

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**PRISCILA DE CASTRO ALMEIDA**

**SOROPREVALÊNCIA DOS VÍRUS CAUSADORES DAS PRINCIPAIS  
DOENÇAS IMUNODEPRESSORAS E DA ENCEFALOMIELEITE AVIÁRIA EM  
GALINHAS CAPIRAS NA REGIÃO DE UBERLÂNDIA-MG**

**UBERLÂNDIA – MG**

**2018**

**PRISCILA DE CASTRO ALMEIDA**

**SOROPREVALÊNCIA DOS VÍRUS CAUSADORES DAS PRINCIPAIS  
DOENÇAS IMUNODEPRESSORAS E DA ENCEFALOMIELEITE AVIÁRIA EM  
GALINHAS CAPIRAS NA REGIÃO DE UBERLÂNDIA-MG**

Trabalho apresentado à coordenação do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso

Orientadora: Profa. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca

**UBERLÂNDIA – MG**

**2018**

**PRISCILA DE CASTRO ALMEIDA**

**Soroprevalência dos vírus causadores das principais doenças imunodepressoras e da Encefalomielite Aviária em galinhas caipiras na região de Uberlândia-MG**

Trabalho apresentado à coordenação do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso

Orientadora: Profª. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca

**Banca Examinadora:**

---

Profª. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca – UFU/MG

---

Prof. Dr. Paulo Lourenço Silva – UFU/MG

---

Med. Vet. Marcelo Sebastião Rezende – BRF

**Uberlândia, 09 de julho de 2018**

## **Dedicatória**

*À Deus*

*“Porque vosso Pai sabe o que vos é necessário antes de vós lho pedirdes”*

*Mateus 6:8*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que sempre me protegeu; à Quem nunca me abandonou, à Quem me segurou em Seu colo quando não me senti capaz de caminhar sozinha, à Quem me ensina todos os dias que a vida é mais do que eu espero e me surpreende em cada momento com Seu imenso amor. Obrigado por cuidar de mim, Te amo.

À minha amada família; Mae, Pai, Gilberto, Suzane e Bibi, vocês são a razão de toda minha luta, obrigado por cuidarem de mim, me incentivarem e por sempre estarem ao meu lado. Vocês são a minha força e motivação.

À Luciane Testa; que sem dúvida foi indispensável pro meu crescimento pessoal. Não consigo encontrar argumentos que possam expressar o quão profunda é minha gratidão. Só Deus é capaz de colocar as pessoas certas em nossas vidas para nos ajudar com coisas que as vezes somos incapazes de alcançar sozinhos, não digo que demorei, mas hoje sei que no tempo certo eu entendi que *“o que me feriu, me curou”*. Uma das alegrias da minha vida, é poder dizer que você fez parte disso.

À minha querida orientadora Bia, que sempre acreditou em mim, por todas as oportunidades à mim concedidas, e principalmente pelo apoio e confiança; que foram suficientes para despertar em mim o que estava adormecido. Tenho por você, grande respeito e um carinho imenso, agradeço todo o seu incentivo, cuidado e paciência.

Ao professor Evandro Abreu, um profissional admirável, com quem tive a honra do aprendizado; que me apresentou à avicultura, e despertou em mim a vontade de ampliar meus horizontes.

Ao Camilo, por sua contribuição com o projeto, e por dispor parte do seu tempo para me ensinar, com toda sua paciência e educação.

À equipe LABIO, por todos os ensinamentos, e pelo acolhimento. Me sinto em casa quando estou com vocês.

Aos meus amigos Phelipe e Thaís, que sempre com muito boa vontade me ensinaram muito, me ajudaram em vários momentos, que me divertem e fazem dos meus dias mais felizes. Ao meu grande amigo Guilherme, sua amizade foi um presente da vida. Nunca vou me esquecer do caminho que percorreu para alcançar suas conquistas, você é uma inspiração; obrigado pelo carinho e apoio.

Aos meus amigos, Pedro, por toda ajuda e seu cuidado de irmão comigo, e ao Igor, por sua agradável e constante companhia nesses últimos meses além de sua colaboração,

que foi fundamental para o projeto. Às minhas grandes amigas Larissa, Daniele, Hanna, Lilian e Mara que caminharam lado a lado comigo me dando forças ao longo desses anos, e à minha melhor amiga Mariely que sempre me deu muito conforto quando precisei.

Aos meus primeiros pacientes, Dudu, Sam, Dom e Bruce; amei e amo verdadeiramente cada um de vocês, e sei que recebi o amor mais puro e sincero que existe; aquele que não pede nada em troca.

## RESUMO

A criação de galinhas caipiras é uma cultura explorada desde muitos anos no Brasil, representando importância na esfera econômico-social do país. A presença de doenças que resultam em baixa produção e morte são fatores limitantes para este tipo de produção e representa um fator de risco para avicultura industrial. Este estudo objetivou avaliar a soroprevalência dos agentes causadores de Encefalomielite Aviária (AEV), Anemia Infecciosa (CAV), Doença de Gumboro (IBD) e Reovírus (REO) em propriedades rurais na cidade de Uberlândia-MG pela análise sorológica por ELISA e relacionar a possíveis sinais clínicos presentes nas propriedades. Os resultados indicaram a presença destes agentes virais na região, que é considerada um pólo de grande relevância na produção industrial avícola. A presença destes vírus no campo representa importância não só para as aves caipiras, mas também um potencial fator de risco para a indústria, uma vez que estas propriedades caipiras se encontram a poucos quilômetros de núcleos industriais e incubatórios da região. Houve correlação positiva entre a soroprevalência das três doenças imunodepressoras. Sinais clínicos encontrados foram sugestivos de doenças do sistema respiratório mas não se verificou associação entre a soroprevalência de doenças que afetem o sistema imune e os sinais respiratórios. A implementação de medidas que visem o controle e prevenção de agentes infecciosos nestes estabelecimentos rurais, é uma forma de evitar a disseminação dessas e outras doenças em criações caipiras e para a indústria.

**Palavras Chave:** Reovírus, Anemia Infecciosa da Aves, Doença de Gumboro, ELISA, Avicultura.

## ABSTRACT

The backyard poultry is a tradition in the different Brazilian regions, representing importance in the economic sphere of the country. The presence of diseases that result in low production and death are limiting factors for this type of production and is a risk factor for the industry poultry. The objective of this study was to evaluate the seroprevalence of avian encephalomyelitis Virus (AEV), Chicken anaemia virus (CAV), Infectious bursal disease (IBD) and Reovirus (REO) in rural properties in the city of Uberlândia-MG, Brasil and to relate to possible clinical signs present in the properties. The results obtained by the ELISA methodology indicated the presence of these viral agents in the region, which is considered a pole of great relevance in poultry production. The presence of these viruses in the field is important not only to the backyards poultries but also a potential risk factor for the poultry industry, since these properties are only a few kilometers away from farms and hatcheries industry in the region. There was a positive correlation between the seroprevalence of the three immunosuppressive diseases. Clinical signs were suggestive of diseases of the respiratory system but there was no association between seroprevalence of diseases affecting the immune system and respiratory signs. The implementation of measures aimed at the control and prevention of infectious agents in these rural establishments is important to avoid the spread of these and other diseases in farms and industry.

**Keywords:** Reovirus, Chickens Anaemia virus, Infectious Bursal Disease, ELISA, Aviculture.



## SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO .....	10
2- OBJETIVOS.....	12
2.1- Objetivos Gerais.....	12
2.2- Objetivos Específicos.....	12
3- REVISAO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1- ENCEFALOMIELITE AVIÁRIA .....	13
3.2- DOENÇA DE GUMBORO .....	14
3.3- ANEMIA INFECCIOSA DAS AVES.....	17
3.4- REOVÍROSE AVIARIA.....	19
3.5- ELISA .....	21
4- MATERIAL E MÉTODOS .....	22
5- RESULTADOS E DISCUSSAO .....	24
6- CONCLUSÕES.....	33
7- REFERÊNCIAS:.....	34

## 1- INTRODUÇÃO

O Brasil é reconhecido mundialmente por sua excelência na avicultura industrial, destacando sua tecnologia em manejo, padronização na produção, respeito ao bem estar animal, rastreabilidade e biossegurança.

A agricultura familiar embora muitas vezes colocada à margem da produção avícola, tem importância na economia brasileira e desenvolvimento do país, refletindo em 38% do valor bruto da produção agropecuária. O setor possui cerca de 4,4 milhões de famílias agricultoras, o que corresponde 84% dos estabelecimento rurais. (PLANO SAFRA DA AGRICULTURA FAMILIAR, 2017).

A criação de galinhas caipiras tem sido amplamente explorada ao longo dos anos por pequenos produtores em todo o país. Muitas destas propriedades criadoras de galinhas caipiras, ainda não dispõem de consultorias especializadas para obtenção de manejo adequado; e devido à ausência de informações sobre biossegurança, apresentam baixo *status* sanitário podendo resultar no surgimento de doenças.

Medidas que fortaleçam pequenos produtores de aves caipira, e que estimule seu conhecimento acerca de biossegurança, são necessárias para que a pratica da avicultura em nosso país se torne cada vez mais sólida e eficiente. Isso colabora no controle eficaz de patologias, tanto na avicultura de subsistência como na avicultura industrial já que pequenas propriedades com baixo status sanitário representa um risco para a avicultura industrial.

Doenças imunossupressoras possuem grande importância na avicultura. Estas deprimem o sistema imune das aves, tornando-as suscetíveis à várias outras enfermidades; algumas destas doenças são de difícil controle, ao mesmo tempo que podem gerar grandes prejuízos econômicos devido à queda na produção, e com alto índice de morbidade e mortalidade (REVOLLEDO, 2009). Dentre as doenças de grande importância que acometem o sistema imune das aves, podemos citar a Anemia Infecciosa das Aves, Doença de Gumboro e Reovirose Aviaria.

