

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

IGOR ALVES BATISTA

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA SOROPREVALENCIA DA BRONQUITE
INFECCIOSA E METAPNEUMVÍRUS AVIÁRIO E QUALIDADE DAS
RAÇÕES FORNECIDAS À GALINHAS CAPIRAS DE PEQUENAS
PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA-MG

UBERLÂNDIA- MG

2018

IGOR ALVES BATISTA

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA SOROPREVALENCIA DA BRONQUITE
INFECCIOSA E METAPNEUMVÍRUS AVIÁRIO E QUALIDADE DAS
RAÇÕES FORNECIDAS À GALINHAS CAPIRAS DE PEQUENAS
PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA-MG

*Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de
Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em
Medicina Veterinária.*

Orientado pela Prof^a. Dra. Belchiorina Beatriz
Fonseca

UBERLÂNDIA- MG

2018

IGOR ALVES BATISTA

**ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA SOROPREVALENCIA DA BRONQUITE
INFECCIOSA E METAPNEUMVÍRUS AVIÁRIO E QUALIDADE DAS
RAÇÕES FORNECIDAS À GALINHAS CAIPIRAS DE PEQUENAS
PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO 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. Ana Laura Grazziotin – UFU/MG

Profa. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca – UFU/MG

Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes – UFU/MG

Uberlândia, Dezembro de 2018.

“Quanto mais simplicidade Melhor o nascer do dia...”

Fernanda Takai

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por toda a oportunidade que ele me concede, aos meus pais Leila e Gilson por todo esforço pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Agradeço aos meus avôs Neusa e Aleixo, meus padrinhos Eduardo e Francisca Olivia, que são uns dos responsáveis assim como meus pais, por despertarem minha vontade em ingressar no curso de Medicina Veterinária.

Agradeço ao meu irmão Daniel apesar das nossas “opiniões diferentes”, e a toda minha família, que reside em Uberlândia que me ajudaram a me acostumar com a vida corrida nesta cidade.

Agradeço aos meus amigos que estão ao meu lado desde antes da faculdade e aos que fizeram amizade no primeiro ano de faculdade e que desde então essa amizade só tem fortalecido.

Agradeço também a professora Bia por ser minha orientadora, por não medir esforços para que esse trabalho acontecesse, por ter a oportunidade de conhece-la além da sala de aula, por aprender a “manias” dela, e pelas oportunidades.

Agradeço também a todos os residentes, os mestrandos e os doutorandos, que sempre agregaram algum conhecimento aos estágios realizados e pela convivência.

Agradeço também a todos os funcionários da UFU, que de uma forma indireta também estiveram envolvidos durante meu curso de graduação.

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu pai Gilson, a minha mãe Leila, pelo apoio, educação, conselhos, sem a ajuda deles minha formação não seria possível. Dedico também aos meus avôs maternos, Neusa e Aleixo, ao meu padrinho e madrinha, Eduardo e Francisca Olívia, por todos os aprendizados e exemplos de pessoas que são.

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Desenho esquemático do IBV.....</i>	16
<i>Figura 2. Média dos títulos sorológicos pela avaliação do ELISA das propriedades avaliadas para Bronquite Infeciosa das aves e Metapneumovírus Aviário.</i>	27
<i>Figura 3. Distribuição dos títulos em categorias para títulos de Metapneumovírus Aviário.</i>	28
<i>Figura 4. Distribuição dos títulos em categorias para títulos de Bronquite Infeciosa.</i>	28
<i>Figura 5. Correlação entre os títulos sorológicos para Metapneumovírus Aviário e Bronquite Infeciosa das Galinhas.</i>	29
<i>Figura 6. Aves apresentando sinais de doenças respiratórias: edema de face, muco na narina e boca.</i>	30
<i>Figura 7. Aves apresentando mau empenamento e dedos tortos.</i>	32
<i>Figura 8. Mapa das propriedades rurais caipiras, granjas industriais, incubatórios, frigoríficos da região.</i>	36

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Associação entre a presença de sinais respiratórios e títulos reagentes para o vírus da Bronquite Infeciosa.</i>	<i>30</i>
<i>Tabela 2. Associação entre a presença de sinais respiratórios e títulos reagentes para e o Metapneumovírus Aviário.</i>	<i>31</i>
<i>Tabela 3. Dietas fornecidas às aves nas propriedades.</i>	<i>32</i>
<i>Tabela 4. Níveis nutricionais encontrados nas dietas fornecidas as aves.</i>	<i>34</i>
<i>Tabela 5. Associação entre valores de PB inferior a 16% e problemas de empenamento das aves.</i>	<i>35</i>

LISTA DE SIGLAS

ABPA: Associação Brasileira de Proteína Animal

AMPV: Metapneumovírus Aviário

BIG: Bronquite Infecciosa das Galinhas

BRF : Brasil Foods

CEUA: Comissão de Ética na Utilização de Animais

EE: Extrato Etéreo

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FB: Fibra Bruta

HC: Ácido Clorídrico

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBV: Vírus da Bronquite Infecciosa

