecção é mais freqüente em aves jovens, mas pode infectar em qualquer idade. Galinhas, faisões, codornas e hamesters são refratários à infecção.

Nos EUA, a EPC teve considerável importância econômica nos anos 50 e 60 e foi erradicada a partir dos anos 70. Surgiram novos surtos de infecções por Coronavirus em perus no início dos anos 90, os quais são descritos em mais detalhes em “síndrome entérico e mortalidade dos perus”. Além dos EUA, a EPC foi descrita no Canadá e na Austrália. Não há descrição desta doença na Europa. No Brasil, a EPC foi diagnosticada apenas clinicamente no início dos anos 80, não houve confirmação laboratorial.

#### Etiologia

O agente etiológico da EPC é um Coronavirus. Em surtos naturais, não se têm evidências de que o Coronavirus de mamíferos possa infectar perus, nem que o Coronavirus de perus infecte outras espécies, inclusive o homem. O Coronavirus de perus aglutina eritrócitos de coelho e cobaias, porém não aglutina eritrócitos de bovino, equino, caprino, camundongo, ganso, macaco e galinha. Este vírus cresce em células HRT-18, em ovos embrionados de perus com mais de 15 dias de incubação e em ovos embrionados de galinhas com mais de 16 dias de incubação. O vírus pode ser recuperado do intestino, saco da gema, da bolsa de Fabrícus e dos embriões infectados. Perus nascidos de ovos infectados experimentalmente apresentam os sinais clínicos da doença a partir dos primeiros dias de idade e geralmente morrem. A EPC foi descrita pela primeira vez nos EUA em 1951. É comum encontrar outras doenças bacterianas ou virais associadas com a EPC.

#### Patogênese e epidemiologia

A contaminação pelo Coronavirus ocorre principalmente pela via oral. Uma vez a ave infectada, ocorre multiplicação intensa do vírus nas vilosidades intestinais. A eliminação do vírus se dá principalmente pelas fezes e pode perdurar por meses após infecção. A doença pode ser reproduzida com inóculo preparado com a mucosa e conteúdo intestinal ou com homogenado de bolsa de Fabrícus de aves infectadas. Inóculos preparados com fígado, baço, pâncreas, rins ou coração de aves doentes não reproduzem a doença. Não há evidências de transmissão vertical. O

Coronavírus de perus é sensível à maioria dos desinfetantes e não é muito resistente no ambiente, exceto em regiões de climas frios. O período de incubação é muito curto, dois a três dias.

## Sinais clínicos e lesões

Devido ao período curto de incubação e a característica aguda da doença, esta aparece repentinamente e se difunde de maneira rápida no lote. Os sinais clínicos mais severos são observados em aves jovens. Observa-se depressão, diarreia, redução do consumo de alimentos, desidratação, cianose, perda de peso e mortalidade. As aves sentem frio e se amontoam próximas da fonte de aquecimento. A cianose observada nas aves doentes deu origem à denominação em inglês de bluecomb disease (doença da crista azul). A doença em aves adultas pode produzir sinais clínicos idênticos, mas menos severos e raramente com mortalidade. Pode-se observar queda de postura e produção de ovos com problemas de calcificação. Além da mortalidade, a principal consequência da EPC é a redução do desempenho geral do lote. Em surtos de campo a mortalidade pode variar de 1 a 40%, a morbidade é de quase 100%.

As lesões mais relevantes aparecem no intestino. Na necropsia se observa enterite catarral, intestino distendido e flácido, ceco com fezes líquidas e presença de gás. Hemorragias em forma de petéquias podem aparecer na parede intestinal. As aves podem se apresentar desidratadas e com início de caquexia. Ocasionalmente se observam rins edemaciados e pálidos, baço diminuído de tamanho e pâncreas com áreas de coloração esbranquiçada. A lesão histopatológica mais típica e importante é o encurtamento das vilosidades intestinais, principalmente no jejuno e a diminuição do número de células caliciformes. Também pode ser observada nefrite com retenção de uratos e ainda necrose focal no pâncreas.

## Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo pode ser feito com base no histórico, sinais clínicos e lesões. Em perus jovens se observa diarreia aguda, enterite catarral, depressão, desidratação e eventualmente mortalidade. O diagnóstico definitivo é feito pelo isolamento do vírus em células de linhagem HRT-18 ou em ovos embrionados de perus. Para a confirmação pode-se usar PCR, microscopia eletrônica, prova de imunofluorescência ou neutralização viral. A presença do vírus também pode ser confirmada pela realização dos mesmos testes em amostras da mucosa, conteúdo intestinal ou bolsa de Fabrício de aves doentes. A doença é facilmente reproduzida pela inoculação oral do conteúdo intestinal de aves doentes em perus susceptíveis.

No exame histopatológico se observa o encurtamento das vilosidades intestinais. Deve-se fazer o diagnóstico diferencial de salmonelose, privação de água e alimento, doenças parasitárias intestinais como coccidiose, hexamitíase, trico-moníase e outras viroses entéricas. A detecção de anticorpos pelo teste de ELISA, soroneutralização e imunofluorescência também auxiliam no diagnóstico.

## Tratamento, controle e prevenção

Não há tratamento efetivo para a EPC. Bom manejo e ambiente confortável podem minimizar as perdas. Pode-se usar antibióticos de largo espectro para controlar contaminantes secundários.

A prevenção da EPC é fundamentalmente baseada no isolamento e aplicação de medidas rigorosas de biossegurança. Não há vacina disponível no mercado e dificilmente haverá desenvolvimento de vacina por ser uma doença não endêmica. Pelo fato do vírus infectar somente perus, outras aves ou outros animais têm pouca importância na disseminação da doença, exceto como carreadores mecânicos. Granjas que passaram por um surto, devem ficar isoladas e os aviários devem ser limpos, desinfetados e com vazio sanitário de no mínimo três semanas.

## Enterite hemorrágica

### Introdução

Enterite hemorrágica (EH) é uma doença viral aguda que acomete perus em crescimento causando esplenomegalia, diarreia sanguinolenta e mortalidade. A EH também pode ocorrer na forma subclínica, causa imunossupressão e frequentemente é seguida por colisepticemia. O diagnóstico foi realizado em várias partes do mundo onde existe criação comercial de perus. No Brasil, na década de 80, foram detectadas a presença de anticorpos e a manifestação clínica de EH em perus de 50 a 70 dias de idade. Na década de 90 a vacina foi introduzida e a ocorrência tem sido apenas ocasional sem grandes perdas econômicas.

### Etiologia

Enterite hemorrágica é causada por um adenovírus aviário do gênero Aviadenvirus da família Adenoviridae, também denominado adenovírus tipo II. Existe apenas um sorotipo de vírus e este é idêntico ao adenovírus da doença do baço marmóreo dos faisões (DBMF) e ao adenovírus que causa a esplenomegalia das galinhas (EG). A primeira descrição da doença ocorreu nos anos 30 nos EUA.

### Patogenese e epidemiologia

A transmissão do vírus ocorre principalmente pela via oral. Após a ingestão, o vírus se multiplica nas células linfóides do intestino e baço, induz a produção de citocinas que são responsáveis pela hemorragia intestinal. O vírus da EH, da DBMF e da EG possuem características físicas, químicas e sorológicas idênticas. A distinção da doença é baseada na espécie em que o vírus é isolado, ou seja, peru, faisão ou galinha respectivamente. Em condições experimentais, a esplenomegalia ocorre cinco a seis dias após a inoculação oral e três a quatro dias após a inoculação endovenosa. Em surtos de campo, o curso da doença é de 5 a 10 dias. Ocasionalmente a mortalidade pode ser elevada, há relatos que pode chegar até 50%, mas no Brasil raramente foi superior a 2%.

Várias espécies de aves têm sido infectadas experimentalmente pelo vírus da EH como: perus, galinhas e faisões. Há suspeita que a infecção natural ocorra em galinha-d'angola e em alguns psitacídeos.

Apesar dos adenovírus não serem muito resistentes no meio ambiente e a desinfetantes, a EH se difunde com facilidade no meio criatório de perus. Não há evidências de transmissão vertical. A infecção com o vírus de EH resulta em imunossupressão temporária. A colibacilose aparece com frequência após um surto de EH e provavelmente está relacionada com a imunossupressão devido a presença do vírus.

## Sinais clínicos e lesões

Diarréia sanguinolenta ou mortalidade súbita são os primeiros sinais de EH. Algumas aves apresentam depressão e penas sujas de sangue na região da cloaca. Aves com os sinais clínicos severos geralmente morrem em 24 horas. Colisepticemia pode ser observada uma a duas semanas após um surto de EH. Exceto em casos complicados, toda a mortalidade por EH ocorre durante a primeira semana após o aparecimento da doença. Sangue na cloaca pode ser observado fazendo pressão no abdômen de aves moribundas ou recém-mortas.

As aves mortas estão em bom estado nutricional, mas geralmente se apresentam pálidas devido à hemorragia intestinal. O intestino está dilatado, escuro e com presença de sangue, principalmente no duodeno e ceco. O baço aumentado e algumas vezes com aspecto marmóreo. As mesmas lesões podem ser vistas em faisões infectados com o vírus da DBMF, exceto que estes apresentam congestão e edema no pulmão.

As principais lesões histopatológicas são: hiperplasia da polpa branca do baço, necrose de centros germinativos e presença de inclusões intranucleares nas células linforeticulares. No intestino, além da hemorragia, observam-se inclusões intranucleares nas células do sistema reticuloendotelial.

## Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo é feito com base no histórico de doença em aves jovens com baço marmóreo e diarréia sanguinolenta. O isolamento do vírus ou a demonstração de inclusões intranucleares confirmam o diagnóstico. A sorologia também pode ser útil na confirmação do diagnóstico. ELISA e AGP são os testes geralmente usados. A presença do vírus no baço e no intestino pode ser demonstrada pela microscopia eletrônica. A reprodução da doença pode ser feita inoculando perus livres de anticorpos com macerado do baço ou intestino via oral ou endovenosa.

## Tratamento, controle e prevenção

Pelo fato de ser uma doença viral, não há tratamento efetivo. Bom manejo e ambiente adequado podem amenizar as conseqüências da doença. Devido à natureza imunossupressiva deste vírus, pode ocorrer infecção por *E. coli* após o surto. Neste caso a infecção secundária pode ser tratada com antibióticos.

A prevenção é baseada no bom manejo, higiene e biosseguridade. Porém, após a ocorrência de um surto na granja, mesmo com lavagem e desinfecção, o vírus tende a permanecer no ambiente. Neste caso o uso de vacina é recomendado. A vacinação deve ser efetuada logo após a queda dos anticorpos maternos, entre quatro a cinco semanas de idade. Existem vacinas vivas administradas via água, que são preparadas com amostra avirulenta do vírus de EH ou com amostra isolada de faisões. Em contra partida, uma amostra do adenovírus de perus é usada como cepa vacinal para prevenir a DBMF em faisões.

## Doença linfoproliferativa dos perus



## Introdução

Doença linfoproliferativa dos perus (DLP) é uma virose que acomete principalmente perus em crescimento e é caracterizada pelo aparecimento de baços extremamente aumentados. Até o momento esta enfermidade só tem sido observada naturalmente em perus. Foi descrita pela primeira vez em 1972 na Inglaterra e posteriormente em alguns países da Europa e em Israel. Não há descrição da DLP em outras partes do mundo, inclusive no Brasil.

## Etiologia

O agente da DLP ainda não foi isolado, porém há evidências de que se trata de um Retrovirus. Partículas virais foram identificadas no plasma e no baço de perus com a doença natural e experimental.

## Patogênese e epidemiologia

A doença ocorre naturalmente em perus durante a fase de crescimento entre 7 a 18 semanas, sendo pouco freqüente em aves adultas. Galinhas inoculadas experimentalmente desenvolveram a doença, porém patos e gansos foram refratários. Em perus foi demonstrada a ocorrência de transmissão por contato e há algumas evidências de transmissão vertical. Em lotes acometidos, algumas aves desenvolvem a infecção, mas não manifestam a doença. A mortalidade geralmente é baixa, porém pode chegar a mais de 20% em alguns casos. Machos parecem ser mais suscetíveis do que as fêmeas. O período de incubação ainda não foi determinado nos surtos de campo, existem algumas evidências que este pode ser de várias semanas.

## Sinais clínicos e lesões

Os sinais clínicos nem sempre são muito evidentes, quando manifestados se observa: anorexia, penas eriçadas e locomoção cambaleante. O curso clínico tende a ser rápido e a maioria das aves que manifestam sinais morrem.

Na necropsia, a lesão macroscópica mais significativa na DLP é a esplenomegalia. O baço aumentado de tamanho se apresenta pálido ou rosado e com aspecto marmóreo. Lesões puntiformes ou difusas podem ser observadas no fígado, pâncreas, timo, rim, pulmões, intestino e gônadas. Algumas aves podem apresentar anemia e nervos periféricos aumentados. A avaliação histopatológica das lesões (tumores) mostra acúmulo de linfócitos, linfoblastos, células reticulares e plasmócitos.

## Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo se baseia no histórico do lote, idade das aves e achados de baços bastante aumentados. A confirmação pode ser feita pelo exame histopatológico das lesões tumorais e pelo

teste de PCR. Devido à dificuldade em se isolar o vírus, é difícil padronizar provas para a detecção de anticorpos. Deve-se fazer o diagnóstico diferencial principalmente de reticuloendoteliose. No caso de DLP, as principais características são: baços bastante aumentados, aves acometidas durante período de crescimento e lesões tumorais formadas por

vários tipos celulares.

## Tratamento, controle e prevenção

Devido ao limitado conhecimento sobre esta doença, ainda não foram estabelecidas medidas nem de tratamento e nem de prevenção. Caso seja necessário, se especula que o mesmo sistema de erradicação usado para leucose linfóide possa ser utilizado para DLP. Recomendam-se cuidados gerais de biossegurança e isolamento de outras criações de perus.

## Meningoencefalite dos perus

A meningoencefalite dos perus (MEP) infecta somente perus e é causada por um vírus do gênero Flavovirus. Foi identificado pela primeira vez em Israel em 1960 e em 1978 na África do Sul, não há reporte em outras partes do mundo. Os perus são susceptíveis em qualquer idade, porém a doença só se manifesta em aves com mais de 10 semanas. O período de incubação é de aproximadamente uma semana.

Perus com a doença manifestam sinais nervosos e paralisia. A mortalidade é variável, mas pode chegar a 50%. Pode ocorrer enterite catarral e peritonite. Aves em produção podem apresentar queda de postura e regressão de ovário, os machos apresentam redução de fertilidade. O vírus da MEP é transmitido por mosquitos, não há evidências de transmissão por contato.

As principais lesões microscópicas são meningoencefalite não purulenta com infiltração perivascular e necrose do miocárdio. O isolamento do vírus é feito em ovos embrionados de galinhas ou em cultura de fibroblastos de embriões. A identificação do vírus pode ser feita pelo teste de inibição da hemaglutinação (HI) ou neutralização viral. Deve-se fazer o diagnóstico diferencial de encefalite eqüina leste, encefalite eqüina oeste, doença de Newcastle e de encefalomielite aviária.

## Doenças bacterianas

### Arizonose

#### Introdução

Arizonose é uma enfermidade bacteriana que tem grande importância para perus jovens, causa um quadro entérico geralmente acompanhado de septicemia. A infecção já foi descrita em diferentes partes do mundo em répteis, mamíferos (incluindo o homem), várias espécies de aves silvestres e domésticas, porém a espécie mais sensível é o peru. Neste, a infecção pode resultar em doença clínica e mortalidade com perdas econômicas significativas. Em galinhas a doença é rara e os sinais são brandos. No Brasil, a arizonose já foi diagnosticada em galinhas e perus, mas atualmente não há relatos de casos.

#### Etiologia

O agente etiológico da arizonose é a *Salmonella arizonae*. É um bacilo Gram negativo, móvel, não

formador de esporos pertencente à família Enterobacteriaceae e ao gênero *Salmonella*, espécie enterica e subespécie arizonae. Ela se diferencia das outras salmonelas paratíficas por fermentar lactose (7 a 10 dias), malonato, betagalactosidase e não fermenta dulcitol. Para isolamento, seguir o mesmo procedimento das demais salmonelas. Existem descritos dezenas de sorotipos de *Salmonella arizonae*, sendo o 18:z4,z32 o mais prevalente em perus. A infecção por *S. arizonae* foi reconhecida pela primeira vez em 1936 nos EUA e a caracterização definitiva ocorreu em 1939. A *S. arizonae* é sensível à maioria dos desinfetantes, porém resiste por meses no ambiente.