Provocada por um vírus DNA da família *Circoviridae* a Anemia Infecciosa das Aves (CAV – *Chicken Anemia Virus*), é evidenciada por anemia transitória, retardo no crescimento, entre outros sinais. O agente etiológico é resistente à desinfetantes, o que sugere difícil controle e desinfecção de granjas quando acometidas (REVOLLEDO, 2009).

A doença de Gumboro, também chamada de doença infecciosa da bolsa, é causada por vírus RNA e pode apresentar-se na forma clínica ou subclínica (BOUDAOUUD et al., 2016). A mortalidade súbita ou alta, são fatores determinantes do impacto econômico desta doença. Também é uma doença de difícil controle no ambiente.

O reovírus é causado por (*Respiratory Enteric Virus*) sendo a doença comumente associada a outros patógenos. Acometendo o trato gastrointestinal, sistema respiratório e tecido esquelético, a Reovirose Aviária afeta principalmente aves jovens. Geralmente ocorre em aves pesadas, gerando perdas associadas à baixa produtividade. A tenossinovite é um dos sinais clínicos mais evidentes nesta doença, ocasionando dificuldade de locomoção, resultando em baixos índices zootécnicos. Se trata de um dos microrganismos de mais difícil controle ambiental na avicultura (REVOLLEDO, 2009).

Outra doença de alta relevância, é a Encefalomielite Aviária. Esta, é causada por um picornavírus, podendo afetar aves de todas as idades. A doença não é exclusiva de galinhas, mas faisões, codornas e perus também podem ser acometidos. A cepa enterotrópica infecta a ave via oral, que elimina o vírus nas fezes. Matrizes infectadas no período de postura, transmite a doença via vertical, e o pinto apresentará sinais nervosos como ataxia, tremores, paralisia e morte em alguns dias, sinais estes característicos da cepa neurotrópica (BACK, 2015).

Uma vez que as doenças acima citadas representam valores consideráveis na avicultura, métodos de prevenção e controle de entrada destes e outros patógenos dentro da indústria tendem a ser cada vez mais rigorosos. O controle das doenças acima mencionadas são relativamente fáceis com vacinação, embora saiba-se da possibilidade do aparecimento das cepas mais virulentas com o tempo. Dessa forma a constante vigilância tanto na avicultura industrial como em aves caipiras se faz necessário.

## **2- OBJETIVOS**

### **2.1- Objetivos Gerais**

Avaliar a soroprevalência de agentes causadores da encefalomielite (AEV), doença de gumboro (IBD), anemia infecciosa (CAV) e reovirose (REO), em propriedades de galinhas caipiras da região de Uberlândia-MG.

### **2.2- Objetivos Específicos**

- 2.2.1- Verificar a associação entre a soroprevalência das doenças descritas no item acima;
- 2.2.2- Analisar o possível fator de risco que a soroprevalência destes agentes representa para a indústria;
- 2.2.3- Associar a soroprevalência das doenças imunodepressoras e sintomas clínicos presentes nas propriedades;
- 2.2.4- Verificar a origem e condições da água de bebida fornecida aos animais.
- 2.2.5- Verificar o *status* geral de biossegurança das propriedades;
- 2.2.6- Avaliar os sintomas clínicos presentes no dia das visitas e se os proprietários estavam tratando esses animais;
- 2.2.7- Verificar as classes de antimicrobianos utilizados na propriedade.

### 3- REVISAO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1- ENCEFALOMIELITE AVIÁRIA

O vírus da encefalomielite aviária (AEV) foi inicialmente descrito em 1932 na Inglaterra, onde recebeu essa denominação devido aos sinais nervosos observados em grande quantidade de aves espalhadas geograficamente nessa região. Desde então, fora observado em diferentes partes do mundo a presença desta doença acometendo aves de todas as idades, principalmente aves jovens (KHAN et al., 2016). Atualmente, a AEV ainda é uma realidade na avicultura industrial, o que implica diretamente na economia visto que há queda na produção e mortalidades.

Também denominada como “tremor epidêmico”, a AEV é provocada por um vírus da família *Picornaviridae*, unico pertencente ao genero *Tremovirus*, RNA fita simples, carente de envelope lipídico, que possui alta resistencia à desinfetantes comuns, ácidos, clorofórmio e calor devido ao seu tamanho pequeno (REVOLLEDO, 2009).

A transmissão se dá de forma horizontal, através do contato com fômites, água e ração contaminados com o vírus da AEV, equipamentos contaminados com fezes e ainda por contato direto entre as aves. A transmissão vertical possui grande relevância econômica visto que aves suscetíveis transmitem o vírus na postura (REVOLLEDO, 2009).

A imunidade passiva possui grande importância para as aves, visto que os anticorpos são transferidos à progênie via saco vitelínico, conferindo proteção por 3 a 10 dias após o nascimento (MARTINS & SILVA, 2009). Anticorpos neutralizantes é o maior determinante à resistência de AEV. A bursectomia induz a falha na imunidade contra a encefalomielite aviária, o que comprova a importância da imunidade humoral (KINDLEIN, 2002).

Acometendo galinhas de todas as idades, sendo os pintinhos os mais suscetíveis; esta doença apresenta dois patotipos distintos (BACK, 2015). A cepa neurotrópica acomete principalmente pintos de 1-3 semanas de idade levando a manifestação de sinais nervosos, como ataxia, depressão, paralisia e morte (BACK, 2015). A cepa enterotrópica, também denominada como cepa de campo, é caracterizada por infecção das aves via oral e eliminação do vírus através das fezes; é considerada apatogênica, sendo mais relevante quando ocorre transmissão horizontal ou vertical levando ao surgimento de sintomas nervosos (REVOLLEDO, 2009).

Atualmente, os protocolos de vacinação adotados visam a imunização de matrizes no período de recria, a fim de garantir resposta humoral eficiente transferida à progênie, evitando não somente queda na produção de ovos mas também a transmissão vertical desta doença. As reprodutoras são vacinadas via água de bebida ou membrana da asa, a partir de 8 semanas de idade, no máximo 4 semanas antes do pico de produção para evitar transmissão vertical (MARTINS & SILVA, 2009). Embora a vacinação em reprodutoras controle a doença, estudos apontam que nos últimos anos houveram relatos de casos que sugerem falhas vacinais. Dada essa importância é necessário a implementação de programas que visem monitorar as reprodutoras, prévio ao pico de postura e/ou ainda adotar um novo protocolo de vacinação aliado à medidas eficazes de biossegurança (BACK, 2015).

O monitoramento sorológico de lotes de aves é essencial para averiguar possíveis desafios no campo, eficácia da vacinação ou necessidade de um reforço, e também para dar o diagnóstico da doença. O monitoramento é realizado cerca de 4-6 semanas após a primeira vacinação do plantel, utilizando preferencialmente a metodologia ELISA (MARTINS & SILVA, 2009). A metodologia ELISA é bastante utilizada para mensurar os títulos de anticorpos contra a Encefalomielite. Além de ser uma técnica rápida, o ELISA apresenta boa especificidade e sensibilidade (REVOLLEDO, 2009).

### **3.2- DOENÇA DE GUMBORO**

A doença de Gumboro, também denominada Doença infecciosa da bolsa (*Infectious bursal disease – IBD*) é altamente contagiosa e acomete preferencialmente a Bolsa de Fabricius de aves jovens (BOUDAUD et al., 2016). Os primeiros relatos desta doença em 1962 nos EUA, descreveram quadros de nefrite e hemorragias associados à imunossupressão como consequências da infecção (ITO et al., 2001). No Brasil, é considerada uma doença endêmica, que se instalou de forma rápida graças aos baixos níveis de imunidade das aves e às falhas de diagnóstico. A partir do surgimento de cepas mais virulentas, houve a necessidade de implementação de programas vacinais com a utilização de vacinas intermediárias ou fortes em aves com altos títulos de anticorpos maternos, aliados à boas práticas de biossegurança e maior tempo de vazio sanitário; levando assim ao controle da doença em território brasileiro (BERNARDINO & LEFFER, 2009).

O vírus da IBD é um agente imunossupressor pertencente ao gênero *Avibirnavirus* na família *Birnaviridae*. O vírus possui RNA fita dupla e é desprovido de envelope lipídico, características que o torna resistente à tratamentos de desinfecção com o uso de clorofórmio e éter, podendo ainda se manter no ambiente por mais de 120 dias, sendo então considerado um agente de difícil controle (REVOLLEDO et. al., 2009). Existem dois sorotipos deste vírus, sendo o sorotipo 1 patogênico para galinhas, há relatos de isolamento deste sorotipo em patos e perus porém, sem a presença da doença. O sorotipo 2 é apatogênico, associado à perus, eventualmente pode acomete galinhas, mas não causa imunossupressão nesta espécie (ITO et al., 2001). O RNA viral é constituído por dois segmentos, A e B. O segmento A é responsável por codificar duas proteínas estruturais consideradas as principais (VP2 e VP3). A VP2 é responsável para antigenicidade, tropismo e patogenicidade, por ser considerada a proteína viral mais exposta à respostas imunológicas, é portanto, a região mais suscetível à mutações. Existem ainda uma protease, VP4, responsável pela clivagem do vírus, e uma proteína não estrutural expressa no fim do ciclo de replicação viral, a VP5, acredita-se que esta seja responsável pela lise de membrana celular de células infectadas, levando a disseminação das partículas virais. O segmento B codifica a VP1, caracterizada pela importante função de encapsulamento das partículas virais (BOUDAUD et al., 2016).