## Patogenese e epidemiologia

A *S. arizonae* se multiplica predominantemente no intestino e é eliminada em grande quantidade pelas fezes, contaminando a água, o alimento e o ambiente. Também é encontrada no aparelho reprodutor das fêmeas e no sêmen dos machos. Como a maioria das salmonelas paratíficas, a *S. arizonae* infecta uma grande variedade de animais, facilitando a transmissão entre as diferentes espécies. Matrizes infectadas transmitem a bactéria via ovos devido a infecção nos ovários, oviduto ou pela penetração da bactéria na casca do ovo. Aves convalescentes permanecem portadoras e podem disseminar a bactéria de forma intermitente nas fezes, possibilitando a ocorrência de infecção horizontal de aves susceptíveis. No incubatório a bactéria pode ser disseminada por aerossóis.

Apesar de a infecção ocorrer em qualquer idade, a doença é mais severa em peruzinhos que nascem infectados ou se infectam nas primeiras semanas de vida. Répteis e roedores próximos de aviários foram relacionados como fontes de infecção para as aves. A *S. arizonae* pode infectar o homem e causar gastroenterite, apesar de o contato com aves positivas não ser considerado como um fator de risco significativo.

## Sinais clínicos e lesões

A infecção em aves adultas dificilmente causa a manifestação de sinais clínicos e mortalidade. A doença clínica com mortalidade ocorre mais frequentemente em perus jovens. Observa-se prostração, diarreia, empastamento da cloaca, penas eriçadas e mortalidade. Torcicolo e incoordenação podem ocorrer em eventual lesão no sistema nervoso central. Algumas aves desenvolvem lesão ocular, caracterizada por opacidade da córnea, cegueira e até perda do globo ocular. A mortalidade geralmente é baixa, mas eventualmente pode chegar a 50%. As lesões mais severas são observadas quando a infecção ocorre via vertical ou infecção em aves jovens. Algumas aves podem morrer por septicemia, porém na maioria das vezes se observa fígado hipertrofiado de cor amarelada com pontos de necrose, retenção de gema, enterite com congestão do duodeno e tiflites com acúmulo de material caseoso no lúmen. Aproximadamente 5 a 10% das aves desenvolvem opacidade de córnea (catarata). Ocasionalmente pode ocorrer peritonite e formação de nódulos necróticos nos pulmões.

Microscopicamente se observa áreas de necrose focal discretas no fígado, meningite com deposição de fibrina, infiltração linfocitária e presença de bactérias, acúmulo de exsudato no humor vítreo do globo ocular, no qual se observa fibrina, heterófilos e grande quantidade de bactérias. É comum tiflites com necrose da parede do seco.

## Diagnóstico

Presuntivamente o diagnóstico é feito com base no histórico de aumento de mortalidade, sinais nervosos, cegueira, diarreia e presença de material caseoso no ceco. Para o diagnóstico definitivo é necessário o isolamento e a identificação da *S. arizonae*. O isolamento pode ser do fígado, baço, pulmão, cérebro, olho, intestino, ovos, embriões e do ambiente. O método de cultivo e identificação bioquímica é idêntico ao das salmonelas paratíficas. A identificação sorológica preliminar pode ser feita usando anti-soro para antígeno flagelar z32, z23 e anti-soro para antígeno somático 18, presentes na *S. arizonae*.

## Tratamento, controle e prevenção

O uso de antibióticos como tetraciclina, espectinomicina e sulfas reduzem significativamente a mortalidade e os sinais clínicos. Aves sobreviventes apresentam desuniformidade bastante acentuada. A aplicação de gentamicina injetável em perus de um dia, nascidos de matrizes infectadas, é muito efetiva no controle da doença.

As medidas gerais de prevenção da arizonose são as mesmas usadas para salmonelas paratíficas. Pelo fato de *S. arizonae* ser transmitida pelo ovo, lotes de matrizes positivas devem ser rapidamente identificados, mantidos em isolamento ou eliminados. Aves infectadas permanecem portadoras. Pela falta de disponibilidade de provas sorológicas comerciais, o monitoramento das aves é feito pela presença de sinais clínicos e o isolamento da salmonela das aves ou do ambiente. A erradicação da *S. arizonae* das matrizes e das avós de perus foi obtida pela inoculação e imersão de ovos com antibióticos (gentamicina) antes da incubação. Bacterinas para *S. arizonae* também podem ser utilizadas num programa de erradicação associados à medidas rigorosas de biossegurança. Por mais de duas décadas os principais fornecedores de avós e matrizes de perus no mundo possuem os plantéis livres de *S. arizonae*.

## Bordeteliose

### Introdução

Bordeteliose ou coriza dos perus é uma doença bacteriana altamente contagiosa que acomete o trato respiratório superior dos perus. A infecção pode ocorrer em qualquer idade, porém é mais freqüente entre duas a seis semanas de idade. Em perus jovens, se caracteriza pelo acúmulo de exsudato nasal e secreção ocular espumosa. Em perus mais velhos, pode causar traqueíte e complicações respiratórias secundárias.

Esta doença foi confirmada em perus nos EUA, Canadá, França, Itália, Israel e África do Sul. No Brasil, existe registro de isolamento do agente em perus comerciais realizado em meados dos anos 80, porém o agente pode ser facilmente recuperado na criação industrial. A bordeteliose é mais freqüente e mais importante para perus do que galinhas. Em galinhas não é agente primário, quando ocorre é apenas oportunista.

### Etiologia

O agente da bordeteliose é a *Bordetella avium*. Esta bactéria é um bacilo Gram negativo capsulado, móvel, aeróbico, oxidase e catalase positivas, urease e nitrato negativos. As colônias medem 0,2 a 1mm de diâmetro após 24 horas de cultivo em ágar MacConkey. É muito sensível ao

calor, não sobrevive a 45°C por 24 horas. Existe apenas um sorotipo descrito, mas as amostras apresentam diferenças de patogenicidade.

## Patogênese e epidemiologia

A infecção por *B. avium* ocorre no trato respiratório superior, lesando as criptas e o epitélio. Os sinais clínicos e as lesões são mais intensos e se agravam quando ocorrem infecções secundárias com agentes tais como: *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, pneumovírus, vírus da doença de Newcastle, *Pasteurella multocida*, *Ornithobacterium rhinotraqueale* e micoplasmas. Perus são considerados hospedeiros naturais da *B. avium*, embora ela possa ser isolada de galinhas e de outras espécies de aves. Perus infectados permanecem portadores e se constituem em fonte importante de disseminação. A disseminação da *B. avium* entre lotes, na maioria das vezes, é decorrente do contato e do trânsito das pessoas. Não há evidências de transmissão vertical. O período de incubação é de aproximadamente uma semana. É possível reproduzir a doença em perus, porém os sinais clínicos observados são mais suaves do que os de um surto de campo. A *B. avium* é sensível à maioria dos desinfetantes e condições de ambiente seco, mas sobrevive meses em material de cama. Bordeteliose é considerada uma doença de alta morbidade e baixa mortalidade, quando não complicada com agentes secundários.

## Sinais clínicos e lesões

No início da doença os perus apresentam espirros, eliminam secreção nasal transparente e lacrimejam. O lacrimejamento pode formar secreção com aspecto de espuma no canto do olho. A secreção nasal se torna bastante evidente quando as narinas são pressionadas. Com o progresso da doença, pode ocorrer acúmulo de secreção nasal que se torna purulenta e pode aderir nas penas da cabeça e das asas. As aves apresentam dificuldade respiratória e muitas vezes respiram com o bico aberto. Apresentam ainda, sinais de depressão, inapetência e buscam fonte de aquecimento. Estertores traqueais podem persistir por duas a três semanas. Quando ocorre infecção concomitante com vírus respiratório, sinusite pode ser observada. Perus adultos podem desenvolver tosse seca e não apresentar descarga nasal ou ocular.

As lesões macroscópicas são vistas somente no trato respiratório superior. Observa-se conjuntivite, sinusite e traqueíte mucóide com acúmulo significativo de exsudato na traquéia, laringe, narinas e ocasionalmente nas coanas. Edema submandibular e acúmulo de material purulento e pastoso nas narinas e olhos podem ser vistos ocasionalmente. Nas aves severamente acometidas pode haver colapso ou achatamento da traquéia que dificulta a passagem de ar e eventualmente ocasiona morte. A presença de traquéia colapsada (achatada) é uma alteração quase patognomônica de bordeteliose. As lesões microscópicas mais relevantes são a presença da bactéria aderida aos cílios das células epiteliais do trato respiratório superior (principalmente da traquéia), perda dos cílios, descamação epitelial, hipertrofia e metaplasia das glândulas acinares. Outras lesões podem ocorrer dependendo dos contaminantes secundários.

## Diagnóstico

Presuntivamente o diagnóstico pode ser feito com base no histórico de sinais respiratórios nas vias superiores. O diagnóstico definitivo é obtido somente com o isolamento da *B. avium*. Exames sorológicos como ELISA, soroglutinação em placa e microaglutinação complementam o

diagnóstico. A traquéia é o material de escolha para tentativa de isolamento da *B. avium*. A detecção de anticorpos pelos testes de microaglutinação e ELISA apresenta correlação positiva com o isolamento da bactéria. O pico de títulos de anticorpos contra *B. avium* é observado três a quatro semanas após infecção. No início da infecção, a *B. avium* pode ser isolada da traquéia em cultura quase pura. Fazer diagnóstico diferencial de pneumovirose, ornitobacteriose e micoplasmose.

## Tratamento, controle e prevenção

O tratamento da bordeteliose com antibióticos tem eficácia limitada, estes são mais eficazes para os agentes secundários. Possivelmente pelo fato de *B. avium* estar presente na superfície do epitélio, torna-se difícil o contato desta com as concentrações de drogas a nível terapêutico. Dar ênfase ao ambiente confortável, limpeza diária de bebedouros, suplementação de vitaminas e eletrólitos e usar água clorada. As instalações em que foram criados lotes positivos devem ser rigorosamente lavadas e desinfetadas. Usar intervalo entre lotes de pelo menos duas semanas. Isolar os lotes doentes e manter cuidados rigorosos para evitar a disseminação pelo contato com outras aves, pessoal e equipamentos.

Além de medidas de higiene, pode-se usar vacina para controle da bordeteliose. Vacina viva (mutante termo-sensível) tem sido aplicada em perus nos EUA. As aves devem ser vacinadas no incubatório, via spray, e receber uma segunda dose via água de bebida entre a segunda e terceira semanas de vida. Também as matrizes podem ser vacinadas com bacterina oleosa para conferir imunidade inicial à progênie.

## Micoplasmose

### Introdução

A micoplasmose em perus é tão importante quanto a micoplasmose em galinhas, se não controlada ela pode inviabilizar a produção. Quatro micoplasmas têm importância econômica para esta espécie: *Mycoplasma synoviae* (MS), *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *Mycoplasma meleagridis* (MM) e *Mycoplasma iowae* (MI). Estes estão amplamente distribuídos no mundo, mas controlados na criação comercial. Sorologicamente o MG, MS e MI são os mesmos que infectam galinhas, porém o MM é distinto e infecta apenas perus. A transmissão pode-se dar por via horizontal, porém a transmissão vertical é a mais importante e ocorre nas quatro espécies.

No caso de infecção por *Mycoplasma synoviae* (MS), a epidemiologia, sinais clínicos, lesões e o controle são bastante similares com o que ocorre em galinhas. A patogenicidade do MS em perus também é significativamente mais branda do que a do MG. As lesões e conseqüentes perdas que ocorrem estão associadas ao sistema locomotor (tenosinovite) e respiratório (eventualmente aerossaculite). Quando aerossaculite está presente, sempre devido a contaminantes secundários e neste caso as perdas podem aumentar devido as condenações no abatedouro.

Em infecção por *Mycoplasma gallisepticum* (MG), o cenário é um pouco diferente. Apesar de MG ser problema sério para as galinhas, ele é ainda pior para perus. A severidade do quadro respiratório e as perdas decorrentes tendem a ser maior. A mortalidade e as condenações

geralmente são elevadas. O fato dos perus comerciais permanecerem por mais tempo no campo (até 20 semanas), aumenta a possibilidade de infecção horizontal, o que é raro em frangos pela pouca idade de abate. A epidemiologia geral e as medidas de controle para o MG em perus são basicamente as mesmas do que para galinhas. Existe, porém uma diferença, a amostra F usada como vacina para galinhas é bastante patogênica para perus, causa um quadro respiratório muito severo.

## *Mycoplasma meleagridis*

### Introdução

O *Mycoplasma meleagridis* (MM) é patogênico somente para perus. Causa aerossaculite, diminuição de eclosão, anormalidades no esqueleto e redução do desempenho. A associação do MM com desenvolvimento de aerossaculite foi demonstrada pela primeira vez em 1958 nos EUA. Embora a infecção natural só tenha sido detectada em perus, experimentalmente foi possível infectar pombos e codornas, mas sem causar doença. Antes de iniciar o programa de erradicação nos planteis de reprodutoras, em meados de 1970, o MM era detectado em 100% das aves comerciais, inclusive no material genético. Com o programa de erradicação o MM foi eliminado das aves industriais. Por quase duas décadas este micoplasma não é mais detectado nas linhagens comerciais no Brasil.

### Patogênese e epidemiologia

Epidemiologicamente o MM é muito semelhante aos outros micoplasmas, exceto que este infecta somente perus e é sorologicamente distinto.

A transmissão do MM ocorre principalmente por via vertical e venérea, a transmissão horizontal é menos relevante. Fêmeas que apresentam infecção limitada ao trato respiratório, raramente transmitem o MM via ovo. A infecção do trato reprodutivo das fêmeas ocorre principalmente devido à introdução de sêmen de machos infectados. A infecção horizontal pode ocorrer através da inalação de aerossóis no incubatório ou nos aviários e geralmente resulta em alta taxa de aves positivas. O MM também pode ser disseminado por equipamentos, veículos, roupas, calçados, sexagem e transferência de aves positivas.

Esta bactéria pode ser encontrada na bolsa de Fabrício, na cloaca de perus jovens, no falo (pênis), no oviduto de aves adultas e no trato respiratório de perus em crescimento sem causar lesões. A infecção respiratória associada com MS, *E. coli* ou MI é mais grave do que aquela causada só pela infecção com MM. Deformidades do esqueleto têm sido associadas com a presença de MM, porém ainda não se conhece o mecanismo de indução desta patologia.

### Sinais clínicos e lesões

A infecção horizontal geralmente não produz sinais clínicos, exceto em fêmeas que podem apresentar discreta queda na produção de ovos. Os sinais clínicos se manifestam principalmente em aves jovens infectadas via ovo. Embriões infectados podem ter dificuldade de eclosão e os peruzinhos nascidos são de qualidade inferior. Pode haver aumento da mortalidade na primeira semana e comprometimento do desempenho. Perus que nascem infectados podem apresentar

problemas respiratórios. Em perus de três a cinco semanas pode ocorrer deformidade no esqueleto com aparecimento de aves com pernas curvadas, encurtamento do tíbiotarso e deformação das vértebras cervicais. Existem evidências de que as alterações esqueléticas ou ósseas ocorram devido à deficiência de biotina, associadas ou potenciadas pela presença do MM, produzindo a síndrome do peru-65 (TS-65). Ocasionalmente pode ocorrer sinovite. Quando a infecção ocorre em aves adultas, as lesões são muito brandas ou inexistentes. Ocasionalmente se pode observar discreta aerossaculite. As lesões mais significativas de aerossaculite, principalmente nos sacos aéreos torácicos, são observadas em embriões que bicaram a casca e não eclodiram ou em peruzinho de um dia. Nota-se espessamento das membranas e com frequência acúmulo de material caseoso que pode progredir para os sacos aéreos abdominais. Em lotes MM positivos ocorre aumento das condenações por aerossaculite.

Microscopicamente se observa aerossaculite exsudativa e em alguns casos pneumonia. Nos sacos aéreos ocorre acúmulo de heterófilos, infiltração focal de linfócitos e deposição de fibrina. Nos pulmões se observa acúmulo de fibrina e afluxo de células mononucleares. No útero e na vagina ocorre acúmulo focal de linfócitos. As alterações ósseas observadas devido à TS-65 são idênticas às descritas para condrodistrofia.