A transmissão se dá via horizontal, por contato direto das aves, ou indireto via equipamentos, veículos, água, alimentos, entre outros, contaminados com fezes de animais infectados. Após a inoculação do vírus no organismo da ave, ocorre replicação nas placas de Peyer do intestino, posteriormente o vírus segue para o fígado, onde alcança a circulação sanguínea atingindo a bolsa cloacal 24 horas após a inoculação. As aves infectadas pelo vírus, podem transmiti-lo durante 10-14 dias através da eliminação pelas fezes, e o mesmo consegue resistir por longos períodos em matéria orgânica (REVOLLEDO et. al., 2009).

Exposição ao vírus no campo, ou vacinação com vacinas vivas, estimulam a resposta imune ativa (FADLY et al., 2008). Estudos de Bayliss et al. (1991), realizados em aves caipiras demonstraram ainda indícios da importância da resposta mediada por células contra a IBD. A imunidade passiva pode proteger precocemente a progênie contra infecções no sistema imune. A imunização de reprodutoras é essencial para o controle precoce e efetivo da IBD, visto que a proteção inicial da progênie se dá através da transmissão de altos títulos de anticorpos maternos neutralizantes, antes da imunização ativa induzida pela vacinação no primeiro dia de vida (FERNANDEZ, 2018).

Sendo caracterizada nas formas subclínica e clínica, a IBD chama atenção no setor avícola, devido aos prejuízos econômicos que surgiram associados à forma clínica, caracterizados por perda de aproximadamente 20% do lote em curto espaço de tempo (REVOLLEDO et. al., 2009). Penas arrepiadas, prostração, diarreia, anorexia, alterações nos mecanismos fisiológicos da coagulação sanguínea são alguns dos sintomas desta doença, que pode levar à morte (BERG, 2000). A imunossupressão gerada por esta doença é um grande motivo de preocupação, visto que as aves dificilmente se recuperam imunologicamente, o que interfere diretamente em seu desempenho, além de predispor-las à infecções secundárias (SHARMA, 2005).

Macroscopicamente, as lesões observadas nas aves acometidas pela doença são hemorragias e/ou atrofia de bolsa cloacal; hemorragias na região subcutânea das coxas, peito, e desidratação (MAHGOUB, 2012).

A prática de vacinação de aves reprodutoras por meio de vacinas inativadas prévio à postura obteve sucesso no controle da IBD até a década de 80, uma vez que naquela época o vírus era considerado de baixa ou média virulência. Com o surgimento de estirpes mais virulentas deste vírus, capazes de causar doença por ultrapassar a barreira de anticorpos maternos, os protocolos de vacinação deixaram de ser eficazes. Estas estirpes mais virulentas se espalharam pelo mundo e a imunidade materna se tornou um obstáculo para o estabelecimento de um programa de vacinação competente, pois a relação dos anticorpos passivos com a vacinação precoce se tornou questionável (MICHELL, 2007). Com a frequência de relatos da Doença de Gumboro em plantéis comerciais advindos de matrizes vacinadas, há a necessidade de implementação de métodos alternativos para o controle eficaz desta doença. Para BERNARDINO (2009), não há um programa padrão para imunização desta doença, pois existe uma realidade diferente em cada região, desafios de campo que podem ser mais brandos ou mais severos, fora o fato de que a vacinação para a IBD é fruto de muita polêmica quanto à interferência dos anticorpos maternos, replicação viral, datas de vacinações entre outras questões.

O diagnóstico é baseado na presença dos sinais clínicos associado com as lesões macroscópicas encontradas na bolsa de Fabricius, fígado, rins. Após o diagnóstico presuntivo, se faz indispensável os exames laboratoriais para conclusão do diagnóstico. A monitoria laboratorial auxilia na detecção de doenças, avaliação da eficácia do programa vacinal, o que contribui na melhoria da sanidade dos lotes seguintes (REVOLLEDO et. al., 2009). Vários procedimentos sorológicos, são utilizados para detecção de anticorpos (Ac) do IBD: Soroneutralização (SN), ELISA e o teste de



precipitação por ágar gel (AGP) são alguns exemplos. A SN e o ELISA são preferíveis ao AGP. O ELISA além de ser um teste rápido e disponível, é bastante sensível.

### 3.3- ANEMIA INFECCIOSA DAS AVES

O C.A.V. (*Chicken Anemia Virus*) foi isolado primeiramente em 1979 no Japão. Desde então, sua presença tem sido descrita em várias partes do mundo, inclusive no Brasil onde 97,2% das matrizes de uma linhagem da avicultura industrial em Minas Gerais-MG, apresentam sorologia positiva para C.A.V pela metodologia ELISA, a partir da 17ª semana de idade (BARRIOS, 2009). Esta doença possui predileção por aves jovens infectadas por transmissão vertical apresentando sinais aos 10-14 dias de vida; as aves mais velhas não desenvolvem sinais clínicos, mas são suscetíveis à replicação viral (REVOLLEDO et. al., 2009).

Provocada por um *Circovirus* de genoma DNA fita simples, circular, da família *Circoviridae*, o vírus da CAV é altamente resistente à desinfetantes, e de extrema importância na avicultura devido ao fato de ser imunossupressor, o que predispõe a ave à outras doenças (REVOLLEDO et. al., 2009).

Durante a infecção, o genoma do CAV se replica nas células alvo pela formação de um intermediário de DNA dupla fita. A partir desta molécula dupla fita um único mRNA transcrito codifica três proteínas distintas: VP1 que é a proteína estrutural do capsídeo viral, a VP2, caracterizada por ser uma fosfatase e a VP3 que induz a apoptose em células do timo e nas células linfoblastóides das aves (NOTEBORN, 2004).

A transmissão do C.A.V. se dá tanto por via horizontal como vertical. A transmissão horizontal acontece via oral-fecal, embora a infecção via trato respiratório já tenha sido demonstrada em aves infectadas de maneira experimental. A transmissão vertical é considerada a forma mais importante de disseminação do vírus, devido à perpetuação da doença através da progênie infectada (BARRIOS, 2009). A infecção pelo vírus da CAV provoca severa anemia aplástica e atrofia linfóide em aves jovens. A imunodepressão causada por esta doença é de extrema relevância visto que por conta desta, podem ocorrer perda na eficiência de vacinas. Podem ocorrer infecções secundárias por vírus, bactérias ou fungos o que acarreta na complicação do curso da doença. As aves afetadas apresentam depressão, com crescimento retardado, palidez e penas arrepiadas (REVOLLEDO et. al., 2009).

Os sinais mais observados são perda de peso, severa anemia (valores mínimos no hematócrito de 6 a 27%, sendo que o normal é 29 -35%), medula óssea atrofiada, timo, baço e bolsa cloacal diminuídos de tamanho, hemorragias na região do pro-ventrículo. Dependendo da severidade da doença é possível observar ainda rins e fígado com coloração esbranquiçada (TODD, 2002). Dermatite gangrenosa e severas hemorragias no subcutâneo e músculos também são lesões observadas provenientes desta enfermidade, assim como lesões em diferentes áreas do corpo (REVOLLEDO et. al., 2009). Quando diretamente relacionadas à infecções por outros agentes, as lesões podem se tornar ainda mais severas, resultando no surgimento de exsudato sanguinolento (TODD, 2002). Na histopatologia é observado redução de células hematopoiéticas na medula óssea, severa depleção de linfócitos no timo e hiperplasia de células reticulares (SCHAT, 2003).

O CAV é altamente resistente à grande maioria dos desinfetantes que normalmente são empregados na desinfecção do ambiente, inclusive ao formol, o que permite ao vírus persistência por longos períodos nas instalações (SCHAT, 2003). Uma vez que não é possível prevenir a exposição ao CAV, se faz necessário a redução dos efeitos negativos da infecção através de medidas eficientes de biossegurança e do controle de outros agentes imunodepressores que quando associados à CAV, agravam o quadro de imunodepressão (BARRIOS, 2009). Segundo Nogueira & Dantas (2007), um método para prevenção da disseminação da doença e redução de perdas, é a indução de títulos de proteção de anticorpos anti-CAV no soro de matrizes. No Brasil, a imunização de matrizes por meio de vacinas atenuadas tem como objetivo controlar a doença clínica no campo através da transferência passiva de altos títulos de anticorpos maternos. Estudos realizados por Cardona et al. (2000) em Barrios (2009), demonstram que o vírus pode persistir por longos períodos nos tecidos reprodutivos, mesmo após a soroconversão, fato que se justifica devido a vacinação.

O diagnóstico pode ser feito através de isolamento viral, da detecção de anticorpos anti-C.A.V. ou pela amplificação de genes específicos. O isolamento viral além de ser uma técnica mais complexa, pode apresentar resultados falso negativos, pois algumas cepas de C.A.V. perderam a capacidade de replicação em cultivo celular devido a alterações genéticas. A detecção de anticorpos é realizado por testes de ELISA, soroneutralização e imunofluorescência indireta. A soroneutralização é uma técnica bastante sensível, porém demorada, levando aproximadamente três semanas, o que inviabiliza a sua utilização na rotina. Devido à praticidade e agilidade o teste de ELISA vem sendo empregado para o diagnóstico sorológico de C.A.V., no entanto os testes

sorológicos indicam uma exposição prévia ao vírus e não necessariamente a presença da infecção (BARRIOS, 2009). É necessário a realização de diagnóstico diferencial para Doença de Marek e Doença de Gumboro visto que ambas provocam atrofia de órgãos linfoides. A reovirose pode se encontrar associada a doenças como hepatite e raquitismo, mas não causa anemia aplástica. Intoxicação por sulfas e as micotoxinas podem levar ao quadro de anemia no entanto serão observados com outros sintomas característicos de outras doenças agudas em aves jovens (REVOLLEDO et. al., 2009).

### 3.4- REOVÍROSE AVIÁRIA

Os reovírus aviários (ARVs) ou *Respiratory Enteric Orphan* (REO) são importantes patógenos que causam grandes prejuízos na indústria avícola (BARBOSA, 2014). As infecções causadas por estes vírus tem sido associadas com uma variedade de condições de doença incluindo artrite viral, doenças respiratórias crônicas e síndrome da má absorção (JONES, 2000). Amplamente distribuído geograficamente, este vírus possui como hospedeiros naturais galinhas e perus (REVOLLEDO et. al., 2009). ARVs são membros do gênero *Orthoreovirus*, da Família *Reoviridae*. Estes vírus são desprovidos de envelope, seu genoma é constituído de RNA fita dupla (BENAVENTE e MARTINEZ 2007) e expressa oito proteínas estruturais e quatro não estruturais (BODELON et al., 2001). O ARV se trata de um vírus muito resistente à altas temperaturas e aos desinfetantes geralmente utilizados na limpeza do ambiente industrial (REVOLLEDO et. al., 2009). Semelhante à vários outros, o vírus da reovirose aviária induz a morte celular por apoptose de células infectadas, e a ativação desse sistema se dá durante a fase inicial do ciclo de vida dos ARVs (LABRADA et al., 2002). Estudos de Dobson e Glisson (1992), demonstraram alguns benefícios da vacinação das matrizes prévio à maturidade sexual, como a proteção da progênie de maneira precoce, o que é economicamente vantajoso. Constatou-se ainda que os anticorpos maternos transferidos passivamente, conferem proteção eficaz contra desafios no campo.

A transmissão pode ocorrer horizontal, por contato direto das aves uma com as outras, ou indiretamente via instalações contaminadas. A transmissão vertical é o tipo mais importante (MARTINS & RESENDE, 2009). É muito importante a certificação de status livre de doença das reprodutoras, certificando a qualidade sanitária das progenitoras estabelecendo um desempenho adequado à progênie (BARBOSA, 2014).

O reovírus se trata de um agente imunossupressor, provocando não somente a imunodepressão, mas manifestando uma série de outros sintomas no sistema respiratório, digestório e esquelético das aves, o que inclui problemas respiratórios, sinais como a artrite viral ou tenossinovite e a síndrome da má absorção (MEMORIAS, 2018), o que compromete a viabilidade econômica dos lotes devido ao aumento na mortalidade das aves e redução na conversão alimentar (BARBOSA, 2014).

A artrite viral ou tenossinovite acomete com maior frequência em machos de corte, com idade entre 12 a 16 semanas ocasionando edema articular, congestão e hemorragias, podendo evoluir para imobilização ou ruptura do tendão gastrocnêmico (BARBOSA, 2014). A síndrome de má absorção comumente é associada à aves jovens, provocando atrofia de bolsa, distensão com hemorragia do proventrículo, enterite catarral, além da possibilidade de ocasionar infecções secundárias devido à imunossupressão (MARTINS & RESENDE, 2009).

Os reovirus são bastante resistentes a diferentes métodos de desinfecção, contudo, boas práticas de manejo e desinfecção executadas de maneira adequada nos galpões são uma forma de minimizar a pressão viral de um lote para o outro, o que limita possíveis surtos desta patologia (BORNE, 2003). Aliado às boas práticas, outro método de prevenção desta doença é através da imunização de matrizes, que recebem a vacina atenuada entre 8-10 semanas de idade, seguida de um reforço vacinal com vacinas inativadas quando completam 18 semanas de idade. O objetivo da imunização consiste ainda na proteção da progênie. Os pintos provenientes destas matrizes imunizadas, irão nascer com altos títulos de anticorpos maternos, protegidos assim, contra a reovirose; estes só deverão ser imunizados em situações de grande desafio (BORNE, 2003).

São várias as metodologias empregadas para a detecção de anticorpos ARV, o que inclui imunodifusão em ágar gel, neutralização de vírus teste, imunofluorescência indireta e RT-PCR (JONES, 2000); todos estes métodos são confiáveis, porém são técnicas que demandam muito tempo (BARBOSA, 2014). Recentemente, o método ELISA tem sido empregado para o diagnóstico da reovirose aviária (HSU et al., 2006; XIE et al., 2010; YANG et al., 2010). O teste ELISA é sensível, confiável, rápido e fácil de ser realizado (XIE et al., 2010).

### 3.5- ELISA

O método de ELISA, é um teste simples de ser executado, de baixo custo, acessível às condições de campo, ressaltando os benefícios de agilidade na busca de um diagnóstico (BORNE, 2003). Existem diferentes tipos de ELISA: Indireto, Direto, e o ELISA sanduíche (MINEO et al., 2016).

Nesta pesquisa foi utilizado o ELISA indireto para detecção de anticorpos para Reovírus, Encefalomielite Aviária e Gumboro; e o ELISA de bloqueio para Anemia Infecciosa das Aves.

O teste ELISA indireto detecta a presença de anticorpos na amostra sorológica, através da ligação destes com os antígenos utilizados na sensibilização da placa, que é incubado *overnight* à 4 °C, o que permite a ligação do antígeno de forma eficiente na placa. Esta sensibilização consiste em adicionar um antígeno no fundo dos poços da placa, que correspondem ao anticorpo alvo. Após essa sensibilização, as placas são lavadas três vezes com substância tampão PBS Tween 20 (PBS-T 20), para realização da próxima etapa, que consiste na adição do soro a ser analisado nos orifícios da placa, previamente diluído na mesma substância tampão, onde serão incubados à 37°C por 30 minutos. Após esse período é realizado outras três lavagens com PBS-T 20, posteriormente é adicionado um conjugado enzimático, geralmente a enzima de escolha é a peroxidase; e realizado nova incubação à 37°C por 30 minutos, seguida de três lavagens. Após estas etapas é adicionado o substrato enzimático OPD (cromógeno), e nova incubação por 10-15 minutos é feita em temperatura ambiente e em câmara escura; interrompemos a reação enzimática acrescentando água destilada. Em seguida é realizada a leitura do teste (MINEO et al., 2016).

No teste ELISA de bloqueio, sensibiliza-se a placa com o anticorpo específico, em seguida adiciona-se o soro amostral, que se obtiver o antígeno pesquisado, ocorrerá uma ligação deste com o anticorpo adicionado na etapa anterior. Posteriormente é adicionado o conjugado (Ag ligado à uma enzima) que irá se ligar aos anticorpos que não efetuaram interação com o antígeno pesquisado na amostra. Após essas etapas, adiciona-se o substrato cromógeno, que através de sua clivagem com a enzima do conjugado, ocorrerá coloração específica indicando resultado negativo do teste.

#### 4- MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados amostra de sangue de 86 aves com idade entre 12 e 56 semanas, em nove propriedades rurais que exercem a prática de criação de aves caipiras na região de Uberlândia-MG. Todas essas propriedades são carentes de assistência técnica veterinária.

O sangue oriundo de punção da veia ulnar (Figura 1) foi coletado com material estéril (agulhas e seringas), e estocados em tubos para coleta à vácuo com ativador de coágulo (sílica) próprios para pesquisa de anticorpos, o que proporciona melhor armazenamento do material. Este sangue foi devidamente refrigerado em caixas isotérmicas até a chegada ao Laboratório de Epidemiologia Molecular da Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), onde foi realizado a pipetagem do soro sanguíneo com o auxílio de pipetas automáticas e ponteiros individuais e em seguida, encaminhado para o Laboratório para análise sorológica pela metodologia ELISA. O exame sorológico foi realizado utilizando kits comerciais do laboratório Idexx, conforme instruções do fabricante.



Imagem 1: Punção de veia ulnar, para retirada de sangue. FONTE: acervo pessoal.

Para o teste ELISA indireto o antígeno foi colocado em placa *overnight* à 4 °C, o que permite a ligação do antígeno de forma eficiente na placa. Após a sensibilização, as placas foram lavadas com substância tampão própria do *kit* comercial. Após, foi adicionado soro das aves na diluição de 1:1500 e incubados à 37°C por 30 minutos. Após esse período, foi realizado lavagens, posteriormente foi adicionado um conjugado enzimático e realizado nova incubação à 37°C por 30 minutos, seguida de lavagens. Após estas etapas, foi adicionado o substrato enzimático e nova incubação por 10-15 minutos em temperatura ambiente e em câmara escura. A reação foi interrompida acrescentando água destilada e em seguida foi realizada a leitura do teste com base nos resultados obtidos no espectrofotômetro por densidade ótica e pelos valores de absorbância os cálculos dos títulos foram automaticamente fornecidos pelo software (MINEO et al., 2016). O teste ELISA de bloqueio foi semelhante ao indireto porém o anticorpo não foi diluído e os reagentes eram próprios dos *kits* comerciais.