## Diagnóstico

Presuntivamente o aumento da incidência de aerossaculite em perus de um dia de idade sugere infecção por MM, no entanto, estes sinais são semelhantes aos causados por outros micoplasmas. Para o diagnóstico definitivo é necessário efetuar isolamento e identificação da bactéria. A confirmação também pode ser feita pelo teste de inibição da hemaglutinação (HI) e por reação em cadeia da polimerase (PCR). Os testes de soroaglutinação rápida (SAR) e imunoenzimático (ELISA) podem ser usados para monitoria. O MM pode ser isolado da traquéia, da fenda palatina, dos sacos aéreos e, em de aves adultas, da cloaca, do falo e do sêmen. As causas de aerossaculite devem ser diferenciadas da infecção por outros micoplasmas (MS, MG e MI), e pela *Chlamydia* sp. As alterações esqueléticas devem ser diferenciadas das lesões causadas pelo MI e pelas deficiências nutricionais.

## Tratamento, controle e prevenção

A gravidade da infecção pode ser reduzida pelo uso de antibióticos tais como: tilosina, tetraciclina, lincomicina e espectinomicina. Embora não seja um procedimento prático, mas a imersão de ovos infectados em solução de tilosina, gentamicina e amônia quaternária reduz significativamente a incidência da aerossaculite, melhora o desempenho, diminui a ocorrência de deformidades no esqueleto e as condenações no abatedouro.

As medidas gerais de prevenção para MM são as mesmas utilizadas para outros micoplasmas de interesse econômico para aves. Não há vacina viva, mas pode-se usar bactéria. Devido à característica de transmissão vertical do MM, é preconizada a erradicação como maneira mais efetiva de controlar a doença em avós e matrizes. Recomenda-se iniciar a criação com aves livres e mantê-las em isolamento sob medidas de biossegurança. Considerando que o MM é transmitido principalmente por via venérea, é importante dar atenção à qualidade do sêmen e aos procedimentos gerais de inseminação. Recomenda-se o monitoramento periódico das matrizes e



avós através de provas sorológicas ou por PCR.

## *Mycoplasma iowae*

### Introdução

A infecção dos perus por *Mycoplasma iowae* (MI) causa uma doença caracterizada por redução da eclosão, aumento da mortalidade embrionária e redução do desempenho. No passado, o MI era descrito como pertencente ao grupo IJKNQR, porém estudos moleculares mais recentes não concordam com esta classificação. Existe uma variação considerável de patogenicidade entre as amostras de MI. Como os outros micoplasmas, MG, MM e MS, o MI é sensível no ambiente, mas sobrevive por vários dias (cinco a seis) nas penas e nos cabelos humanos. No entanto, boa lavagem e desinfecção eliminam facilmente este microorganismo. Esta espécie de micoplasma foi descrita pela primeira vez em 1962 nos EUA.

A infecção por MI só foi descrita nos EUA, na Europa e na Ásia. Considerando que até recentemente a maioria das linhagens de perus eram positivas, presume-se que a infecção pelo MI estava presente em todas as regiões onde havia criação comercial de perus, inclusive no Brasil. O principal hospedeiro do MI é o peru, ocasionalmente galinhas podem se infectar. Houve isolamento de MI de papagaio da Amazônia, mas no Brasil não temos registros de isolamento de MI em aves comerciais.

### Patogênese e epidemiologia

A transmissão vertical do MI está bem documentada, mas não ocorre em 100% das aves. É possível identificar fêmeas, em um plantel, que transmitam e outras que não transmitam o MI. Em aves adultas, o MI é encontrado principalmente no oviduto, na cloaca e no falo. Existem evidências demonstrando que a inseminação é uma via importante de difusão desta doença. A transmissão do MI também ocorre por via horizontal entre aves de um mesmo lote, mas parece ser mais lenta quando comparada com os outros micoplasmas. Aves infectadas antes de atingir a maturidade sexual podem se manter negativas ao exame bacteriológico, porém após o pico da produção, o MI pode ser recuperado de grande número. Imediatamente após a eclosão, o MI pode ser recuperado da cloaca e do trato respiratório superior de peruzinhos, porém algumas semanas após a infecção a recuperação se torna difícil. A redução da eclosão e o aumento da mortalidade embrionária podem variar de acordo com a patogenicidade da amostra. Diferente de outros micoplasmas, o MI também coloniza o trato digestivo. A infecção por MI só foi observada em aves.

### Sinais clínicos e lesões

A infecção em aves não induz sinais clínicos, porém se nota uma diminuição de até 5% na eclosão. Alguns ovos infectados eclodem e dão origem a perus de má qualidade, apresentam empenamento anormal e tem redução no desempenho. A mortalidade embrionária ocorre principalmente na fase final da incubação. Perus jovens inoculados experimentalmente com MI apresentaram redução do crescimento, empenamento deficiente e problemas esqueléticos como condrodistrofia e ainda tenosinovite. O mecanismo de indução destas lesões não é conhecido e

nem sempre elas são observadas num surto de campo.

Embriões que não eclodem apresentam retardo de crescimento, congestão, edema e espleno-megalia. Muitas vezes os embriões apresentam penugem enrolada (club down). Este tipo de lesão também pode ser causada por excesso de temperatura durante a incubação. A aerossaculite presente em perus e pintos inoculados com MI é discreta. Pintos de corte inoculados com um dia de idade podem desenvolver tenosinovite e ruptura do tendão gastrocnêmio.

## Diagnóstico

O aumento da mortalidade embrionária e a redução da eclosão podem sugerir infecção por MI. O diagnóstico definitivo só é obtido pelo isolamento e a identificação do micoplasma, que é encontrado em grande concentração nos embriões mortos. Perus inoculados com MI no primeiro dia de vida se infectam facilmente e a bactéria pode ser isolada de vários tecidos, mas principalmente do trato gastrointestinal e de suabes de cloaca. O isolamento do micoplasma se torna mais difícil à medida que a ave cresce. Em galinhas e perus adultos, o MI pode ser isolado do sêmen, falo e oviduto. Teste sorológico como agar gel precipitação (AGP) é pouco efetivo para diagnóstico, o MI é pouco imunogênico. Não é possível realizar o HI para MI, este não aglutina hemáceas. Testes como PCR foram utilizados e são recomendados para monitoria e diagnóstico.

## Tratamento, controle e prevenção

O tratamento de lotes positivos é pouco praticado pelo fato de a doença clínica por MI ter limitado significado econômico. Lotes de matrizes podem ser tratados com antibióticos como tiamulina e enrofloxacina, mas estes não garantem a eliminação definitiva do MI. Ovos de matrizes positivas tratados por imersão com enrofloxacina resultaram em leve melhora da eclodibilidade.

A prevenção do MI se baseia nos mesmos princípios de prevenção e controle aplicados para os outros micoplasmas. Deve-se iniciar a criação com aves livres e mantê-las livres através de boas práticas de isolamento e biossegurança. Não existe vacina para MI. O tratamento reduz as consequências da doença, mas não elimina totalmente a infecção. A falta de testes sorológicos sensíveis limita o acompanhamento da infecção. Pode-se monitorar o lote através de cultivo de suabes de cloaca e de sêmen antes do início da postura e por PCR. As aves positivas devem ser eliminadas.

## Ornitobacteriose

### Introdução

A ornitobacteriose é uma doença bacteriana das aves caracterizada por sinais respiratórios que podem variar de brandos a severos. Pode ocorrer pneumonia uni ou bilateral e mortalidade. Esta enfermidade foi caracterizada como doença em galinhas e perus no final dos anos 80 e início dos anos 90 na África do Sul, Israel, Europa e nas Américas. Em menos de uma década ela foi reconhecida em vários continentes. Além de galinhas e perus, o agente da ornitobacteriose foi isolado de pombos, perdizes, faisões e de algumas aves silvestres. No Brasil, a ornitobacteriose foi diagnosticada em perus no final dos anos 90 e em galinhas em 2001. As conse-  
quências

econômicas desta enfermidade são mais significativas para perus do que para galinhas. Não há evidências de que esta doença tenha algum risco para a saúde pública.

## Etiologia

A ornitobacteriose é causada por um bacilo Gram-negativo pleomórfico, identificado em meados dos anos 90 como *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT). É um novo gênero e uma nova espécie de bactéria patogênica para aves. Este bacilo não forma esporos, é imóvel e necessita de 5 a 10% de CO<sub>2</sub> para bom crescimento. Cresce bem em ágar sangue e não cresce em McConkey, é oxidase positiva, catalase negativa, cresce no TSI, mas não altera o meio. As características mais importantes da ORT que a diferencia de outras bactérias Gram-negativas são: a forma pleomórfica no Gram, não crescimento em McConkey e o crescimento em TSI sem alteração do meio. Existe mais de uma dezena de sorotipos identificados e estes estão designados por letras, A, B, C e assim por diante. O sorotipo A é o prevalente em perus e galinhas. O primeiro isolamento da ORT ocorreu na Alemanha em 1981, mas não foi caracterizado imediatamente.

## Patogênese e epidemiologia

A via principal de infecção parece ser respiratória, sendo que a multiplicação da OTR inicia nas vias aéreas superiores, traquéia e atinge o pulmão e a corrente sanguínea. A ocorrência espontânea de ornitobacteriose foi verificada apenas em galinhas e perus. Existem evidências de que a ORT se transmite verticalmente, porém falta comprovação definitiva. Há citações da ocorrência de problemas locomotores após a infecção por ORT, porém este parece ser um achado esporádico. A ORT foi recuperada também esporadicamente do cérebro, embora encefalite não pareça ser parte do quadro clínico. A ocorrência de septicemia foi demonstrada pelo isolamento da bactéria do fígado, baço, coração, articulações e ossos. A infecção em aves jovens tende a ser menos severa do que em aves adultas ou próximas da idade de abate. A morbidade é baixa e a mortalidade dificilmente ultrapassa a 10%. Em infecção experimental, três a cinco dias após o desafio foi detectado anticorpos circulantes pela sorroaglutinação rápida (SAR) e pelo teste imunoenzimático (ELISA). Existe reação cruzada entre alguns sorotipos, mas não com o sorotipo C.

## Sinais clínicos e lesões

Os sinais clínicos de ornitobacteriose variam de um quadro respiratório muito brando a severo com mortalidade. Pode-se observar espirros, sinusite, tosse, descarga nasal, dificuldade para respirar e mortalidade. Perus adultos, principalmente matrizes, podem eliminar sangue pela boca, resultado de lesão pulmonar. Matrizes de galinhas e perus em produção podem apresentar queda de postura, geralmente discreta e temporária. Perus jovens com um quadro agudo podem apresentar redução do consumo de ração com interferência no ganho de peso. Infecção experimental em perus adultos causou perda de peso durante cinco dias, período que perduraram os sinais clínicos. É comum encontrar infecção por ORT após as aves sofrerem estresse ou infecção por outro agente patogênico. Por outro lado, há lotes que apresentam soro-conversão para ORT e não manifestaram qualquer sinal clínico.

As lesões do trato respiratório podem variar de brandas a severas. Pode-se observar sinusite, traqueíte, aerossaculite e consolidação uni ou bilateral dos pulmões. A consolidação dos pulmões,

quando ocorre, é a lesão mais proeminente. Lesões hemorrágicas também podem ocorrer nos pulmões com eliminação de sangue pela traquéia e boca. O aparelho locomotor ocasionalmente pode ser acometido com manifestação de artrite, tendinite e sinovite. A severidade das lesões pode ser agravada pela presença de outros patógenos, imunossupressão e por estresse.

## Diagnóstico

A manifestação de sinais clínicos respiratórios, acompanhados de pneumonia com consolidação dos pulmões, é sugestivo de ornitobacteriose. Em matrizes pode haver queda de produção. O diagnóstico definitivo é feito pelo isolamento da ORT. Amostras para isolamento podem ser obtidas da fenda palatina, traquéia, pulmões, fígado e sacos aéreos, sendo traquéia e pulmões os mais apropriados. As amostras devem ser inoculadas em ágar sangue e incubadas a 41°C por 48 horas na presença de 5 a 10% de CO<sub>2</sub>. As colônias de ORT são pequenas, redondas e opacas. Estas devem ser confirmadas por provas bioquímicas adicionais ou pela sorologia com anti-soros específicos para ORT. A adição de 5 a 10 microgramas de gentamicina por mililitro de ágar sangue inibe contaminantes secundários e pode facilitar o isolamento de ORT em caso de culturas contaminadas.

A presença da infecção por ORT também pode ser confirmada pela detecção de anticorpos via teste de ELISA, precipitação em ágar gel (AGP) e SAR. A presença de anticorpos maternos foi demonstrada em pintos e perus de um dia. A determinação do sorotipo da ORT isolado pode facilitar a avaliação epidemiológica do surto. Deve ser feito diagnóstico diferencial de bordeteliose, micoplasmose e principalmente de cólera aviária.

## Controle, tratamento e prevenção

Para controle, o tratamento da ornitobacteriose com tetraciclina, cloranfenicol, penicilina e ceftiofur mostrou bons resultados na maioria das vezes. Amostras européias de ORT foram resistentes à gentamicina, ampicilina, neomicina e sulfá-trimetoprim.

A prevenção é feita fundamentalmente pelas boas práticas de manejo, isolamento e biossegurança. Ainda não existe no mercado vacina que possa ser usada no controle efetivo desta doença.

## Doenças parasitárias

### Coccidiose

A coccidiose em perus é causada por várias espécies do gênero *Eimeria*. Sete delas têm sido reconhecidas, quatro são consideradas patogênicas: *Eimeria adenoides*, *Eimeria meleagritidis*, *Eimeria gallopavonis* e *Eimeria dispersa* e três são consideradas não patogênicas: *Eimeria meleagridis*, *Eimeria subrotunda* e *Eimeria innocua*. A coccidiose em perus causa perdas econômicas, mas não muito significativas. O controle geralmente é feito pelo uso de anticoccidianos e de vacinas. A seguir uma descrição das principais *Eimeria* em perus por região intestinal.

### Terço anterior e terço médio

A *E. meleagridis* causa congestão, petéquias, dilatação e descamação, principalmente da mucosa do jejuno e em menor grau do duodeno. As fezes ocasionalmente podem conter restos de mucosa necrosada e sangue. Também pode ocorrer desidratação, perda de peso e mortalidade. A *E. subrotunda* e *E. innocua* são consideradas não patogênicas e podem ser encontradas no duodeno e jejuno.

### Terço médio

A *E. dispersa* produz dilatação do intestino e eliminação de fezes mucóides de cor amarelada. A serosa do intestino pode apresentar coloração cremosa. As lesões estão localizadas principalmente no intestino médio, mas podem ser encontradas do duodeno até o ceco. Esta espécie é considerada de baixa patogenicidade, mas pode causar redução de ganho de peso e diarreia em perus jovens. Há evidências de que o hospedeiro natural desta espécie é a codorna. Esta é a única *Eimeria* que é capaz de infectar mais de uma espécie de ave.

### Terço posterior

A *E. gallopavonis* causa edema da mucosa e ulcerações no íleo e ocasionalmente atinge o ceco. As fezes podem apresentar duas a seis semanas de idade. A *E. adenoides* provoca edema no ceco e acúmulo de material necrótico que pode tornar-se endurecido. As fezes podem estar liqüefeitas. As lesões geralmente se localizam no ceco, mas também podem atingir o reto e o íleo. A *E. adenoides* é considerada a espécie mais patogênica para os perus. A infecção em perus jovens pode provocar alta mortalidade, e infecção em perus em crescimento pode causar redução no ganho de peso.

## Histomoníase

### Introdução

Histomoníase é uma doença causada por um protozoário que provoca lesões necróticas no ceco e no fígado, resultando em emaciação da carcaça e morte. Também é denominada enterohepatite; inicialmente foi chamada de black head (cabeça negra). Ocorre naturalmente em galinhas, codornas, faisões, galinha d'angola e outros galináceos, porém os perus são os hospedeiros mais susceptíveis aos histomonas e sofrem as maiores conseqüências da doença. A histomoníase em perus e galinhas está presente em diferentes partes do mundo, inclusive no Brasil.

### Etiologia

O agente etiológico da histomoníase é o protozoário *Histomonas meleagridis*. Outras enterobactérias, como *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* agem sinergicamente para agravar a doença. Todas as amostras de *H. meleagridis* são consideradas patogênicas e pertencem a um único sorotipo. Outro protozoário, *Histomonas wenrichi*, pode ser isolado do ceco, mas não é patógeno primário. O *H. meleagridis* é facilmente destruído por desinfetantes e tem curta sobrevivência no ambiente, a menos que esteja protegido da dessecação. A histomoníase bastante antiga foi descrita pela primeira vez em 1895.