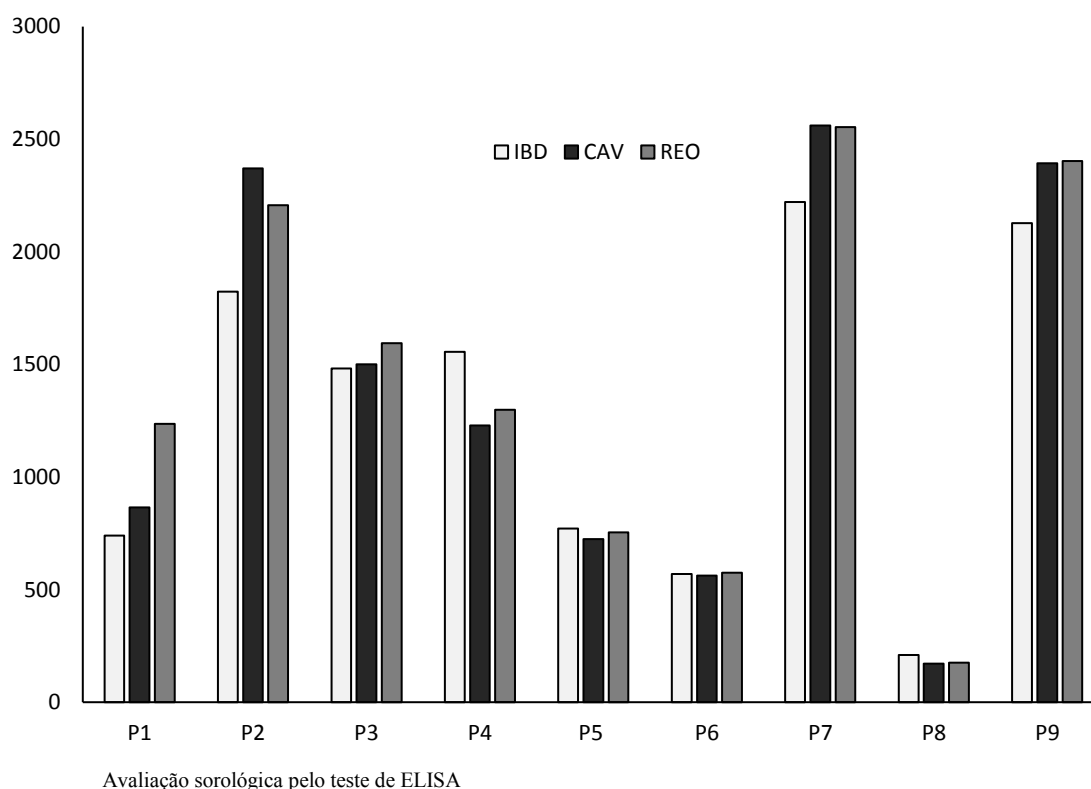
Para compreensão do manejo empregado pelos produtores, foi utilizado um questionário abordando a alimentação, qualidade e origem da água, limpeza das instalações, episódios de doenças, destino de aves mortas na propriedade. Adotou-se ainda um relatório de inspeção visual para análise das condições sanitárias do ambiente e das aves. Foi realizado o mapeamento das propriedades para o conhecimento da proximidade com granjas industriais, na intenção de estabelecer quais os possíveis fatores de risco existentes para a indústria.

Foi realizada análise estatística descritiva para avaliação da soroprevalência pelo teste de média e desvio padrão. A avaliação da associação foi feita pelo teste de qui-quadrado seguido pela razão de odds e análise da correção feita pelo teste de correlação de Pearson. O grau de confiança foi de 95% usando o programa Graph Pad Prism 7.0.

## 5- RESULTADOS E DISCUSSAO

Das propriedades visitadas, apenas três foram vacinadas sendo a P1 vacinada para bouba, a P5 vacinada para bouba, bronquite, New Castle e Gumboro e a P9 vacinada para bouba e New Castle. A média dos títulos sorológicos das propriedades avaliadas para as três doenças que deprimem o sistema imune estão descritas na figura 2.

**Figura 2.** Média dos títulos sorológicos das propriedades avaliadas para a doença infecciosa da bolsa, anemia infecciosa das aves e reovírus.



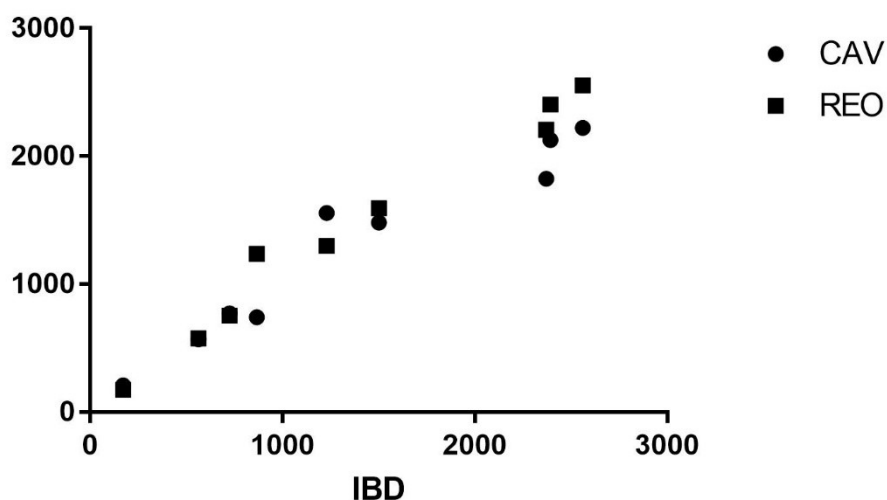
Pela orientação do fabricante dos *kits* de ELISA valores de titulação acima de 397 são consideradas positivas para IBD, EAV, REO. Para CAV títulos acima de 1000 são consideradas positivas. Dessa forma quando se avaliou a média populacional é possível notar que as propriedades P1, P5, P6 e P8 foram aquelas que apresentaram média de títulos inferiores (figura 2). A propriedade 8 é a única que apresentou médias de títulos negativos para todas as doenças avaliadas. As propriedades P1, P5 e P6 apresentaram média de títulos negativos para anemia mas houve soro conversão para as outras doenças



embora em níveis mais baixos que as outras. Vale destacar que o lote antes vacinado para IBD (P5) teve títulos sorológicos até abaixo daqueles não vacinados. Isso só confirma que os altos títulos sorológicos verificados para IBD e também as demais doenças estão relacionados a presença dos vírus de campo nos plantéis caipiras.

A observação da figura 2 demonstra que há um perfil sorológico semelhante para todas as doenças avaliadas dentro da propriedade. Dado esse resultado, foi realizada uma análise para verificar a correlação entre as médias das doenças avaliadas que afetam o sistema imune (figura 3). A figura 3 confirmou a correlação positiva entre a presença de títulos sorológicos para a doença IBD em relação a CAV e REO.

**Figura 3.** Correlação entre os títulos sorológicos da doença infecciosa da bolsa e anemia infecciosa das aves e reovírus.



Pelo coeficiente de Pearson foi possível verificar um valor de  $r=0,9685$  para CAV e  $r=0,9879$  para REO em relação a soroprevalência da IBD.

Apesar dos altos títulos sorológicos não foram observados sintomatologias clínicas sugestivas para IBD, CAV e REO.

No histórico de mortalidade obtido na pesquisa as propriedades em questão relataram episódios de enfermidades anteriores, porém tais relatos não demonstraram sinais típicos das doenças acima descritas. Os sintomas descritos incluem: lesão de crista, ronquidão, presença de muco nas narinas, pernas e dedos tortos e paralisia de asas. A presença destes sinais não são indicativos das doenças avaliadas. Além disso, na inspeção visual sintomas característico de doenças do sistema respiratório foram observadas como ronqueira, presença de muco nas narinas e boca e edema de face.

As desordens provocadas pela CAV, REO e IBD induzem a imunodepressão, o que leva ao aumento da suscetibilidade à outras infecções (BORNE, 2003). A correlação positiva encontrada entre os títulos de CAV, IBD e REO, pode ser explicada à esse fato; visto que quando a ave é acometida por um destes agentes, pode se tornar vulnerável a outras doenças, afetando de forma negativa seu desempenho (SHARMA, 2005).

As aves que entraram em contato com o vírus da IBD, em sua forma subclínica, dificilmente se recuperam imunologicamente, ou seja, se entrarem em contato com novos vírus, ou agentes bacterianos por exemplo, não serão responsivas quanto ao combate à novas infecções (SHARMA, 2005). A falta de imunização, o ambiente precário de higienização, manejo inadequado dessas aves e a presença de outros agentes imunodepressores de difícil erradicação como REO e CAV são fatores predisponentes para doenças e para a presença desses altos títulos sorológicos (FADLY et al., 2008). A falta de consultoria técnica veterinária nessas propriedades pode colaborar para a perpetuação do vírus no campo, pois esses proprietários não possuem informações sobre a relevância desses agentes no ambiente para realizar controle adequado em suas propriedades.

Uma possível razão para ausência da doença clínica nestas aves é a possibilidade da doença subclínica. Embora a doença subclínica não cause alta morbidade ou mortalidade, essa condição pode deprimir o sistema imune das aves sendo fator predisponentes à outras doenças.

O ELISA é um dos métodos sorológicos mais empregados no diagnóstico de CAV (SANTOS, 2018), o que se justifica devido sua praticidade, agilidade e sensibilidade (BARRIOS, 2009). Da mesma forma acontece para o monitoramento e diagnóstico de IBD, a sensibilidade e rapidez do teste o torna confiável e digno de escolha (REVOLLEDO et. al., 2009). Borne (2003) afirma que o ELISA é a técnica mais utilizada a campo no diagnóstico de Anemia Infecciosa das Aves, Doença de Gumboro, Reovirose Aviária e outras doenças.

Por muito tempo, as técnicas de imunodifusão em agar gel, neutralização de vírus teste, imunofluorescência indireta e RT-PCR foram as mais empregadas no diagnóstico de Reovirose (JONES, 2000), mas devido aos benefícios já descritos do teste de ensaio imunoenzimático-ELISA, tem sido utilizado a campo sendo satisfatório (HSU et al., 2006). No entanto não é a técnica padrão ouro para reovírus (XIE et al., 2010) e outras técnicas se fazem necessárias para uma análise mais apurada.