## Patogênese e epidemiologia

O *H. meleagridis* pode ser transmitido diretamente por ingestão de material fecal contaminado ou por ingestão de ovos do helminto *Heterakis gallinarum* contendo o protozoário. Chegando ao intestino o parasita se multiplica na mucosa intestinal e através da circulação chega ao fígado e outros órgãos. Na célula, o protozoário se multiplica no citoplasma e causa degeneração e necrose dos tecidos. No intestino, o *H. meleagridis* é pleomórfico e apresenta flagelos, no entanto, quando invade o tecido, perde o flagelo e assume a forma arredondada. Embora haja evidências de que o *Heterakis gallinarum* tenha função de hospedeiro intermediário, muitos surtos de histomoníase ocorrem na ausência deste helminto. A histomoníase ocorre em locais secos, em locais de solo arenoso e onde não existem insetos. Acredita-se que em algumas ocasiões, artrópodes como moscas, cascudinhos, gafanhotos e grilos possam atuar como vetores mecânicos. O *Histomona meleagridis* se aloja nos ovos do *Heterakis gallinarum*, cuja estrutura protege o protozoário na passagem pela moela e proventrículo.

Por um período, a histomoníase limitou a expansão da indústria de perus nos EUA. Com o advento da medicação, a doença foi controlada. Hoje toda a criação de galinhas e perus é confinada, isso tem diminuído significativamente a incidência desta doença. O *H. meleagridis* é adquirido no ambiente e não há evidência de transmissão vertical.

## Sinais clínicos e lesões

Os sinais clínicos geralmente aparecem entre a primeira e a segunda semana depois da infecção. As aves mostram-se apáticas, asas caídas e, no início, eliminam fezes amareladas. A cianose pode estar presente ou não. Ocorre redução no consumo de ração e com o progresso da doença as aves ficam caquéticas. Em perus jovens a morbidade e a mortalidade podem exceder de 50%. As aves adultas são mais resistentes à manifestação clínica e à mortalidade. Frangos não eliminam fezes amareladas, mas podem excretar fezes com sangue. A histomoníase em galinhas é menos severa do que em perus e geralmente se associa aos quadros de imunodeficiências. Ocasionalmente se pode confundir os sintomas e sinais clínicos com surto de coccidiose ou *clostridiose*.

As lesões primárias da histomoníase se desenvolvem no fígado e no ceco. No fígado, os focos de necrose apresentam depressão central e bordos de contorno irregular. A coloração é variável de amarelo-cinza a verde-avermelhado. O ceco apresenta no início, mucosa hemorrágica e edemaciada, seguido de descamação epitelial e acúmulo de tecido necrótico ou caseoso no lúmen. Pode ocorrer formação de úlceras profunda na parede intestinal. Eventualmente se pode notar áreas de necrose nos rins, pulmões, baço e mesentério. A presença simultânea de lesões em forma de placas necróticas arredondadas com depressão central no fígado e material caseoso amarelo-esbranquiçado ocupando toda a luz do ceco, pode ser considerada como patognomônico de histomoníase. Em codornas, as lesões típicas de intestino e fígado podem não estar presentes, mas a mortalidade pode ser elevada.

Microscopicamente o *H. meleagridis* é visualizado nas paredes do ceco e nos focos de necrose do fígado.

## Diagnóstico

Para fins de diagnóstico deve ser considerado o histórico do lote, sinais clínicos e lesões de necrose principalmente do fígado e intestino, que são considerados por muitos como patognômicas. A confirmação pode ser feita pela visualização microscópica do protozoário em raspado da mucosa do ceco ou das lesões do fígado. Este deve ser realizado em aves sacrificadas ou mortas recentemente, caso contrário o protozoário morre e torna-se muito difícil de ser visualizado. A histopatologia é muito útil na confirmação do diagnóstico: lesões de necrose coagulativa com severa reação granulomatosa e a presença dos protozoários de forma arredondada confirmam a lesão de hepatite por histomonas. O *H. meleagridis* também pode ser cultivado *in vitro* a partir das lesões de fígado ou do intestino.

## Controle, tratamento e prevenção

Aves com histomoníase podem ser tratadas com drogas como furazolidona e dimetridazole administradas via água ou ração. Esta última é mais eficiente. Outras drogas como carbazone, ipronidazole e nitarsona também podem ser usadas. Atualmente, na maioria dos países estes medicamentos já estão banidos para uso na avicultura. O tratamento, quando possível, deve ser pelo mínimo de cinco a sete dias e quanto mais cedo for iniciado, maiores são as chances de controlar o surto. Pode haver reincidência da doença logo após o término do tratamento. Para controle de alguns surtos é necessário manter a ração medicada por longo tempo. No Brasil não existe medicação aprovada para controle e tratamento de histomoníase.

Onde não há restrição para medicação preventiva, esta pode ser usada via ração. É importante evitar a criação de diferentes espécies de aves no mesmo ambiente e caso haja infestação por helmintos fazer controle sistemático destes. Também, controlar insetos ao redor do ambiente criatório e proporcionar bom ambiente e boa biosseguridade. A mudança do sistema de criação de perus de ambiente semi-aberto para o sistema totalmente confinado contribuiu para a redução de histomoníase nesta espécie. Não existe vacina efetiva para histomoníase.

## Miscelânea

### Ruptura aórtica

Como o próprio nome diz, a ruptura aórtica (RA) é uma patologia que ocorre em perus caracterizada pela ruptura ou dilaceração da artéria principal, a aorta. A etiologia deste quadro não é conhecida. Dietas com altos níveis de proteína e gordura aumentaram a incidência de RA. Quando esta ocorre, a morte sobrevém subitamente. A mortalidade nos lotes acometidos é baixa, varia de 0.5 e 2%, raramente é superior a 5%. Ocorre principalmente em machos a partir de 10 semanas até a idade de abate.

### Diagnóstico

O diagnóstico da RA é relativamente fácil e baseia-se fundamentalmente na avaliação macroscópica. Pelo fato de haver a ruptura da aorta, se observa grande acúmulo de sangue na cavidade abdominal, principalmente ao redor dos rins. A cabeça, pele e musculatura do peito se apresentam anêmicos e ocasionalmente pode haver sangue na cavidade oral. Frequentemente a ruptura da aorta ocorre no sentido longitudinal, entre as artérias ilíaca externa e ciática. Nesta

região a aorta está dilatada e com elasticidade diminuída. Pela histopatologia se observa reações degenerativas na túnica íntima com presença de heterófilos e macrófagos. Ocorre um espessamento e formação de placas com acúmulo de gordura na área da ruptura. Até o momento, este quadro foi observado apenas em perus.

### Controle e tratamento

Não há tratamento para esta patologia. É possível reduzir a incidência evitando estresse, principalmente de movimentação brusca das aves e mantendo dietas com níveis adequados de proteína e gordura.

## Síndrome da morte súbita em perus

A síndrome da morte súbita em perus (SMSP) é uma patologia que se caracteriza pela morte súbita da ave com congestão generalizada dos órgãos viscerais. A causa desta síndrome não está claramente identificada. Acredita-se que a hipertrofia do ventrículo esquerdo reduz o fluxo sanguíneo coronário, criando uma instabilidade hemodinâmica que resulta em congestão generalizada e morte súbita. Ocorre em perus a partir da oitava semana até a idade de abate. Aves de crescimento mais rápido são as mais acometidas e tem sido observada praticamente só em machos. Esta síndrome também pode estar associada com hemorragia perirenal.

### Diagnóstico

O diagnóstico clínico é importante e se baseia na ocorrência de morte súbita e congestão generalizada dos órgãos viscerais em perus de mais

de oito semanas. Aves mortas têm bom estado de desenvolvimento, apresentam alimento no papo e no resto do trato digestivo. O pulmão pode estar congesto e adematoso. O baço e o fígado também estão congestos e no rim se pode observar hemorragia localizada ou generalizada. A mortalidade é variável, mas dificilmente ultrapassa 5%.

Através da seleção genética, nutrição, sanidade e manejo, a indústria desenvolveu perus com grande massa muscular e com crescimento muito rápido e isto possivelmente tem favorecido a ocorrência de SMSP. Muitos casos são observados durante o período de rápido crescimento ou após estresse devido ao aumento de atividades.

### Controle e tratamento

Não há medidas de tratamento consideradas efetivas. Recomenda-se evitar estresses como os de movimentação brusca e limitar crescimento muito rápido.

## Síndrome do coração redondo

Síndrome do coração redondo (SCR) é uma patologia cardíaca que acomete perus e se caracteriza por dilatação dos ventrículos que levam à falha cardíaca e morte. Ocorre principalmente em aves jovens, perus de uma a quatro semanas são os mais susceptíveis. A etiologia desta cardiomiopatia



não é conhecida. Doses elevadas de furazolidone causam lesões no miocárdio que resulta num quadro similar ao observado na SCR. Redução de oxigênio no final da incubação também pode resultar em cardiomiopatia. Maior incidência da SCR foi observada em climas frios e em altitudes elevadas. Reduzindo o ganho de peso diário via manejo de

luz ou regime alimentar foi possível reduzir a incidência do SCR. É possível que o aumento da necessidade de oxigênio associado com o rápido crescimento e o frio possam aumentar a incidência de SCR. A pré-disposição genética foi levantada como causa, mas parece não haver diferença de incidência entre as linhagens conhecidas. Também foi visualizado um vírus no miocárdio, mas falta demonstrar a sua correlação como causa da SCR. A mortalidade geralmente é baixa, fica entre 0,5 e 2%, ocasionalmente pode chegar a 10%. Na maioria dos casos as aves com SCR são encontradas mortas.

## Diagnóstico

O diagnóstico desta patologia é feito principalmente com base no histórico do lote, idade das aves e achados de necropsia. A lesão principal observada na necropsia é a dilatação dos ventrículos, resultando no coração de forma arredondada. Com frequência o ventrículo direito está mais dilatado do que o esquerdo. Pode acompanhar ascite, hidropericárdio, edema pulmonar e congestão de órgãos viscerais. As alterações microscópicas não são específicas e incluem congestão dos órgãos viscerais, degeneração das fibras do miocárdio com infiltração linfocitária local e vacuolização hepática. Estas lesões histopatológicas, por não serem específicas, são mais úteis para descartar outras patologias do que para confirmar SCR.

Aves que sobrevivem por algum tempo apresentam crescimento retardado, penas eriçadas, dificuldade respiratória e eventualmente morrem. A morte pode ser por falha cardíaca ou por edema pulmonar.

## Controle e tratamento

Como não é conhecida a causa, torna-se difícil estabelecer medidas para tratamento ou controle. Recomendam-se boas práticas de manejo, adequado suprimento de oxigênio no incubatório e no transporte das aves, cuidados com compostos tóxicos como excesso de nitrofuranos.

O termo SCR descrito aqui em perus, foi usado inicialmente para descrever uma cardiopatia em galinhas. Para evitar confusões, foi sugerido usar o termo cardiomiopatia espontânea dos perus e manter a SCR para o quadro das galinhas. Esta sugestão não está sendo seguida provavelmente pela baixa frequência desta síndrome em galinhas. A SCR nas galinhas é caracterizado também por uma degeneração do miocárdio resultando na dilatação dos dois ventrículos. Ocorre morte súbita e na histopatologia se observa infiltração de gordura no miocárdio. A etiologia não é conhecida e na literatura internacional não foram descritos novos casos do SCR das galinhas por mais de 20 anos.

## Síndrome entérica e mortalidade dos perus

A síndrome entérica e mortalidade dos perus (SEMP) é um quadro relativamente novo, surgiu no início dos anos 90 na costa leste dos EUA. Caracteriza-se por um pico de mortalidade, diarreia

intensa, desidratação, perda de peso, anorexia e imunossupressão. Ocorre principalmente em perus jovens, entre 7 a 28 dias. Nos casos mais severos a mortalidade aparece em forma de pico, nos casos mais brandos a mortalidade é menor e mais distribuída, se estendendo por mais de uma semana

## Diagnóstico

Pelo fato da etiologia ainda não estar definida, o diagnóstico é apenas clínico e se baseia nos sinais, lesões e alta mortalidade. Vários microorganismos foram isolados das aves apresentando a doença. Os principais foram: Coronavírus, Birnavírus, Rotavírus, Adenovírus, *Salmonella*, *E.coli*, *Campylobacter*, Bacterioides, Clostridium, Criptosporidium, Cochlosoma e Candida. A maioria destes organismos são apenas contaminantes secundários ou agentes que causam doenças já conhecida. A doença é facilmente reproduzida pela inoculação oral de conteúdo do intestino de aves doentes. Após algumas passagens, a mortalidade pode atingir mais de 50%. Um Coronavírus foi isolado das fezes de aves doentes e quando inoculado em peruzinhos produziu a maioria dos sintomas da síndrome, inclusive a mortalidade. Um segundo vírus também foi isolado do material fecal de aves doentes. Este ainda não foi classificado, mas sabe-se que mede menos do que 50nm. Quando inoculado em peruzinhos também produz diarreia, crescimento retardado e mortalidade. A inoculação deste vírus juntamente com o Coronavírus causou mortalidade, depressão do crescimento e diarreia ainda mais severa, assemelhando-se com os casos clínicos de campo da SEMP. É bem provável que a associação de mais de um agente, incluindo o Coronavírus sejam os responsáveis por esta síndrome. A análise genética deste Coronavírus revela diferenças quando comparado com o Coronavírus que causa a enterite dos perus por Coronavírus, descrita no capítulo das doenças virais.

Foi isolado um Coronavírus de fezes de bovinos próximo de granjas onde estava ocorrendo SEMP. Quando este vírus foi inoculado em perus jovens causou diarreia e mortalidade, mas não tão severas como nos caso de campo de SEMP.

Inicialmente esta síndrome foi descrita com vários nomes, tais como: mortalidade excessiva, síndrome de picos de mortalidade, síndrome do crescimento retardado e enterite complexa dos perus. Com o decorrer do tempo foi reconhecido que se tratava do mesmo quadro e passou a ser denominado de síndrome entérica e mortalidade dos perus (SEMP), cuja sigla em inglês é PEMS (poultry enteritis mortality syndrome).

## Controle e tratamento

Esta síndrome causou mortalidade de milhões de perus e só foi controlada quando medidas de biosseguridade com ênfase no isolamento, limpeza e desinfecção foram cuidadosamente aplicadas. Em alguns casos, o uso de antibióticos de largo espectro reduziu a mortalidade e a severidade da doença. O estado da Carolina do Norte foi o mais severamente atingido pela SEMP nos EUA. Quando a doença

atingiu o pico em 1996, houve uma redução da produção anual de perus de aproximadamente um terço (63 milhões para 43 milhões). Um quadro bastante similar a SEMP foi observado em perus no Brasil, porém com uma severidade geral menor do que a observada nos EUA. É possível que a menor população de perus e os melhores cuidados de biosseguridade tenham amenizado a

severidade desta síndrome no Brasil.

## Bibliografia

Back A. Manual de doenças de aves. Cascavel: Editora Coluna do Saber; 2002.

Jordan FTW, Pattison M. Poultry diseases. 4th ed. London: W. B. Saunders Company; 1996.

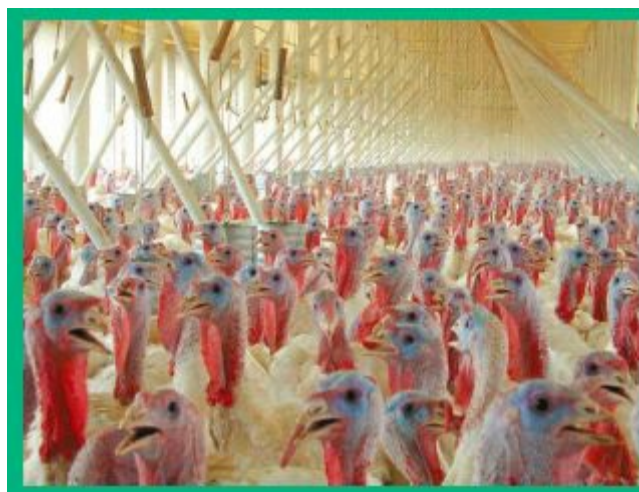
Koerich PKV. *et al.* Aves: guia de coleta e envio de material para diagnóstico laboratorial. Xanxerê: News Print Gráfica e Editora Ltda; 2007.

Riedell C. Avian histopathology. 2nd ed. Pennsylvania: American Association of Avian Pathologists; 1996.