Todas as propriedades foram monitoradas quanto as alterações clínicas no momento das visitas. Presença de diarreia foi observada em apenas uma propriedade (P7). Os sinais clínicos mais observados eram relacionados a trato respiratório superior. Das nove propriedades, cinco (P1, P2, P3, P4 e P5) apresentavam sintomas respiratórios relacionados a ronqueira, leves sintomas de cabeça inchada, presença de muco límpido na região nasal. Sintomas característicos de fase avançada ou complicada de Coriza infecciosa não foram observados. Pela análise do teste do quiquadrado seguido pela razão de odds não foi verificada associação entre sintomas respiratório e a presença de altos títulos para IBV, CAV e REO (tabela 1). Sabe-se que a presença de agentes que deprimem o sistema imune pode ter influência na manifestação de outras doenças. No entanto, os resultados da análise de associação, mostra que isso não ocorreu nessas propriedade. Esses resultados mostram que há outros patógenos nas propriedades que afetam o trato respiratório das aves, sem necessariamente a presença da imunodepressão.

Apesar desses resultados é possível que em outro cenário, com um número maior de propriedades essa interferência possa ser constatada.

**Tabela 1.** Tabela de contingência da associação entre sinais respiratórios e soroprevalência para IBD (A), CAV (B) e REO (C).

A. Análise da associação de soroprevalência de IBD e sintomas respiratórios.

	SR	não SR
IBD pos	5	3
IBD neg	0	1

SR: sintomas respiratórios; pos: positivo; neg: negativo (p=0,44)

B. Análise da associação de soroprevalência de CAV e sintomas respiratórios.

	SR	não SR
CAV pos	3	2
CAV neg	2	2

SR: sintomas respiratórios; pos: positivo; neg: negativo (p>0,99)

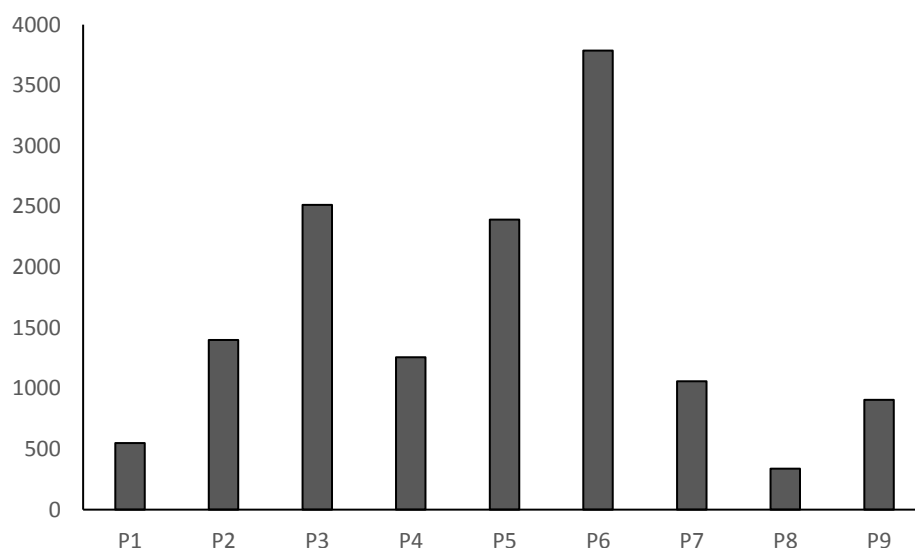
C. Análise da associação de soroprevalência de REO e sintomas respiratórios.

	SR	não SR
REO pos	5	3
REO neg	0	1

SR: sintomas respiratórios; pos: positivo; neg: negativo (p=0,44)

Além da avaliação da soroprevalência das três doenças antes citadas foram coletados soros para análise de AEV. Os títulos de encefalomielite nos lotes amostrados estão descritos na figura 4.

**Figura 4.** Média dos títulos sorológicos das propriedades avaliadas para Encefalomielite aviária.



Houve soroconversão para o vírus da encefalomielite aviária em todas as propriedades a exceção da P8. Não houve correlação entre os níveis sorológicos da IBD e AEV (Figura 5).

Assim como para as doenças imunodepressoras avaliadas, os sinais clínicos relatados nas propriedades não são sugestivos de encefalomielite. Por muito tempo a encefalomielite, pareceu ser controlada por meio de vacinas em lotes de matrizes, mas a realidade nos últimos anos tem sido diferente (BACK, 2010).

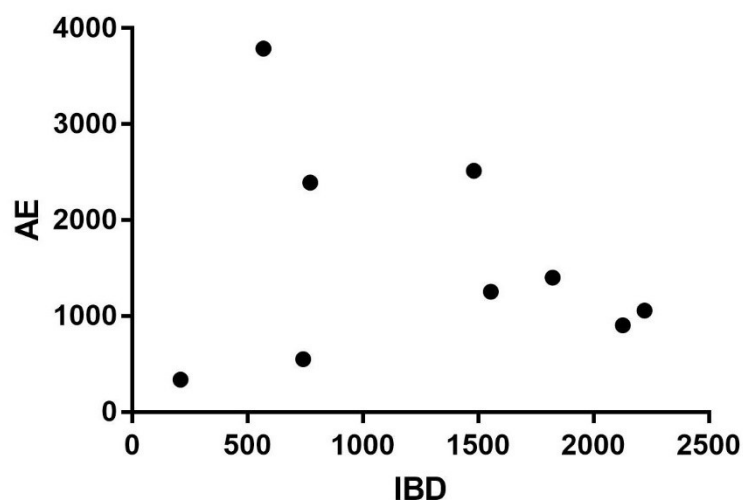
A encefalomielite aviária é a doença viral, cada vez mais encontrada em aves de fundo de quintal (DVM, 2018). Uma pesquisa realizada com aves caipiras na Finlândia em 2012-2013 revelou que 86% destas possuíam anticorpos contra a doença (DVM, 2018). Curiosamente, estudos feitos no Paraná- Brasil, demonstram a aumento na ocorrência de casos de AEV no mesmo período de 2012 e 2013 em aves com idade entre 1-35 dias de idade em granjas industriais (BACK, 2015).

Os dados descritos na literatura (CALNEK, 2008), mostram que as vacinas previnem a infecção e funcionam bem, a não ser que ocorra falhas na imunização das reprodutoras. Falhas estas associadas à vacinação ou à própria vacina, que envolvem erro

na atenuação do vírus, armazenagem inadequada da vacina ou alterações nos programas de vacinação. Como erros na imunização no período de cria favorecem a disseminação do vírus através de transmissão vertical, a hipótese levantada para a ocorrência desses surtos, é que houve falhas vacinais resultando no surgimento da doença (BACK, 2015). Mas essa pode não ser a única razão para o surgimento dos casos; especula-se ainda que as cepas vacinais já não protegem da mesma forma, e que as estirpes virais possam ter sofrido modificações em sua estrutura, porém não existe dados literários que evidenciam tal afirmação (BACK, 2015).

A especulação sobre a possibilidade do surgimento de modificações e aparecimento de estirpes de AEV cuja vacinação convencional não previne o aparecimento da doença em lotes industriais deve ser considerado um alerta em lotes de galinhas caipiras com a presença de vírus de campo como é o caso desse estudo. Dessa forma, pesquisas sobre a caracterização molecular dos vírus presentes em lotes caipiras devem ser realizados.

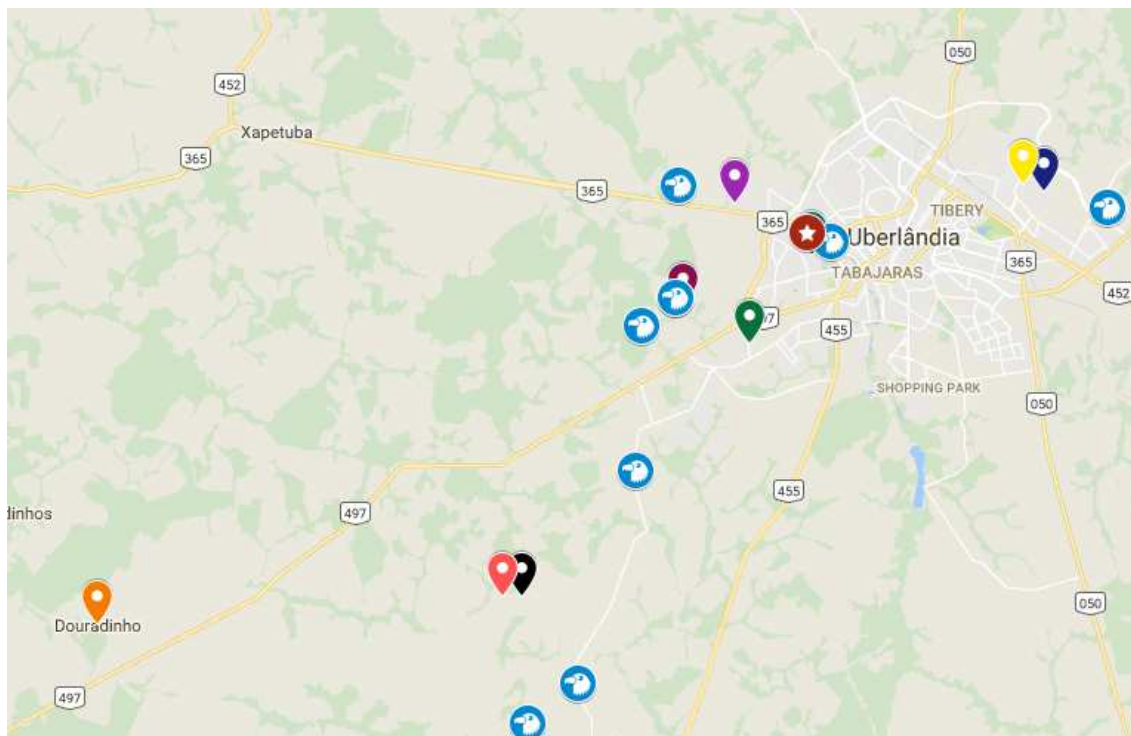
**Figura 5.** Correlação entre os títulos sorológicos da doença infecciosa da bolsa e encefalomielite aviária.



Pelo coeficiente de Pearson foi possível verificar um valor de  $r = -0,1792$ .

Com o auxílio do *Google Maps*, foi realizada a montagem de um mapa que indica as localizações das propriedades caipiras e estabelecimentos avícolas industriais. Todas as propriedades industriais eram granjas de frango de corte e o incubatório de pinto de corte.

**Figura 6:** Mapa das Propriedades Rurais caipiras, Granjas industriais e Incubatório da região.



Os pontos marcados como localização representam as criações caipiras, sendo cada cor representante de uma propriedade diferente; os pontos azuis representam as granjas e frigorífico mais próximos de cada uma dessas propriedades; o ponto vermelho indica a localização do incubatório da região.

A quilometragem obtida por meio de cálculos realizados pelo aplicativo *Google Maps* resultou em:

- 3,29km de distância entre a P1 a granja A;
- 3,40km de distância entre a P2 e a granja B;
- 4,31km de distância entre P3 e a granja C;
- 5,62km de distância entre P4 e a granja D;
- 619 metros de distância entre P5 e a granja E;
- 5,51km de distância entre P6 e a granja F;
- 2,67 km de distância entre P7 e a granja G;
- 1,18km de distância entre P8 e frigorífico e o incubatório da região;
- 4,31km de distância entre P9 e a granja I.

Os dados acima indicam que todas as propriedades analisadas neste estudo se encontram a uma distância próxima de produções comerciais de frango de corte, o que representa potencial fator de risco para a indústria avícola local, uma vez que todas as propriedades, apresentaram altos títulos de anticorpos para todas as doenças investigadas; à exceção da P8.

Os resultados de soroprevalência associados a localização das granjas pode indicar a necessidade de vacinação das aves contra os agentes estudados. Isso porque a pequena distância pode fazer com que agentes presentes nas granjas caipiras circulem entre granjas industriais. No Brasil não há vacinas com baixo número de doses que atendam pequenas criações. As doses comercializadas normalmente são iguais ou superiores a 1000 para atender a avicultura industrial o que muitas vezes é um limitador para que os proprietários realizem a vacinação.

Outra alteração comumente percebida na granja é a presença de dedos tortos em aves de qualquer idade. Quatro propriedades apresentavam várias aves com dedos tortos (P1, P2, P5, P9) e duas propriedades com a presença de aves com pernas tortas (P2 e P4). A alimentação das aves destas propriedades (P1, P2, P5 e P9), é a base de milho quebrado, farelo de milho e soja e ração. Apenas uma dessas propriedades possuem suplementação vitamínica, porém não foi informado a natureza deste suplemento.

A carência de vitamina B2 é uma das deficiências mais encontradas a campo, o que pode ter relação com fator genético, ou com alimentação carente de vitamina B2. Dietas compostas por milho e farelo de soja fornecem de 2,0 a 2,6mg de vitamina B<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>, e estes valores se encontram abaixo dos níveis mínimos recomendados pelo NRC (1994) (3,0-3,6mg B<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) (BARROETA et al., 2002).

A deficiência de Riboflavina (vitamina B2), apresenta sinais como redução no ganho de peso, diarreia, e paralisia dos dedos curvos (RUTZ, et al., 1998). Além disso, a falta dessa vitamina provoca efeito patológico em diversos tecidos, causando lesões em epiderme e bainha de mielina principalmente, o que justifica a presença de pernas e dedos tortos (LESSON, 2001).

Outro ponto importante em criações avícolas é a origem e qualidade da água não somente por sua composição que possui impacto no desempenho zootécnico da ave, mas também pelo fato de que esta atua como meio de propagação de microrganismos (BORNE, 2003).

As propriedades avaliadas neste estudo, possuem poços artesianos (P1, P2, P4, P5 e P6) ou caixas d'água tratadas pelo Departamento Municipal de Água e Esgoto (DMAE), (P3, P7, P8 e P9). As caixas d'água das propriedades 3, 7, 8 e 9, se encontravam tampadas e em bom estado de conservação. As propriedades 1, 2, 4, 5 e 6, não possuem água tratada e tampouco realiza limpeza do ambiente diariamente. Com o auxílio dos relatórios pode-se afirmar ainda higiene regular ou em péssimas condições no local em que vivem essas aves. Observou-se ainda a presença de aves de outras espécies em sete das nove propriedades investigadas, entre as espécies, podemos citar patos, gansos, perus, pavão e codornas (P1), patos (P2), angolas (P3 e P4), gansos e marrecos (P5), codornas (P7) e patos (P8).

Ambiente limpo e adequada desinfecção de instalações em estabelecimentos avícolas é um método ideal para prevenção de doenças e eliminação de microrganismos patogênicos no local. Falta de vacinação, estresse por convivência com outras aves e ambiente sujo são fatores predisponentes à doenças infecciosas viral, bacteriana ou fúngica (BORNE, 2003).

Quando há o surgimento de algum sinal clínico nas aves, alguns destes proprietários fazem uso indiscriminado de fármacos, mesmo sem assistência veterinária e noções do que se trata a presença desses sintomas e lesões.

Na P1 se faz uso de medicamento a base de Doxiciclina, antimicrobiano utilizado em suínos e aves para infecções respiratórias e sistêmicas. As propriedades P3, P4 e P9 fazem uso da Oxitetraciclina, um antibiótico de amplo espectro utilizado para combater infecções bacterianas em diversas espécies (ZOETIS, 2018). A P9 é utilizado um antibiótico da classe dos macrolídeos utilizado para combater infecções provocadas por bactérias gram positivas em bovinos, suínos e caprinos (CEVA, 2018). Na P5 se faz uso de sulfa e enrofloxacina. A sulfa é um antibiótico utilizado no combate à infecções bacterianas. As sulfas indicadas para aves possuem como alvo, o combate de salmonelose, coccidiose e cólera aviária (COVELI, 2018), e a enrofloxacina é uma fluoroquinolona indicada para o tratamento de infecções provocadas por micoplasma, bactérias gram positivas e gram negativas e espiroquetas (BAYER, 2018). O uso desses medicamentos associados, provocam antagonismo dos mesmos, ou seja, quando associamos um bacteriostático com um bactericida, ocorre um efeito deletério, e é por isso que não se deve associar sulfa à enrofloxacina (REHAGRO, 2018).



## **6- CONCLUSÕES**

Nos lotes avaliados houve altos títulos para as CAV, IBD, REO e AEV. Houve correlação entre a soroprevalência das doenças imunodepressoras avaliadas. Observou-se a presença de sinais respiratórios sem associação positiva com a soroprevalência das doenças imunodepressoras. A presença de dedos tortos em seis das nove propriedades provavelmente está relacionada a uma nutrição inadequada. Não há um tratamento da água de bebida das aves em três das nove propriedades. Além disso se constata o uso indiscriminado de antimicrobiano de diferentes classes na maioria das propriedades investigadas. As condições precárias de sanidade, bem como a ausência de assistência veterinária, imunização das aves e falta de estabelecimento de um projeto de produção, nutrição e biossegurança adequado, são fatores que provavelmente favorecem a permanência e disseminação de agentes infecciosos no ambiente.

## 7- REFERÊNCIAS:

- 1- BACK A. Encefalomielite aviária. In: Back A. **Manual de doenças de aves**. 2<sup>a</sup> ed. Cafelândia: Editora Integração; 2010. p. 70-2.
- 2- BACK, NEW OCCURANCE OF AVIAN ENCEPHALOMYELITIS IN BROILER - IS THIS AN EMERGING DISEASE? **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s.l.], v. 17, n. 3, p.399-404, set. 2015. Fap UNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1516-635x1703399-404>
- 3- BARBOSA, Joao Paulo. **VACINAÇÃO NA CADEIA DE FRANGO DE CORTE NO DISTRITO FEDERAL – REVISÃO DE LITERATURA, METODOLOGIA E IMPORTÂNCIA**. 2014. 86 f. Monografia - Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.
- 4- BARRIOS, Priscilla Rochele. **DETECÇÃO DO VÍRUS DA ANEMIA INFECCIOSA DAS GALINHAS EM MINAS GERAIS**. 2009. 58 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
- 5- BARROETA, A.C. et al. **Óptima nutrición vitamínica de los animales para la producción de alimentos de calidad**. Barcelona: Pulso ediciones, 2002. 208p
- 6- BAYER. **BAYTRIL**. Disponível em: [http://www.bayervet.com.pt/export/sites/bayervetpt/pt/\\_galleries/tables/BAYTRIL\\_10x\\_SOL\\_ORAL.pdf](http://www.bayervet.com.pt/export/sites/bayervetpt/pt/_galleries/tables/BAYTRIL_10x_SOL_ORAL.pdf) . Acesso em: 09 junho 2018.
- 7- BAYLISS, C. D., R. W. Peters, J. K. A. Cook, R. L. Reece, K. Howes, M. M. Binns, and M. E. G. Bournnell. 1991. **A recombinant fowlpox virus tha expresses the VP2 antigen of infectious bursal disease virus induces protection against mortality caused by the virus**. Arch Virol 120:193–205.
- 8- BENAVENTE, J., Martinez-Costas, J., 2007. **Avian reovirus: structure and biology**. Virus Res. 123, 105–119
- 9- BERG, T.P.V.D. Acute infectious bursal disease in poultry: A review. **Avian Pathology**. 29:175-194. 2000.
- 10- BERNARDINO, A.; LEFFER, E. Doença infecciosa da bolsa de Fabrício. In: JÚNIOR, A. B.; SILVA, E. N.; FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2<sup>a</sup> edição. Editora FACTA. Campinas, 2009. p 651-671.