Saif YM. Diseases of poultry. 11 th ed. Ames: Iowa State Press; 2003.

Swayne DE *et al.* A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 4th ed. Pennsylvania: American Association of Avian Pathologists; 1998.

## Figuras



**Figura 1** - Lote de perus machos saudáveis em idade de abate.



**Figura 2** - Lote de machos matrizes no início da atividade reprodutiva.



**Figura 3** - Ovos apresentando despigmentação e casca fina. Pneumovirose, PMV3 e deficiência nutricional são as causas mais prováveis.



**Figura 4** - Peru comercial apresentando papo pendular (PP).



**Figura 5** - Deformidade óssea angular (varus) - Relacionada com desequilíbrio nutricional e agravada por excesso de lotação.



**Figura 6** - Sinal de bicagem (canibalismo) em perus.



**Figura 7** - Pata esquerda inflamada, provavelmente causada por Staphilococcus.



**Figura 8** - Caso de onfalite com infecção do saco da gema.



**Figura 9** - Peru apresentando sinusite bilateral - Comum em casos de infecção por *Mycoplasma gallisepticum*.



**Figura 10** - Bouba aviária - Forma cutânea com lesões de pústulas e principalmente crostas generalizadas.



**Figura 11** - Histomoníase - Ave apresentando fígado com lesão clássica da doença.



**Figura 12** - Histomoníase - Lesões de necrose no fígado e de espessamento e necrose da parede do ceco, consideradas lesões patognomônicas de histomoníase.



**Figura 13** - Reticuloendoteliase - Matriz mostrando sonolência e depressão. Caso clínico de campo (colaboração - João R. Fabrício).



**Figura 14** - Reticuloendoteliase - Lesões tumorais no fígado. Caso clínico de campo em perus matrizes (colaboração - João R. Fabrício).



**Figura 15** - Pneumovirose - Secreção nasal e ocular, comumente causada por deafoio com Pneumovirus de campo.



**Figura 16** - Síndrome entérico e mortalidade dos perus (PEMS) - Desuniformidade é uma das principais conseqüências desta síndrome.



**Figura 17** - Aspergilose - Infecção pulmonar multi nodular em caso extremamente severo. (foto 1).





**Figura 18** - Aspergilose - Infecção pulmonar multi nodular em caso extremamente severo. (foto 2).

**Doenças infecciosas emergentes e re-emergentes**

**14.1 - Doenças infecciosas emergentes e re-emergentes**

**1083**

*Paulo Lourenço da Silva, Paulo César Martins*

**Doenças infecciosas emergentes e re-emergentes**

<b>Introdução</b>	<b>1083</b>
<b>Classificação e tendências das doenças aviárias mais comuns</b>	<b>1084</b>
<i>Doenças clássicas, bem conhecidas, de ocorrência em situações raras</i>	1084
<i>Doenças reconhecidas de importância econômica na produção avícola</i>	1085
<i>Doenças de múltiplas etiologias</i>	1085
<i>Doenças emergentes e re-emergentes</i>	1086
<i>Introdução de agentes infecciosos em novas áreas</i>	1086
<i>Doenças pandêmicas de notificação obrigatória</i>	1088
<i>Doenças transmitidas por alimentos e outras zoonoses</i>	1088
<i>Doenças "Políticas"</i>	1088
<i>Gerenciamento de saúde em plantéis pequenos, de subsistência</i>	1088
<i>Aperfeiçoamento dos diagnósticos</i>	1089
<b>Origem das doenças emergentes e re-emergentes</b>	<b>1089</b>
<b>Zoonoses emergentes transmitidas por alimentos</b>	<b>1089</b>
<b>Zoonoses emergentes transmitidas pela água</b>	<b>1091</b>
<b>Resistência aos antimicrobianos em patógenos intestinais</b>	<b>1091</b>
<b>Zoonóticos</b>	<b>1091</b>
<b>Preocupação futura na emergência de zoonoses nas américas</b>	<b>1092</b>
<b>Considerações finais</b>	<b>1093</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>1094</b>

# Doenças infecciosas emergentes e re-emergentes

Paulo Lourenço da Silva, Paulo César Martins

## Introdução

A produção industrial de carne de aves tem apresentado um grande crescimento em muitos países, especialmente, nas últimas quatro décadas. Este crescimento tem sido possível por vários fatores, quais sejam, o melhoramento genético das linhagens comerciais, a introdução de novas técnicas de manejo e incubação, o maior controle de doenças infecciosas e parasitárias através da imunização ou práticas de biossegurança, a nutrição adequada, a tecnologia e a mecanização nos processos de produção, além da crescente exigência dos mercados domésticos e internacionais quanto aos requerimentos relacionados ao controle de doenças transmitidas por alimentos, o controle de resíduos e uso de antibióticos, visando a saúde do consumidor final.

As enfermidades infecciosas têm influenciado consideravelmente no curso da história do homem e, segundo todos os indícios, seguirão nesta escala. Nos últimos anos têm sido reveladas várias infecções humanas e animais até então desconhecidas, em média, quase uma nova enfermidade emergente ao ano e delas aproximadamente 75% têm sido zoonóticas (King, 2004). Da mesma forma tem ocorrido a re-emergência de outras enfermidades que haviam sido controladas ao longo dos anos (Garrett, 1994; Schatzmayr, 1997). As zoonoses emergentes são aquelas que aparecem pela primeira vez ou que, já tendo sido descritas anteriormente, apresentam novos padrões de incidência ou alcance geográfico. Um grande número de fatores antropogênicos - sociais, culturais, econômicos e ambientais – exercem um papel fundamental na criação de condições favoráveis para o surgimento destas enfermidades (Murphy, 2002; Goldestein, 2003; Smolinski *et al.*, 2003; Bengis *et al.*, 2004; Brown, 2004; King, 2004; Who, 2004).

A maioria dessas zoonoses emergentes é de origem viral, bastando lembrar a Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), como marcante exemplo de doença emergente e da dengue, como doença re-emergente, para que se avalie a gravidade de semelhantes infecções (Wilson *et al.*, 1994; Morse, 1995; Morse, 2004). Episódios recentes deste tipo de enfermidade são anunciados e distribuídos não somente em países em desenvolvimento, onde as condições de saúde pública e saúde animal são ainda precárias. Países desenvolvidos também têm experimentado casos e surtos deste grupo de enfermidades. Muitas das zoonoses são anunciadas e mantidas em destaque pela mídia: Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) na Europa e Canadá; Influenza Aviária na Ásia, África, Europa central e a Dengue em países tropicais. Outras zoonoses, entretanto, não recebem o mesmo destaque da grande mídia: leishmaniose cutânea zoonótica no Brasil, febre do Rift Valley e vírus Ebola na África e Península Arábica, febre hemorrágica da Criméia e Congo no Oriente Médio, febre do Nilo Ocidental e varíola dos macacos nos EUA. Algumas zoonoses, entretanto, ocorrem nos humanos sem que se conheça sua real origem. A AIDS, enfermidade que anualmente mata milhares de humanos teve suas origens, provavelmente, no consumo contumaz de primatas

como alimento na África. A SARS (severe acute respiratory syndrome), que em 2003 ceifou a vida de quase mil pessoas, teve sua origem também no consumo de animais selvagens, incluindo pequenos carnívoros e morcegos frugívoros na Ásia. Diante de um aumento explosivo de fatores e determinantes de risco de doença emergente, as autoridades de saúde pública e saúde animal têm que se preparar para enfrentar este grupo de enfermidades – mais de 200 zoonoses – que necessitam de pesquisa, diagnóstico, prevenção, programas de vigilância e contingência (Morse, 1995; Murphy, 2002; Goldestein, 2003; Smolinski *et al.*, 2003; Bengis *et al.*, 2004; Brown, 2004; King, 2004; Morse, 2004; Who, 2004; Friend, 2006).

Cleaveland *et al.* (2001) catalogaram e categorizaram todos os patógenos com capacidade de passar de uma espécie para outra, conhecidos de humanos, rebanhos de animais domésticos e carnívoros domésticos. De 1415 patógenos humanos, 61,6% têm sua origem no reservatório animal. Um total de 616 patógenos foram identificados nos animais utilizados na produção de alimentos, sendo 77,3% considerados capazes de infectar múltiplas espécies. Para os carnívoros domésticos foram catalogados 374 patógenos, sendo que 90% foram classificados de múltiplas espécies.

O problema das doenças emergentes e re-emergentes é complexo, porém pode-se reconhecer que, em sua maioria, essas doenças são desencadeadas por atividades humanas que modificam o ecossistema, em especial, pela pressão demográfica. A necessidade de vetores para a transmissão de várias das viroses emergentes e re-emergentes introduz fatores ecológicos de importância na discussão que se efetiva, principalmente nos países de clima tropical (Bengis *et al.*, 2004; Brown, 2004; Who, 2004; Morse, 2004; Friend, 2006). Mecanismos de mutação e recombinação genéticas – em particular, dos vírus RNA – são conhecidos de longa data como forma de geração de novos padrões genômicos (Wilson *et al.*, 1994; Schatzmayr, 2001; Friend, 2006).

Para responder às infecções emergentes e re-emergentes, é necessário entender as interações entre os patógenos microbianos e seus hospedeiros, e o impacto de fatores sociais e ambientais sobre estas interações. A importância da compreensão destas interações patógeno-hospedeiro é destacada pelo surgimento, por exemplo, do vírus da influenza aviária de alta patogenicidade - H5N1 - e sua transmissão a seres humanos, e para a ameaça potencial de uma pandemia (Fauci, 2006; Friend, 2006).

Este capítulo tem a intenção de apresentar informações resumidas sobre a notável convergência entre a saúde pública e a saúde animal, dado à crescente inquietude que suscita o fenômeno das doenças emergentes e re-emergentes, e que isto possa servir de alerta e estímulo para nossas autoridades a adotar decisões estratégicas e preparar melhor os serviços de saúde pública e saúde animal em nosso país, através de incentivo à pesquisa, de implantação de laboratórios de diagnóstico e de referência - regionais, estaduais e federais - na elaboração de programas de prevenção, vigilância, contingência e adoção de rigorosas medidas de biossegurança no sistema de produção animal. Paralelamente, a saúde dos portos, a vigilância eficaz de fronteiras (secas, marítimas e fluviais) e o controle absoluto dos resíduos dos transportes internacionais têm que se adaptar aos mesmos padrões rigorosos, sofisticados e eficazes de controle sanitário da produção animal industrial.

## **Classificação e tendências das doenças aviárias mais comuns**

## Doenças clássicas, bem conhecidas, de ocorrência em situações raras

Durante os últimos anos tem-se observado mudanças na intensidade da virulência do agente da coriza infecciosa das galinhas (*Haemophilus paragallinarum*, o qual foi recentemente reclassificado taxonomicamente em *Avibacterium paragallinarum*). Um exemplo recente foi um surto de CI reportado em 2002, na Califórnia nos EUA, em uma granja de poedeiras leves de idades múltiplas, com mortalidade de 48% e uma queda na produção de ovos de 75%, em três semanas de curso da doença, com isolamento do *Avibacterium paragallinarum* em cultivo puro (Bland *et al.*, 2002; Márquez, 2007). Desde 1993 e em 1997 tem sido reportado, na África do Sul, o aparecimento e a emergência de novos isolados de *Avibacterium paragallinarum* (Bragg *et al.*, 1993; Bragg *et al.*, 1997). Existiram suspeitas da presença destes novos isolados na Argentina em 1998 e há grande preocupação da comunidade internacional de investigadores de microrganismos HAP (*Haemophilus*, *Actinobacillus* e *Pasteurella*), com o isolamento destes novos sorotipos no México (Garcia *et al.*, 2004).

Algumas das possíveis causas destas ocorrências de CI são: a densidade crescente da produção avícola, tanto em número de granjas quanto em áreas geográficas específicas, tratamentos indiscriminados com diferentes tipos de antibióticos com doses e em períodos inadequados, a pressão exercida por vacinas inativadas (novos nichos biológicos que são aproveitados e ocupados por novos sorovares ou imunotipos obrigam os laboratórios de biológicos a elaborarem vacinas com cepas pertencentes aos três sorogrupos e mudar periodicamente a formulação, incluindo novos isolados surgidos no campo). Manejos intensivos, granjas de múltiplas idades, programas de limpeza e desinfecção inadequados, entre outros fatores, exercem constantemente uma enorme pressão sobre a população microbiana, o que pode explicar as mutações e ressurgimento de novas cepas bacterianas, e a possibilidade para introdução de doenças conhecidas continuará a aumentar (Márquez, 2005; Márquez, 2007).

Isto poderá ser contrabalançado por implantação de medidas de biossegurança mais rigorosas. O nível do programa de biossegurança será determinado pelo valor da população avícola em risco, além da probabilidade de um surto de doença. Atenção especial deverá ser dada ao treinamento de todas as pessoas relacionadas com a produção avícola e a ênfase deverá ser em conformidade com os procedimentos de biossegurança. As auditorias de medidas de prevenção de doenças tornar-se-ão uma prática corrente na indústria avícola (Vaillancourt, 2002).

## Doenças reconhecidas de importância econômica na produção avícola

A maior parte das perdas econômicas por doenças em plantéis avícolas resulta de falhas das aves em alcançar seu potencial genético, isto é, de morbidade e não de mortalidade. Estas doenças têm sido coletivamente definidas como “doenças do sistema de produção”, que afetam adversamente a produção, a fim de diferenciá-las de doenças clássicas com causas conhecidas. As “doenças do sistema de produção” são de causas complexas, multifatoriais, nas quais os fatores não infecciosos interagem com fatores infecciosos. Os sinais clínicos geralmente não estão presentes, ou são moderados e não são considerados significantes. A mortalidade é nula ou muito baixa e nenhuma patologia específica é observada. Bons exemplos de “doenças do sistema de produção” são o “complexo de enterite de perus jovens” e o “complexo respiratório de frangos de corte”, que afetam muitos lotes comerciais de perus e de frangos de corte e causam prejuízos ao desempenho das aves, particularmente, no crescimento e no consumo de ração. As “doenças do

sistema de produção” e suas capacidades de causar prejuízos são crescentemente reconhecidas e os esforços para reduzir seus impactos econômicos em plantéis avícolas serão incorporados aos programas de saúde das aves (Celeiros *et al.*, 2000; Friend, 2006).

## Doenças de múltiplas etiologias

Poucas doenças resultam unicamente dos efeitos de um único agente. Na maioria dos exemplos há um patógeno primário que inicia o processo de infecção e os microrganismos oportunistas ou fatores não infecciosos que complicam ou intensificam a severidade clínica da infecção. As doenças de etiologias múltiplas exigem, geralmente, dois agentes infecciosos para a ocorrência da doença. Um exemplo é a interação recentemente demonstrada entre o coronavírus de peru (TCV) e a *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC). Nenhum dos organismos resulta em doença séria por si só, mas a infecção concomitante com ambos causa refugagem marcante e alta mortalidade. É possível que essas doenças de etiologias múltiplas aumentem sua ocorrência nos próximos anos e que desafiem nossa capacidade em identificá-las e controlá-las (Guy *et al.*, 2000).

Outros relatos demonstram que o metapneumovírus aviário (MPVA), agente viral primário da síndrome da cabeça inchada (SHS – Swollen Head Syndrome) - enfermidade que acomete matrizes de corte, frangos de corte e aves de postura comercial - e da rinotraqueíte dos perus (TRT – Turkey Rhinothraqueitis), está disseminado por todo o mundo, causando grandes perdas econômicas. O MPVA pode estar associado a outras enfermidades respiratórias, causadas por vírus ou bactérias, que acometem aves, tal como a bronquite infecciosa das galinhas, laringotraqueíte, pasteurelose, coriza infecciosa das galinhas, entre outras, sendo que a gravidade dos sinais clínicos está relacionada ao tecido afetado e ao agente, além, é claro, de estar relacionada também ao estado sanitário do lote, condições ambientais e de manejo. Em frangos de corte, freqüentemente os quadros clínicos são agravados pela presença de infecções secundárias causadas principalmente por *E. coli*. Mas em matrizes pesadas não é incomum o envolvimento de *Pasteurella* spp como agente bacteriano secundário, assim como em aves de postura comercial em que o *Avibacterium paragallinarum* seja o agente envolvido (Alexander, 1993; 1997; Haféz, 1993).

Velayudhan *et al.* (2006) reportaram, pela primeira vez, uma infecção experimental de perus com metapneumovírus humano (MPVH), evidenciada por sinais clínicos de quatro a nove dias após exposição, detecção de RNA (MPVH) no seio nasal aos três e cinco dias pós-exposição e lesões histopatológicas nos seios nasais e traquéia. Os autores mostram a necessidade de uma investigação detalhada para a patogenicidade cruzada entre espécies do MPVH e MPVA e a importância destes vírus para saúde humana e animal.

## Doenças emergentes e re-emergentes

Os agentes infecciosos constantemente interagem com seu hospedeiro no processo de adaptação, e um com o outro podem formar novos organismos por transferência de material genético. A infecção concomitante de uma ave com dois vírus semelhantes pode levar à recombinação genética dos mesmos, resultando na formação de um novo vírus. Os vírus variantes também resultam de mutações durante sua replicação. Por exemplo, o índice de mutação em coronavírus é tão alto que é improvável que qualquer das duas partículas de vírus apresente genomas idênticos. A evolução viral é uma realidade diária – não uma teoria (Horzinek, 2000). Felizmente, as



principais variantes genéticas não se desenvolvem em patógenos raros nem variam significativamente do vírus original; no entanto, os poucos que se comportam de forma diferente podem ser a causa de uma doença emergente ou re-emergente. Embora esforços substanciais sejam feitos para desenvolver vacinas para controlar novas doenças, medidas de biossegurança – numa empresa, região ou país –, continuarão a ser o melhor meio de controlá-las. As doenças emergentes e re-emergentes das aves são ameaças constantes que têm impacto na economia da indústria avícola e, portanto, as atividades econômico-sociais rurais, além de reduzir a competitividade global de produtos avícolas. Alguns exemplos das principais doenças de aves que emergiram ou re-emergiram nos últimos 25 anos são: leucose aviária (linfóide e mielóide), metapneumovírus aviário, laringotraqueíte infecciosa das galinhas, influenza aviária, doença de Newcastle, doença infecciosa da bolsa altamente virulenta, variantes do vírus da doença infecciosa da bolsa, doença de Marek altamente virulenta, variantes do vírus da bronquite infecciosa, infecção por *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Salmonella* Enteritidis, anemia infecciosa das galinhas (Horzinek, 2000; Barnes *et al.*, 2000).

Tem sido evidenciado que novas doenças afetando as aves constantemente emergem ou re-emergem num índice de, aproximadamente, uma por ano. Acredita-se que esta tendência continuará e novas ameaças à saúde das aves serão identificadas nos próximos anos. Algumas terão impacto mínimo e podem ser transitórias, enquanto outras desafiarão a capacidade da indústria para permanecer competitiva. A fim de reduzir o impacto destas doenças, a detecção rápida e a imediata adoção de medidas de controle são essenciais (Barnes *et al.*, 2000; Friend, 2006).

Recentemente um vírus E de hepatite aviária (HEV) foi identificado em galinhas com síndrome de hepatite-esplenomegalia (Sunz *et al.*, 2004). O HEV aviário mostrou-se genética e antigenicamente relacionado ao vírus HEV em humanos (Sunz *et al.*, 2004; Billam *et al.*, 2007). Anticorpos HEV aviários também estão prevalentes em galinhas saudáveis. Este estudo indicou que o HEV aviário é enzoótico em plantéis de galinhas e se dissemina na forma subclínica entre as aves (Sunz *et al.*, 2004).

### Introdução de agentes infecciosos em novas áreas

Embora seu impacto inicial não tenha sido em aves domésticas, mas em populações de aves selvagens, cavalos e humanos, a introdução do West Nile Vírus (WNV) nos EUA em 1999 é um exemplo de como um organismo infeccioso pode se espalhar rapidamente, e o impacto que pode ter quando introduzido em uma nova área. Casos humanos de encefalite – causada pelo WNV – foram identificados pela primeira vez nas Américas, na cidade de Nova Iorque. O WNV pode ter sido introduzido a partir de casos humanos ou de aves migratórias, e já foi detectado em 37 espécies de mosquitos, 157 espécies de aves, cavalos, 16 outros mamíferos e jacarés (CDC, 1999; Friend, 2006). Embora mosquitos pareçam ser os principais vetores do WNV, outros ectoparasitas tais como carrapatos, piolhos e pulgas também devem ser investigados como vetores potenciais (Marra *et al.*, 2003; Friend, 2006). O vírus tem se disseminado rapidamente na América do Norte - Estados Unidos, Canadá e México - e está também se direcionando para regiões tropicais, onde atividade viral tem sido registrada nas Ilhas Cayman, Porto Rico, Jamaica, República Dominicana e El Salvador. O vírus tem causado a morte de aves e outros animais, e o impacto nas populações regionais de aves e mamíferos ainda não é bem esclarecido (Marra *et al.*,

2003; Friend, 2006). A presença do WNV nos órgãos reprodutivos das aves sugere que a transmissão vertical pode ser possível (Friend, 2006). A presença do vírus nos rins conduz à excreção cloacal, o que pode levar à infecção cloacal-oral. Transmissão direta de ave para ave tem sido demonstrada em laboratório e pode ser uma importante via de infecção entre as aves. Evidências sugerem que a ingestão de vertebrados e mosquitos infectados pode infectar aves (McLean, 2002; Friend, 2006).

O vírus da doença infecciosa da bolsa, altamente virulento, também é um exemplo da introdução e rápida disseminação do agente em plantéis de frangos de corte e poedeiras em diferentes regiões do Brasil, e uma causa significativa de perda na indústria avícola (Ikuta *et al.*, 2001; De Paula *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2005).

Um aspecto importante em se controlar a introdução de doenças em novas áreas será a parceria entre os serviços veterinários oficiais de saúde animal (Governos Federal, Estadual e Municipal), instituições de ensino, pesquisa e extensão, rede de laboratórios privados credenciados, e a indústria de produtos de origem animal. Nenhum grupo isoladamente tem os recursos necessários para controlar os agentes infecciosos de alta virulência. Sistemas geográficos de informação usados pelos serviços oficiais de saúde animal serão essenciais para determinar onde a doença está ocorrendo e que plantéis estão em maior risco. A rede descentralizada de laboratórios oficiais e credenciados para diagnósticos são essenciais e necessárias para a confirmação rápida da presença de doenças animais. Pesquisas devem focalizar a natureza da doença e como identificar e preveni-la, para o melhor controle da mesma. Os veterinários do sistema de produção e outros responsáveis técnicos para a saúde dos plantéis deverão ser treinados para identificar lotes suspeitos de doenças, estabelecer e monitorar as medidas de controle de doenças, e assegurar a conformidade dos procedimentos de emergência sanitária (Vaillancourt, 2002; King, 2004).

### Doenças que “saltam” de outras espécies

Outra explicação do motivo que leva um agente infeccioso a adquirir novas características em patogenicidade é quando se adapta a um novo hospedeiro. Vários patógenos se disseminam entre diferentes espécies aviárias, e a maioria são vírus, tais como adenovírus aviário tipo 3, vírus da influenza aviária, metapneumovírus aviário e vírus da doença de Newcastle, que comumente infectam aves selvagens, como exemplo as aves aquáticas, com pouca ou nenhuma consequência, e nas aves domésticas causam doença clínica severa (OIE, 2004).

Uma doença digestiva emergente foi identificada em galinha-d'angola na França. Os quadros clínico e patológico da doença foram sugestivos de PEMS (Poult Enteritis Mortality Syndrome). Na análise molecular, todas as aves que apresentaram o quadro foram positivas para astrovírus na prova de RT-PCR, ao contrário das aves aparentemente saudáveis. O resultado foi confirmado por microscopia eletrônica. Os dados sugerem que a galinhad'angola pode ser afetada pela síndrome, associada com astrovírus aviário específico (Guerin *et al.*, 2007).

Agentes infecciosos que se difundem entre mamíferos e aves são menos comuns, embora esteja muito bem reconhecido que o vírus de influenza comum para suínos pode causar queda de produção de ovos e mortalidade em perus e o vírus da influenza aviária pode infectar o homem, ocasionalmente, com resultados fatais (OIE, 2004; Friend, 2006).

Preocupação também tem surgido na Coréia do Sul, onde suínos podem ter se infectado com uma cepa de pesquisas experimentais do vírus da influenza (WSN133), a qual tem ocorrência desconhecida na natureza, assim como seu efeito potencial para a saúde humana, associado com a exposição deste vírus (Normile, 2005; Friend, 2006).

Esta mesma situação ocorre com bactérias, mas não é tão bem reconhecida. Existe uma preocupação em que a produção conjunta de bovinos e de aves na mesma instalação pode levar a uma cepa de *E. coli* O157 adaptada em frangos de corte ou perus, que resultará nas aves se tornarem uma fonte potencial de alto risco de transmissão do agente para os alimentos (OIE, 2004; Friend, 2006). Outro recente evento de doença relatado na China envolve um surto de *Streptococcus suis* que matou 38 humanos e mais de 600 suínos. Este surto desta rara doença bacteriana, e raramente fatal, pode estar relacionado a uma nova forma mais virulenta da bactéria (Normile, 2005; Friend, 2006).

Uma doença emergente muito pouco conhecida que está afetando a indústria de poedeiras comerciais é a Necrose Duodenal Focal (NDF). Amostras do trato gastrintestinal de galinhas foram analisadas usando DGGE e TRFLP e identificou-se um organismo altamente patogênico correlacionado com lesões de NDF e também uma bactéria benéfica que parece ser crítica neste complexo processo de doença (Baltzley e Rehberger, 2007).

### Doenças pandêmicas de notificação obrigatória

As doenças de aves de notificação obrigatória, a doença de Newcastle e os vírus de influenza aviária H5 e H7 de alta patogenicidade e de baixa patogenicidade, têm sido considerados na atualidade, um assunto de grande interesse para a indústria avícola mundial. Surtos esporádicos de doença de Newcastle velogênica, e de influenza aviária altamente patogênica continuarão a ocorrer, principalmente em plantéis de aves domésticas, mas serão relativamente raros em plantéis industriais. Em contraste com sua ocorrência esporádica, suas conseqüências continuarão sendo enormes e a erradicação continuará como a medida de escolha. Diagnósticos moleculares mais sofisticados serão usados em programas de erradicação definidos para se assegurar que uma cepa altamente patogênica não emergirá sob a cobertura de uma vacinação, garantindo aos mercados internacionais que produtos avícolas de áreas onde a doença está sendo controlada por imunização podem ser seguros (OIE, 2004).

### Doenças transmitidas por alimentos e outras zoonoses

Nos últimos anos foi observado uma importante redução dos riscos das aves de criação industrial constituir-se em fontes de doenças transmitidas por alimentos ao homem e os progressos, neste sentido, continuarão durante os próximos anos. No entanto, a sociedade exigirá uma tolerância zero para doenças transmitidas por alimentos, e a ameaça de qualquer contribuição significativa das aves para o aparecimento de doenças em humanos, especialmente se relacionada ao câncer ou para doença potencialmente fatal, repercutirá sobre a indústria de produtos de origem animal (OIE, 2004).

Em 1995, surgiu na Inglaterra uma síndrome de incoordenação motora em bovinos (BSE, “Doença da Vaca Louca”), que evolui para óbito em curto prazo. A entidade é semelhante à doença de Creutzfeldt-Jacob (CJD), ambas causando encefalopatia espongiforme igualmente fatal e

irreversível. A partir de 1996, reconheceu-se a existência de 52 casos humanos de uma nova forma de CJD que atingia população jovem e que foi relacionada ao consumo de carne bovina contaminada. O agente é uma proteína modificada, denominada prion, a qual induz à formação de novas proteínas idênticas a ela e que causam as lesões cerebrais. A doença aparentemente surgiu pelo uso de carne de ovinos na alimentação de bovinos. O impacto da encefalopatia espongiforme bovina tornou o consumidor mais sensível, preocupado e muito mais informado sobre as doenças transmitidas por alimentos (Schatzmayr, 2001; OIE, 2004; Friend, 2006).

## Doenças “Políticas”

Quando política e comércio se tornam envolvidos, a ciência freqüentemente é relegada a uma posição de inferioridade e a importância relativa de uma doença é exatamente relativa. Por exemplo, laringotraqueíte infecciosa e influenza aviária de baixa patogenicidade (exceto H5 e H7) são doenças essencialmente políticas. Estas doenças são importantes somente porque alguns países declararam que são para usá-las como barreiras comerciais. Isto está se tornando mais comum por razões óbvias e é uma tática usada por alguns países (OIE, 2004).

## Gerenciamento de saúde em plantéis pequenos, de subsistência

Os plantéis de subsistência nunca substituirão a produção industrial, mas continuarão aumentando devido ao desenvolvimento da produção orgânica e de fundo de quintal, tanto para pequenos plantéis como para plantéis “comerciais” de pequena escala. Este tipo de produção fornece desafios de saúde animal que, ao longo do tempo, estiveram esquecidos. Pequenos lotes de “fundo de quintal” e de aves caipiras de vida livre, juntamente com mercado de aves vivas, permanecerão como importantes riscos para unidades avícolas industriais, especialmente de aves reprodutoras. Será importante para a indústria avícola comercial reconhecer o direito da existência destes criadores e auxiliá-los a melhorar e manter a saúde de suas aves, com treinamento em boas práticas de manejo e conscientização sobre a saúde animal. Devemos promover o interesse no controle de doenças entre plantéis “não comerciais” no futuro, como um meio de reduzir as fontes de agentes infecciosos para os plantéis avícolas comerciais e industriais (OIE, 2004).

## Aperfeiçoamento dos diagnósticos

Nos últimos anos, experimentamos avanços marcantes em métodos diagnósticos baseados em procedimentos moleculares. Apesar dos avanços em sofisticação e facilidade de uso, o desafio real em provas de diagnóstico continuará a ser o de como interpretar os resultados e usar a informação para tomar decisões inteligentes, e como alcançar e manter a saúde dos plantéis avícolas (OIE, 2004).

## Origem das doenças emergentes e re-emergentes

Segundo Morse (1995), existem três mecanismos para o surgimento dessas infecções, os quais podem eventualmente serem associados: (1) surgimento de um vírus desconhecido pela evolução de uma nova variante viral; (2) introdução, no hospedeiro, de um vírus existente em outra espécie (transposição da barreira de espécie); (3) disseminação de um determinado vírus a partir de uma

pequena população humana ou animal, na qual este vírus surgiu ou em que foi originalmente introduzido.

Diversos vírus – em especial, do grupo RNA – apresentam elevadas taxas de recombinação, reassortment ou mutação, como no caso da influenza, vírus que possui genoma segmentado e é capaz de atingir número significativo de hospedeiros animais. Por estes mecanismos surgem, mediante seleção natural, amostras de maior virulência a partir de grande número de padrões genômicos circulantes (Schatzmayr, 2001; Webster e Hulse, 2004).

O deslocamento de vetores de um continente a outro em poucas horas, por exemplo, por transporte aéreo, bem como o contato direto do homem com áreas remotas, onde existe a possibilidade de ocorrerem agentes até então desconhecidos, são exemplos de como os agentes infecciosos podem se disseminar para diferentes partes do mundo. Igualmente, a importação de animais pode trazer novos agentes de doenças ao contato do homem (OIE, 2004).

Exemplo desse mecanismo ocorreu com o até então desconhecido grupo dos filovírus, os quais foram introduzidos na Alemanha através de macacos importados de Uganda, causando a morte de oito dentre as 31 pessoas que se infectaram pelo contato com os tecidos dos animais usados em pesquisas. Do mesmo grupo, o vírus Ebola causou surtos extensos no Zaire e Sudão em 1976, com cerca de 600 pessoas envolvidas e percentagens de 88% de letalidade, ressurgindo no Zaire em 1995, igualmente com taxa de letalidade em torno de 77%. A entrada de pessoas em nichos ecológicos até então isolados é aceita como a origem dos primeiros casos estudados na epidemia de 1995, no Zaire (Schatzmayr, 2001).

A disseminação do *Aedes aegypti* e da febre amarela no Brasil teve lugar através dos navios que atracavam em portos brasileiros, originando diversas epidemias, tendo sido a primeira delas reportada no século XVI, em Recife. Pelo mesmo mecanismo e, talvez, ainda pelo transporte aéreo, o *Aedes albopictus* espalhou-se do Sudeste Asiático para todo o mundo tropical nos últimos anos, tendo sido reconhecido no Brasil, em 1987, nas proximidades do Rio de Janeiro (Schatzmayr, 2000).