- 11- BODELON, G., Labrada, L., Martinez-Costas, J., Benavente, J., 2001. **The avian reovirus genome segment S1 is a functionally tricistronic gene that expresses one structural and two nonstructural proteins in infected cells.** *Virology* 290, 181–191
- 12- BORNE, Piere-marie. **Vacinas e vacinação na produção avícola.** Porto Feliz, Sp: Gessuli Guias, 2003. 140 p.
- 13- BOUDAUD, A. et al. Les mutations virales et leur impact sur la vaccination contre la bursite infectieuse (maladie de Gumboro). **Revue Scientifique Et Technique de L'oie**, [s.l.], v. 35, n. 3, p.875-897, 1 dez. 2016. O.I.E (World Organisation for Animal Health). <http://dx.doi.org/10.20506/rst.35.3.2576>
- 14- BRENTANO L., LAZZARIN S., BASSI S.S., et al. **Detection of chicken anemia virus in the gonads and in the progeny of broiler breeder hens with high neutralizing antibody titers.** *Vet. Microbiol.*, 105:65-72, 2005.
- 15- CALNEK BW. Avian encephalomyelitis. In: Saif YM. **Diseases of poultry.** 12th ed, Iowa: Blackwell; 2008. p. 430 - 41.
- 16- CARDONA, C. J., OSWALD, W. B., SCHAT, K. A. **Distribution of chicken anemia virus in the reproductive tissues of specific- pathogenfree chickens.** *J. Gen. Virol.* 81:2067–2075, 2000.
- 17- CEVA. **TYLADEN.** Disponível em: <https://www.ceva.com.br/Produtos/Lista-de-Produtos/TYLADEN> . Acesso em: 09 junho 2018.
- 18- COVELI. **AVITRIN SULFA.** Disponível em: <http://coveli.com.br/wp-content/uploads/2017/11/avitrinsulfa.pdf> . Acesso em: 09 junho 2018.
- 19- DOBSON, K. N.; GLISSON, J. R.. Economic Impact of a Documented Case of Reovirus Infection in Broiler Breeders. **Avian Diseases**, [s.l.], v. 36, n. 3, p.788-791, jul. 1992. JSTOR. <http://dx.doi.org/10.2307/1591786>.
- 20- DVM, Poultry. **Avian Encephalomyelitis.** Disponível em: <http://www.poultrydvm.com/condition/avian-encephalomyelitis> . Acesso em: 09 junho 2018
- 21- FADLY, A. M., et al. **Diseases of Poultry.** 12. ed. Iowa, Eua: Blackwell Publishing, 2008.

- 22- FERNANDEZ, Rafael. **A importância da imunidade materna contra Gumboro.** Disponível em: <https://avicultura.info/pt-br/imunidade-materna-gumboro/> . Acesso em: 29 maio 2018.
- 23- HSU CJ, Wang CY, Lee LH, Shih WL, Chang CI, Cheng HL, Chulu JL, Ji WT, Liu HJ (2006): **Development and characterization of monoclonal antibodies against avian reovirus  $\sigma$ C protein and their application in detection of avian reovirus isolates.** *Avian. Pathol.* 35, 320–326.  
<http://dx.doi.org/10.1080/03079450600823386>
- 24- ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A. et al. **Doença de Gumboro: revisão de literatura, avanços em biotecnologia e novos conhecimentos,** 76p, 2001.
- 25- JONES, R.C., 2000. **Avian reovirus infections.** *Rev. Sci. Tech.* 19, 614–625.
- 26- KHAN, Mazhar I. et al. **MOLECULAR DETECTION OF ANIMAL VIRAL PATHOGENS.** New York: Crec Press, 2016. Disponível em: <http://www.crecpress.com>. Acesso em: 24 maio 2018.
- 27- KINDLEIN, Giselle. **A influência da alimentação com diferentes níveis de vitamina E e selênio sobre a produção de imunoglobulina Y (IgY) no soro de poedeiras leves vacinadas contra ESCHERICHIA COLI e ENCEFALOMIELEITE AVIARIA.** 2002. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.
- 28- LABRADA, L., Bodelon, J., Viñuela, J., Benavente, J., 2002. **Avian reoviruses cause apoptosis in cultured cells: viral uncoating, but not viral gene expression, is required for apoptosis induction.** *J. Virol.* 76, 7932–7941.
- 29- LESSON, S. **Nutrition of the chicken.** 4. ed. Guelph: University Books, 2001. 591 p.
- 30- MAHGOUB, H. An overview of infectious bursal disease. *Archives Virology.* 157:2047-2057. 2012.
- 31- MARTINS, P. C.; SILVA, P. L. Encefalomielite aviária. In: JÚNIOR, A. B.; SILVA, E. N.; FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves.** 2ª edição. Editora FACTA. Campinas, 2009. p. 763-773.
- 32- MEMORIAS, 2018, Athens, Georgia. **Seminario internacional patologia y produccion aviar.** Athens, Georia: Amevea, 2018. 453 p.
- 33- MICHELL, Bruna Cypreste. **DOENÇA DE GUMBORO: INFLUÊNCIA DOS ANTICORPOS MATERNOS SOBRE AS VACINAÇÕES IN OVO,**

- INJETÁVEL E NA ÁGUA DE BEBIDA E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE.** 2007. 44 f. Tese (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- 34-MINEO, Jose Roberto et al. **MANUAL ILUSTRADO DE PRATICAS LABORATORIAIS EM IMUNOLOGIA.** Uberlandia: Edufu, 2016.
- 35-NATIONAL RESERARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of poultry.** 9. ed. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1994. 155 p.
- 36-NOGUEIRA-DANTAS, E. O., FERREIRA, A. J. P., ASTOLFI-FERREIRA, C. S., et al. **Cloning and expression of chicken anemia virus VP3 protein in Escherichia coli.** Comp. Immunol., Microbiol. Infect. Dis. 30:133–142, 2007.
- 37-NOTEBORN, M. H. M. **Chicken anemia virus induced apoptosis: underlying molecular mechanisms.** Vet. Microbiol. 98:89-94, 2004.
- 38-PLANO SAFRA AGRICULTURA FAMILIAR. **Agricultura familiar e o desenvolvimento agrário.** Disponível em: <<http://www.mda.gov.br/sitemda/plano-safra-da-agricultura-familiar-20172020>>. Acesso em: 07 junho 2018.
- 39-REHAGRO. **Interações medicamentosas x eficácia nos tratamentos.** Disponível em: <http://rehagro.com.br/interacoes-medicamentosas-x-eficacia-dos-tratamentos/> Acesso em: 09 junho 2018.
- 40-REVOLLEDO, Liliana. **Patologia aviaria.** Barueri: Manole Ltda, 2009. 510 p.
- 41-RUTZ, F. et al. **Repleção com riboflavina em pintos Leghorndepletados neste nutriente.** Revista Brasileira de Agrociência, v. 4, n. 3, p. 197-200, 1998.
- 42-SANTOS, Carlos Henrique Carneiro. **Anemia infecciosa das galinhas.** Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/anemia\\_infecciosa\\_galinhas\\_000fy7gdc4k02wx5ok0pvo4k34nryjrt.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/anemia_infecciosa_galinhas_000fy7gdc4k02wx5ok0pvo4k34nryjrt.pdf) Acesso em: 09 junho 2018.
- 43-SCHAT K.A. Infectious anemia. In: Saif Y.M., Barnes H.J, Fadly A.M., Clisson J.R., McDougald L.R. & Swayne D.E. **Diseases of Poultry.** Ames Iowa State University 2003. 11. ed., p.182-202.

- 44- SHARMA, J. M. 2005 **Imunidade e doenças imunossupressoras de aves**. Disponível em: <http://www.avisite.com.br> Acesso em 29 maio 2018.
- 45- SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2., 2000, Santa Maria, RS. **Anais**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2000. 67p.
- 46- TODD, D., SCOTT, A. N. J., BALL, N. W., et al. **Molecular basis of the attenuation exhibited by molecularly cloned highly passaged chicken anemia virus isolates**. J. Virol. 76:8472–8474, 2002.
- 47- XIE Z, Qin C, Xie L, Liu J, Pang Y, Deng X, Xie Z, Khan MI (2010): **Recombinant protein-based ELISA for detection and differentiation of antibodies against avian reovirus in vaccinated and non-vaccinated chickens**. J. Virol. Methods 165, 108–111. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2009.12.008>
- 48- YANG ZJ, Wang CY, Lee LH, Chuang KP, Lien YY, Yin HS, Tong DW, Xu XG, Liu HJ (2010): **Development of ELISA kits for antibodies against avian reovirus using the  $\sigma$ C and  $\sigma$ B proteins expressed in the methylotropic yeast *Pichia pastoris***. J. Virol. Methods 163, 169–174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2009.07.009>
- 49- ZOETIS. **BULA TERRAMICINA LA**. Disponível em: <http://www.zoetis.com.pt/produtos/suinos/terramicina-la.aspx> . Acesso em: 09 junho 2018