Pelos dados disponíveis, o vírus HIV ter-se ia originado de regiões centrais africanas a partir de amostras de vírus que, circulando entre primatas, foram capazes de passar a barreira de espécie e atingir o homem (Wilson *et al.*, 1994).

A peste suína africana (PSA), até o início do século XX, era uma doença de suínos desconhecida da literatura mundial, embora ocorresse sob a forma sub-clínica na população de javalis e porcos selvagens no continente africano. Com a introdução de suínos domésticos, por parte dos colonizadores europeus, houve contato entre essas populações, criando-se as condições propícias para que o vírus da PSA infectasse os suínos domésticos (Viana, 2004). Em consequência, o coeficiente de letalidade observado foi muito próximo de 100%, conforme demonstraram os experimentos do trabalho clássico de Montgomery (1921), no Quênia. O primeiro registro de PSA em continente americano ocorreu em 1971, em Cuba, tendo sido a doença prontamente erradicada. A suspeita inicial foi atribuída a sobras de alimentos servidos a bordo de aeronaves da Espanha. O histórico da entrada da doença no Brasil se inicia em 1978, em uma propriedade rural em Paracambi, Rio de Janeiro, com alta mortalidade de porcos. A hipótese da entrada da doença no Brasil também foi atribuída a restos de alimentos de aeronaves procedentes do exterior para uma

criação de suínos de Paracambi (Viana, 2004).

## Zoonoses emergentes transmitidas por alimentos

Existe um enorme número e variedade de fontes potenciais de contaminação ao longo da cadeia produtiva de alimentos de origem animal, no entanto, importantes avanços foram conseguidos no século passado, tais como pasteurização, refrigeração e, mais recentemente, melhorias em análise de riscos e programas de controle da qualidade ao longo da cadeia produtiva, e todos eles têm contribuído para a segurança microbiológica da maioria dos alimentos. Todavia, as doenças transmitidas por alimentos persistem como uma causa de morbidade e mortalidade, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004).

As enfermidades diarréicas, provocadas na sua maioria por patógenos transmitidos por alimentos ou água, constituem uma das principais causas de morbidade e mortalidade, particularmente nos países menos desenvolvidos, e são responsáveis pela morte de aproximadamente 1,9 milhões de pessoas a cada ano. Nos países desenvolvidos calcula-se que até um terço da população é afetada a cada ano por doenças microbianas transmitidas por alimentos (Mead *et al.*, 1999; OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004).

Tradicionalmente, os esforços em segurança alimentar têm sido focalizados sobre os patógenos bacterianos toxigênicos, tais como *Staphylococcus*, *Clostridium* e *Bacillus*. No entanto, parece ser fato que novos e importantes problemas têm emergido. *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Toxoplasma gondii* e *Cryptosporidium parvum* têm sido descritos como os cinco dos mais importantes patógenos emergentes transmitidos por alimentos envolvidos na produção animal (OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004).

Presentemente, *Campylobacter* é a principal causa de infecção entérica zoonótica na maioria dos países desenvolvidos, ou em desenvolvimento (Who, 2000). A maioria das infecções humanas, por *Campylobacter*, são classificadas como casos isolados esporádicos ou como parte de pequenos surtos familiares, associados, na maioria das vezes, ao *C. jejuni* (freqüentemente isolado de galinhas) e, em menor grau, ao *C. coli* (freqüente em suínos) (OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004). O *Campylobacter* spp é comumente encontrado no trato digestivo de frangos de corte, reprodutoras pesadas, bovinos, suínos, caprinos, animais e aves silvestres, e em cães (Anon, 2001).

*Cryptosporidium* são parasitas protozoários intestinais excretados nas fezes dos animais como oocistos estáveis. Os oocistos são detectados nas fezes de animais ruminantes e não ruminantes, incluindo animais de fazenda, animais silvestres, animais de companhia e aves. *C. parvum* tem sido identificado como patógeno emergente e um perigo potencial para produtos alimentícios ou reservatórios de água, e os poucos relatos de surtos estão associados ao consumo de água e alimentos contaminados com as fezes de animais portadores (OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004).

A maioria das informações disponíveis sobre a *Escherichia coli* enteropatogênica (EHEC) é relatada para o sorotipo O157:H7. Os reservatórios para EHEC parecem ser principalmente o trato gastrointestinal de bovinos e outros ruminantes. Humanos são infectados primariamente por consumo de alimentos contaminados, tais como produtos com carne moída crua ou mal cozidos

(hambúrguer, salames) e leite cru ou produtos lácteos (iogurte, queijos). Contaminação fecal da água e outros alimentos, como contaminação cruzada durante preparo dos alimentos também podem causar infecção. Há evidências de aumento de surtos associados ao consumo de frutas e vegetais (OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004).

Salmonelose é uma das mais freqüentes doenças transmitidas por alimentos relatadas em todo o mundo, sendo as mais prevalentes *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Heidelberg* (OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004). Desde 1985, tem ocorrido um aumento significativo na incidência de salmonelose em muitos países, envolvendo particularmente a *Salmonella* Enteritidis (SE), originada primariamente no sistema intensivo de produção avícola no final da década de 80 (Rodrigue *et al.*, 1990). Durante a década de 90, a SE se disseminou pela maioria dos sistemas de produção avícola por todo o mundo (Matope *et al.*, 1998). Em alguns países, a incidência de salmonelose tem diminuído devido à implementação de programas de controle da qualidade, incluindo maior conscientização pública de riscos. Em outros países, a incidência de salmonelose continua a aumentar. Outro exemplo de *Salmonella* disseminando na população animal, seguida por correspondente ocorrência de casos humanos, é demonstrado pela multiresistente *Salmonella* sorovar Typhimurium Definitive Type (DT) 104 (OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004).

A toxoplasmose é uma doença altamente prevalente pelo mundo inteiro, com sérias implicações de longo prazo. Causada pelo parasita intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, afeta principalmente o sistema nervoso central e tem como hospedeiro definitivo os gatos, sendo no intestino que o parasita realiza a parte sexuada do ciclo de vida. O parasita é transmitido para um amplo limite de hospedeiros em aves e mamíferos, incluindo humanos. Toxoplasmose congênita ocorre em mulheres um pouco antes ou durante a gestação, levando a sinais fetais, tais como retardo mental, paralisia cerebral, natimorto e aborto espontâneo. As fontes de infecção para humanos, pelo mundo inteiro, variam muito de acordo com a cultura, etnia, localização geográfica e diferenças nos hábitos alimentares (Tenter *et al.*, 2000). A infecção humana se dá primariamente por ingestão de carne crua ou mal cozida, embora a ingestão direta de terra ou água de bebida contaminada com material fecal de gatos pode ser uma via alternativa de infecção (OIE, 2004; Schlundt *et al.*, 2004). Jacobs e Melton (1966) encontraram *T. gondii* em ovários, oviduto e músculo de frangos. Boch *et al.* (1968) isolaram *T. gondii* de cérebro e coração de galinhas na Alemanha. Deste modo, a carne de galinha pode ser considerada como uma fonte de infecção para humanos; embora a infecção no ovário e oviduto seja possível, ovos de galinhas não devem ser considerados como uma fonte de infecção para o homem (Dubey *et al.*, 2005). Estudos têm demonstrado uma alta prevalência da toxoplasmose em galinhas caipiras no Irã, Áustria e Índia, variando entre 33 e 39,5% (Ghorbani *et al.*, 1990; Devada *et al.*, 1998; Dubey *et al.*, 2005; Asgari *et al.*, 2006). Entretanto, as taxas de prevalência detectadas e reportadas em outros países são notadamente inferiores, como 10,3% no Brasil (Garcia *et al.*, 2000), 17% nos Estados Unidos (Dubey *et al.*, 2003) e 26% no Peru (Dubey *et al.*, 2004).

## Zoonoses emergentes transmitidas pela água

As doenças transmitidas pela água nas formas epidêmica e endêmica continuam a ocorrer em países desenvolvidos e em desenvolvimento. A preocupação das doenças transmitidas pela água prevalece pela ação de patógenos transmitidos por via fecal-oral e pela água de bebida. A transmissão pela água também inclui doenças transmitidas por inalação de gotículas fecais (por

exemplo, alguns adenovírus) e exposição por contato (por exemplo, recreativo e ocupacional).

O fenômeno de “emergência” e “re- emergência” de doenças infecciosas, em geral, atualmente é bem conhecido. Até agora 75% dos patógenos emergentes podem ser de origem zoonótica. Um número significativo de patógenos transmitidos pela água emergentes e re-emergentes têm sido identificados nas últimas décadas. Muitos destes patógenos têm origem zoonótica (por exemplo, *E. coli* O157:H7), e outros têm origem humana e zoonótica (por exemplo, *Cryptosporidium*).

Existe um grande número de patógenos potencialmente transmitidos pela água, dentre eles vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos. A sobrevivência de patógenos zoonóticos na água e no ambiente é o fator chave na transmissão de zoonoses transmitidas pela água. Muitos patógenos zoonóticos de preocupação (por exemplo, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella*) podem sobreviver por meses no meio ambiente sob certas condições. Isto aumenta a probabilidade de transmissão pela água. A identificação das fontes e vias de transmissão das infecções zoonóticas transmitidas pela água é essencial para desenvolver e implementar mecanismos de controle adequados.

O vírus da influenza aviária (VIA) foi isolado da água de lagos onde patos se concentram e depositam grandes quantidades de fezes no Canadá, nos Estados Unidos e em Hong Kong. Apesar de não existirem dados quantitativos disponíveis sobre os níveis de vírus H5N1 em água de lagos onde se concentram aves aquáticas, a transmissão do VIA para outros mamíferos, incluindo o homem, via reservatórios ou fontes abertas de água não tratada, não está descartada. Amostras de VIA subtipo H3N6 foram detectadas até 32 dias a 4°C e até 4 dias a 22°C (Who, 2006).

## Resistência aos antimicrobianos em patógenos intestinais

### Zoonóticos

Antibióticos inibem o crescimento bacteriano por interferência com as funções vitais da célula, tal como a síntese de proteína. A cada momento que um antibiótico é usado, ocorre uma pressão seletiva que permite o crescimento de organismos resistentes, pelo fato dos antibióticos destruírem seletivamente ou reduzir a viabilidade apenas de bactéria sensível.

Isto permite às bactérias resistentes proliferar no hospedeiro ou no ambiente. Por meio deste processo de seleção natural, a bactéria resistente torna-se muito rapidamente a variante dominante na população (Levy, 1998). Além do mais, patógenos podem adquirir novos genes de resistência aos antibióticos de outras espécies no meio ambiente (Woolhouse, 2002).

A resistência aos antimicrobianos está aumentando entre muitas cepas de bactérias e constitui um importante desafio para a saúde pública. Nos animais, assim como no homem, o uso de produtos antimicrobianos conduz ao aparecimento e disseminação de bactérias resistentes, que podem ser transmitidas dos animais para os humanos através dos alimentos ou por contato direto, ocasionando infecções resistentes. *Campylobacter* e *Salmonella* são dois exemplos de patógenos transmitidos por alimentos em que se evidencia um aumento de resistência aos antimicrobianos (Angulo *et al.*, 2004, OIE, 2004). Na década passada, por exemplo, ocorreu um aumento por todo o mundo em *Salmonella* Typhimurium fagotipo DT104, comum em bovinos e suínos e, também



frequentemente isolado em humanos com infecções por *Salmonella*. O fagotipo DT104 parece ter aumentado sua virulência, e está adicionalmente associado com resistência múltipla para antibióticos (FVO, 2001).

A crescente prevalência de patógenos resistentes aos antimicrobianos, importantes para tratamento de infecções causadas por microrganismos intestinais, tem produzido repercussões na saúde pública, o que torna fundamental a cooperação de produtores, veterinários, médicos e especialistas em saúde pública para impedir essas resistências, por meio do uso responsável de antibióticos (Angulo *et al.*, 2004; OIE, 2004).

## **Preocupação futura na emergência de zoonoses nas américas**

Uma série de patógenos é responsável por enfermidades de caráter zoonótico: vírus e príons, bactérias, protozoários, helmintos e até fungos e microsporídias. Muitos fatores determinantes podem interagir para a emergência de um novo agente zoonótico ou re-emergência de um agente já conhecido. Dada a complexidade destas interações é quase impossível prever qual, ou quando, um importante agente zoonótico irá aparecer. Por isso, as zoonoses requerem um sistema de prevenção e controle diferente dos agentes de transmissão homem a homem. As medidas de prevenção e controle para uma determinada zoonose geralmente provém de diferentes áreas do conhecimento científico, de pesquisa básica acumulada ao longo de muitos anos (Murphy, 2002).

Outros fatores a serem considerados para a prevenção da entrada de enfermidades com os aspectos de transmissibilidade das doenças emergentes em um país ou região são: controle rígido na importação de produtos alimentícios, controle rígido na entrada de alimentos trazidos por viajantes, controle rígido sobre os alimentos que sobram a bordo de aviões e navios, instalação de um cordão sanitário onde circulam pessoas de um país para o outro, como, por exemplo, a adoção de pedilúvios nos aeroportos, portos e a desinfecção de veículos em fronteiras secas. As medidas de prevenção envolvem um conjunto de ações que têm a finalidade de impedir a saída ou entrada de um patógeno emergente nas propriedades produtoras, como também eliminá-los das regiões ou áreas onde já ocorreram (OIE, 2004).

### **Doenças zoonóticas e agentes de preocupação para as Américas no futuro\*:**

1. Vírus da Febre do Nilo ocidental (América do Sul)
2. Febre amarela
3. SARS
4. Arbovirus importados (vírus da febre do Vale do Rift, vírus do rio Ross)
5. Arenavirose
6. Vírus da Hepatite E de suínos
7. Vírus da Hepatite E das aves
8. Bornavírus
9. Vírus da varíola
10. Febre estreptobacilar do rato
11. Bartonelose
12. Meliodose (*Burkholderia pseudomallei*)
13. Peste bubônica

14. Equinococose (Echinococcus spp.)
15. Doença debilitante crônica
16. Doença de Creutzfeldt-Jakob (variant Creutzfeldt-Jakob disease - vCJD)

### **Doenças zoonóticas que emergiram nas Américas nos últimos anos\*:**

1. Febre do Nilo ocidental
  2. Raiva (morcegos hematófagos)
  3. Encefalites eqüinas: Venezuelana e Oriental
  4. Hantavirose
  5. Arenavirose
  6. Influenza aviária
  7. Varíola dos macacos
  8. Febre amarela
  9. HIV / AIDS
  10. Peste bubônica
  11. Tularemia (Francisella tularensis)
  12. Antraz (Carbúnculo hemático)
  13. Doença de Lyme (Borrelia burgdorferi)
  14. Leptospirose
  15. Brucelose
  16. Tuberculose bovina
  17. Bordeteliose (Bordetella bronchiseptica)
  18. Bartolenose (Bartonella sp)
  19. Salmoneloses associadas a animais de companhia
  20. Clamidiose
  21. Febre Q (Coxiella burnetii)
  22. Tifo (Rickettsia prowazekii)
  23. Anaplasnose
  24. Febre das montanhas rochosas
  25. Febre maculosa (Rickettsia richettsii)
  26. Leishmaniose (cutânea e visceral)
  27. Equinococose / Hidatidose
  28. Doença de Chagas (Trypanosoma cruzi)
  29. Cisticercose
  30. Triquinelose
  31. Criptosporidiose
  32. Giardíase
  33. Toxoplasmose
  34. Baylisascaris procionis
  35. BSE (Encefalopatia Espongiforme Bovina)
  36. Doença de Creutzfeldt-Jakob (variant Creutzfeldt-Jakob disease - vCJD)
  37. Coccidioidomicose
- \*Adaptado Anon (2004)

## Considerações finais

Cada país deve estabelecer redes de vigilância para profissionais que trabalham com animais selvagens, animais domésticos, animais da cadeia de produção de alimentos e profissionais da saúde pública. Todas estas redes devem ser conectadas a um sistema único de base de dados que, no caso das Américas, poderia ser o sistema da Organização Pan-americana de Saúde. Como exemplo, cita-se o sistema de prevenção de enfermidades zoonóticas nos EUA, que envolve mais de 100 laboratórios em 50 estados e inclui profissionais da saúde pública e animal (Anon, 2004). É de fundamental importância aos profissionais da área da saúde reconhecer que os patógenos humanos e animais não são mutuamente excludentes. Eles circulam há milhões de anos em nosso planeta, e vão continuar circulando, exigindo, cada vez mais, a integração dos sistemas de saúde pública e animal nacionais e internacionais.

## Bibliografia

- Alexander DJ. Newcastle disease and other Paramyxoviridae infections. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, editors. Diseases of poultry. 10th ed. Ames (IA): Iowa State University Press; 1997. p.541-69.
- Alexander DJ. Pneumovirus (Turkey Rhinotracheitis and Swollen Head Syndrome of Chickens). In: Mc Ferran JB, McNulty MS, editors. Virus infections of birds. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1993.
- Angulo FJ, Nunnery JA, Bair HD. Antimicrobial resistance in zoonotic enteric pathogens. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2004; 23(2):485-496.
- Asgari Q, Farzaneh A, Kalantari M, Akrami Mohajeri F, Moazeni M, Zarifi M, Esmaeilzadeh B, Motazedian MH. Seroprevalence of free-ranging chicken toxoplasmosis in sub-urban regions of Shiraz, Iran. *International Journal of Poultry Science* 2006; 5(3):262-264, 2006.
- Baltzley TA, Rehberger TG. Focal duodenal necrosis (FDN) an emerging disease affecting the layer industry. Washington: American Association of Avian Pathologists; 2007. p.98.
- Barnes HJ, Guy JS, Vaillancourt JP. Poult enteritis complex. In: Diseases of Poultry: World Trade and Public Health Implications. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2000; 19:565-588.
- Bengis RG, Leighton FA, Fischer JR, Artois M, Mörner T, Tate CM. The role of wildlife in emerging and reemerging zoonoses. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2004; 23(2):497-511.
- Billam P, Sun ZF, Meng XJ. Analysis of the complete genomic sequence of an apparently avirulent strain of avian hepatitis E virus (avian HEV) identified major genetic differences compared with the prototype pathogenic strain of avian HEV. *Journal of General Virology* 2007; 88:1538-1544.
- Bland MP, Bickford A, Charlton BR, Copper GC, Sommer F, Cuttler G. Case report: A severe Infectious Coryza infection in a multi-age layer complex in Central California. *Proceedings 51st*

- Western Poultry Disease Conference, 27th Annual Convention ANECA; 2002 may 1-4; Puerto Vallarta. Mexico. P.56-57.
- Boch J, Janitschke K, Rommel M. Untersuchungen deutscher Hühnerbestände auf latente Toxoplasma-Infektionen. *Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift* 1968; 81:90-91.
- Bragg RR, Coetzee L, Verschoor JA. Plasmid- encoded NAD independence in some South African isolates of *Haemophilus paragallinarum*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 1993; 60:147-152.
- Bragg RR, Greyling JM, Verschoor JA. Isolation and identification of NAD-independent bacteria from chickens with symptoms on infectious coryza. *Avian Pathology* 1997; 26:595-606.
- Brown C. Emerging zoonoses and pathogens of public health significance – an overview. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2004; 23(2):435-442.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: West-Nile viral encephalitis-New York, 1999. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1990; 48:890.
- Cleaveland S, Laurenson MK, Taylor MH. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological* 2001; 356(1411):991-999.
- De Paula MBC, Yokosawa J, Coutinho MDB, Silva PL, Ferraz RA, Oliveira TFM, Queiroz DAO. Identification and molecular characterization of the infectious bursal disease virus (IBDV) from an outbreak in a broiler flock in midwestern BRAZIL. *Brazilian Journal of Microbiology* 2004; 35:52-358.
- Devada K, Anandan R, Dubey JP. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Madras. *Indian Journal Parasitology* 1998; 84:621-622.
- Dubey JP, Edelhofer R, Marcet P, Vianna MCB, Kwok OCH, Lehmann T. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* infections in free-range chickens from Austria. *Veterinary Parasitology* 2005; 133:299-306.
- Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Scree Kumar C, Lehmann T, Davis MF, Morishita TY. *Toxoplasma gondii* isolates from free- ranging chickens from the United States. *Journal of Parasitology* 2003; 89:1060-1062.
- Dubey JP, Levy MZ, Scree Kumar C, Kwok OCH, Shen SK, Dahl E, Thulliez P, Lehmann T. Tissue distribution and molecular characterization of chicken isolates of *Toxoplasma gondii* from Peru. *Journal of Parasitology* 2004; 90:1015-1018.
- Evans AS. Causation and disease: the Henle-Koch postulates revisited. *Yale Journal Biological Medicine* 1978; 49:175- 195.
- Fauci AS. Emerging and re-emerging infectious diseases: influenza as a prototype of the host-pathogen balancing act. *Cell* 2006; 124(4):665-670.

- Friend M. Disease emergence and resurgence: the wildlife-human connection [circular, 1285]. Reston, Va: Geological Survey; 2006. 400 p.
- FVO. Food safety, antibiotic resistance, zoonosis report and more. FVO Magazine. Bern: Swiss Federal Veterinary Office; 2001.
- Garcia AJ, Aangulo E, Blackall PJ, Ortiz A. The presence of Nicotinamide Adenine Dinucleotide-Independent Haemophilus paragallinarum in Mexico. **Avian Diseases** 2004; 48(2):425-430.
- Garrett L. The coming plague. New York: Farrar, Strauss & Giroux; 1994.
- Ghorbani M, Gharavi MJ, Kahnamoui A. Serological and parasitological investigations on toxoplasma infection in domestic fowls in Iran. Iranian Journal Public Health 1990; 19:9-17.
- Goldestein SB. New IOM report on microbial threats borne out by current events. [cited 2007 jan]. Available from: <http://www.infectiousdiseaseneews.com/200304/frameset.asp?article=micro.asp>
- Gomes AD, Abreu JT, Redondo RA, Martins NR, Resende JS, Resende M. Genotyping of infectious bursal disease virus strains by restriction fragment length polymorphism analysis of the VP1, VP2, and VP3 Genes. **Avian Diseases** 2005; 49(4):500-506.
- Guerin JL, Grenier B, Boissieu C, Lacroux C. A “Poult Enteritis Mortality Syndrom” in Guinea fowl: a pathological and etiological study. Washington: American Association of Avian Pathologists; 2007. p.46.
- Guy JS, Smith LG, Breslin JJ, Vaillancourt JP, Barnes HJ. High mortality and growth depression are experimentally produced in young turkeys by dual infection with enteropathogenic *Escherichia coli* and turkey coronavirus. **Avian Diseases** 2000; 44:105-113.
- Hafez HM. The role pneumovirus in the swollen head syndrome of chickens. Archive fuer Gefluegelkunde 1993; 57: 181-185.
- Horzinek MC. Emerging and re-emerging diseases. Proceeding 51st North Central Avian Disease Conference; 2000 oct 8-10; Columbus, OH. p. 1-2.
- Ikuta N, El-Attrache J, Villegas P, Garcia M, Lunge VR, Fonseca ASK, Oliveira C, Marques EK. Molecular characterization of brazilian infectious bursal disease viruses. **Avian Diseases** 2001; 45(2):297-306.
- Jacobs L, Melton ML. Toxoplasmosis in chickens. Journal Parasitology 1966; 52:1158-1162.
- King LJ. Emerging zoonoses and pathogens of public health concerns. Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties 2004; 23(2):429-433.
- Levy SB. The challenge of antibiotic resistance. Scientific American 1998; 278(3):32-39.
- Márquez MA. Evolución e Mutación Bacteriana. Avicultura Profesional 2007; 25(1):25-27.

Márquez MA. Evolución y Mutación Bacteriana, el Caso del Avibacterium (Haemophilus) paragallinarum. XIX Congreso Latinoamericano de Avicultura; 2005 oct. 4-7; Panamá.

Marra PP, Griffing SM, McLean RG. West Nile virus and wildlife health. Emerging Infectious Diseases 2003; 9(7):898-899.

Matope G, Schlundt J, Makaya PV, Aabo S, Baggesen DL. *Salmonella* enteritidis infection in poultry: an emerging zoonosis in Zimbabwe. Zimbabwe Veterinary Journal 1998; 29(4):132-138.

McLean RG. West Nile Virus - a threat to North American avian species. Transactions of the North American Wildlife and Natural Resources Conference 2002; 67:62-74.

Mead PS, Slutsker L, Dietz V, Mccaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe R. Food-related illness and death in the United States. Emerging Infectious Diseases 1999; 5(5):607-625.

Morse SS. Factors and determinants of disease emergence. Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties 2004; 23(2):443-451.

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerging Infectious Diseases 1995; 1(1):7-15.

Murphy FA. A perspective on emerging zoonoses. In: Burroughs T, Knobler S, Lederberg J, editors. The emergence of zoonotic diseases: understanding the impact on animal and human health. [cited 2007 jan.]. Available from: [http://books.nap.edu/openbook.php?record\\_id=0338&page=1](http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=0338&page=1).

Normile D. Who probes deadliness of China's pig-borne disease. Science 2005; 309:1308.

Opitz HM. Infectious coryza outbreak in a large egg layer complex. Proceedings 138th Annual Conv American Veterinary Medical Association; 2001 jul 14-18; Boston, MA. 41p.

Report of the WHO/FAO/OIE joint consultation on emerging zoonotic diseases. Geneva - Switzerland. [cited 2007 jan.]. Available from: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO\\_CDS\\_CPE\\_ZFK\\_2004.9.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_CDS_CPE_ZFK_2004.9.pdf)

Rodrigue DC, Tauxe RV, Rowe B. International increase in *Salmonella* enteritidis: a new pandemic? Epidemiology Infection 1990; 105(1):21-27.

Schatzmayr HG. Dengue situation in Brazil by year 2000. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2000; 95:179-181.

Schatzmayr HG. Emerging and reemerging viral diseases. Cadernos de Saúde Pública 2001; 17(supl):209-213.

Schatzmayr HG. O Brasil diante das doenças emergentes e reemergentes: realidades e perspectivas. In: Marques JC, editor. O Livro da profecia: Brasil no terceiro milênio. Brasília: J. Campelo Marques; 1997. p.303-312.

Schlundt J, Toyofuku H, Jansen J, Herbst SA. Emerging food-borne zoonoses. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2004; 23(2):513-533.

Smolinski MS, Hamburg MA, Lederberg J. editors. Microbial threats to health. Emergence, detection and response. [cited 2007 jan.]. Available from: [http://books.nap.edu/openbook.php?record\\_id=10636&page=R1](http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=10636&page=R1).

Sun ZF, Larsen CT, Dunlop A, Huang FF, Pierson FW, Toth TE, Meng XJ. Genetic identification of avian hepatitis E virus (HEV) from healthy chicken flocks and characterization of the capsid gene of 14 avian HEV isolates from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in different geographical regions of the United States. *Journal General Virology* 2004; 85:693-700.

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animal to human. *International Journal for Parasitology* 2000; 30:1217-58.

Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedstuffs, food, and man in the European Union and Norway in 1999. Part 1. SANCO/1069/2001 of European Commission. Berlin, Germany. 2001. 14p. Vaillancourt JP. Biosecurity now. *Poultry International* 2002; 41:12-18.

Velayudhan BT, Nagaraja KV, Thachil AJ, Shaw DP, Gray GC, Halvorson DA. Human metapneumovirus in turkey poults. *Emerging Infectious Diseases* 2006; 12(12):1853-59.

Viana FC. História e memória da peste suína africana no Brasil, 1978-1984: passos e descompassos [tese]. Belo Horizonte:Universidade Federal de Minas Gerais; 2004.

Webster RG, Hulse DJ. Microbial adaptation and change: Avian Influenza. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2004; 23(2):453-465.

Wilson ME, Levins R, Spielman A. Disease in evolution: global changes and emergence of infectious diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1994; 70:740-747.

Woolhouse ME. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends Microbiology* 2002; 10:3-7.

World Health Organization. Report of the /FAO/OIE joint consultation on emerging zoonotic diseases. Geneva- Switzerland [cited 2007 jan.]. Available from: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO\\_CDS\\_CPE\\_ZFK\\_2004.9.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_CDS_CPE_ZFK_2004.9.pdf)

World Health Organization. Review of latest available evidence on potential transmission of avian influenza (H5N1) through water and sewage and ways to reduce the risks to human health. [cited 2007 jan.]. Available from: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/emerging/h5n1background.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/h5n1background.pdf) 36p.

World Health Organization. The increasing incidence of human *Campylobacteriosis*. Report and Proceedings of WHO consultation of experts; 2000 nov. 21-25; Copenhagen, Denmark.

World Health Organization. Waterborne zoonoses: identification, causes and control. London: IWA; 2004. 528p.

World Organization for Animal Health. Emerging zoonoses and pathogens of public health concern. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 2004; 23(2):419-725.



# Índice

<b>Seção 1 - Biosseguridade e qualidade em criações avícolas</b>	<b>18</b>
1.1 Prevenção de doenças / Manejo profilático /Monitoria	19
1.2 Limpeza e desinfecção de instalações avícolas	46
1.3 Coleta e envio de material para laboratório	82
1.4 Programa de qualidade higiênica na produção avícola	97
<b>Seção 2 - Diagnóstico laboratorial</b>	<b>133</b>
2.1 Diagnóstico microbiológico e sorológico	134
2.2 Diagnóstico molecular	172
2.3 Diagnóstico histopatológico	195
<b>Seção 3 - Doenças por sistema</b>	<b>232</b>
3.1 Anatomia - Fisiologia	233
3.2 Fisiopatologia do sistema locomotor	261
3.3 Fisiopatologia do sistema tegumentar	286
3.4 Fisiopatologia do sistema digestório e anexos	323
3.5 Fisiopatologia do sistema nervoso e dos órgãos dos sentidos em aves domésticas	400
3.6 Fisiopatologia do sistema respiratório	419
3.7 Fisiopatologia do sistema genitourinário	457
3.8 Fisiopatologia do sistema reprodutor	469
3.9 Fisiopatologia do sistema circulatório	568
3.10 Fisiopatologia do sistema imune	579
<b>Seção4 - Enfermidades bacterianas</b>	<b>636</b>
4.1 Salmoneloses	637
4.2 Colibacilose	667
4.3 Estafilococose e Estreptococose	693
4.4 Micoplasmoses	710
4.5 Coriza infecciosa das galinhas, pasteureloses e outras infecções bacterianas relacionadas	735
4.6 Clostridioses	780
4.7 Clamidiose	812
<b>Seção 5 - Enfermidades virais</b>	<b>829</b>
5.1 Enfermidade de Marek, Complexo Leucótico Aviário e Reticuloendoteliose	830
5.2 Doença de Newcastle	855
5.3 Influenza aviária	889
5.4 Bronquite infecciosa das galinhas	915
5.5 Doença infecciosa da bolsa de Fabrício	946
5.6 Adenoviroses, reoviroses, rotaviroses e viroses intestinais	985
5.7 Síndrome da queda de postura - EDS-76	1037
5.8 Boubá aviária	1049

5.9 Anemia infecciosa das galinhas	1064
5.10 Encefalomielite aviária	1102
5.11 Metapneumovírus aviário	1123
5.12 Laringotraqueíte infecciosa das galinhas	1133
<b>Seção 6 - Enfermidades fúngicas</b>	<b>1153</b>
6.1 Enfermidades micóticas	1154
6.2 Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura	1176
<b>Seção 7 - Enfermidades parasitárias</b>	<b>1197</b>
7.1 Coccidiose	1198
7.2 Crisptosporidiose	1230
7.3 Ectoparasitas e outros artrópodes importantes para a indústria avícola brasileira	1240
7.4 Endoparasitoses em aves de produção industrial	1301
<b>Seção 8 - Enfermidades nutricionais</b>	<b>1323</b>
8.1 Enfermidades nutricionais	1324
<b>Seção 9 - Enfermidades nutricionais</b>	<b>1399</b>
9.1 Enfermidades nutricionais	1400
<b>Seção 10 - Enfermidades nutricionais</b>	<b>1443</b>
10.1 Enfermidades tóxicas	1444
<b>Seção 11 - Aspectos da saúde ocupacional relacionados com a avicultura associados a produtos de origem avícola</b>	<b>1470</b>
11.1 Aspectos da saúde ocupacional relacionados com a avicultura associados a produtos de origem avícola	1471
<b>Seção 12 - Agentes de enfermidades de interesse em saúde pública associados a produtos de origem avícola</b>	<b>1489</b>
12.1 Agentes de enfermidades de interesse em saúde pública associados a produtos de origem avícola	1490
<b>Seção 13 - Doenças de perus</b>	<b>1516</b>
13.1 Doenças de perus	1517
<b>Seção 14 - Doenças infecciosas emergentes e re-emergentes</b>	<b>1553</b>
14.1 Doenças infecciosas emergentes e re-emergentes	1554