IPNV : Vírus da Necrose Pancreática Infecciosa

MAPA: Ministério da Agropecuária, Pecuária e Abastecimento

MM: Cinza ou Matéria Mineral

NaOH: Hidróxido de Sódio

PB: Proteína Bruta

PIB: Produto Interno Bruto

PNSA: Programa Nacional de Sanidade Avícola

SAGRI: Secretaria de Agricultura, Pecuária, Aquicultura, Pesca e Abastecimento

SCI: Síndrome da Cabeça Inchada

UFU: Universidade Federal de Uberlândia

VBIG: Vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVO.....	14
3.	REVISÃO LITERÁRIA	14
3.1.	BRONquite infecciosa das galinhas.....	15
3.2.	METAPNEUMOVIRESE AVIÁRIA.....	18
3.3.	EXAME SOROLÓGICO POR ELISA (<i>ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY</i>).....	19
3.4.	NUTRIÇÃO	20
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1.	AMOSTRAS	21
4.1.1.	SORO SANGUÍNEO.....	21
4.1.2.	EXAME SOROLÓGICO	22
4.2.	INGREDIENTES UTILIZADOS COMO ALIMENTO NAS PROPRIEDADES ...	22
4.4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
6.	CONCLUSÕES.....	37
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

RESUMO

A Bronquite Infecciosa das Galinhas e a Metapneumovirose Aviária são importantes doenças que causam perdas econômicas no setor avícola industrial, mas pouco se sabe sobre a relevância dessas doenças em aves caipiras. O *status* nutricional e de biossegurança de lotes caipiras são parâmetros pouco estudados e assim não se sabe o quanto essas variáveis interferem nas perdas econômicas de propriedades de subsistência. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a soroprevalência do IBV e AMPV em galinhas de subsistência de pequenas propriedades localizadas no município de Uberlândia-MG e realizar a associação entre a sintomatologias clínicas presentes nas aves. Além disso, determinar a análise nutricional de dietas oferecidas a estas aves e o mapeamento epidemiológico destas propriedades. Os resultados indicaram a presença de altos títulos sorológicos para IBV e AMPV havendo correlação entre os títulos das duas doenças. A presença dos altos níveis sorológicos não foram associados às manifestações clínicas de doença respiratória observadas no estudo. A dieta fornecida às aves da maioria das propriedades avaliadas apresenta níveis proteicos abaixo do recomendado havendo associação entre os níveis de proteína abaixo do mínimo preconizado e a presença de problemas de empenamento.

Palavras-chave: subsistência, sorologia, pneumovirose aviária, bronquite infecciosa das galinhas, análise nutricional.

ABSTRACT

Infectious Bronchitis of Chickens and Avian Metapneumovirus are important diseases that cause economic losses in the industrial poultry sector, but little is known about the relevance of these diseases in poultry birds. The nutritional and biosafety status of small farms are two parameters poorly studied and thus it is not known how these variables impact the economic losses of subsistence properties. The objective of this study was to evaluate the prevalence of IBV and AMPV sera in subsistence chickens located in Uberlândia-MG, Brazil, and to associate one variable to another. In addition, another aim was to evaluate the nutritional value of the diets offered to these birds and the epidemiological mapping of these properties. The results indicated the presence of high serological titers for IBV and AMPV, with a correlation between the titers for the two diseases. The presence of high serological levels was not associated with the clinical manifestations of respiratory disease observed in the study. The diet given to the birds of most inmost properties shows protein levels below the recommended one, with an association between protein levels below the recommended minimum and the presence of warpage problems.

Keywords: subsistence; serology; avian pneumovirus; infectious bronchitis of chickens; nutritional analysis.

1. INTRODUÇÃO

A avicultura industrial é uma atividade altamente tecnificada, tendo uns dos melhores índices zootécnicos do mundo, e encontra-se em posição de destaque no cenário mundial. É responsável por 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil, gerando cinco milhões de empregos diretos e indiretos (MAPA, 2014). O Brasil se destaca por ser o maior exportador e segundo maior produtor mundial de carne de frango do mundo (ABPA, 2018). Além de ser um importante exportador de material genético, exportando para os demais países da América do Sul, União Europeia, Ásia, África e Oriente Médio (ABPA, 2018). O estado de Minas Gerais é responsável por 7,88% da produção nacional de frangos e 40,09% das exportações de ovos brasileiros (ABPA, 2017). Uberlândia é um polo avícola e foi o quarto município que mais aumentou a produção no ano de 2016 (IBGE).

Paralela à avicultura industrial, a criação de aves caipiras é explorada em diversas regiões do país devido ao hábito cultural do consumo de carnes e ovos dessas aves. Não se sabe exatamente o que essa atividade representa para economia brasileira. Entretanto, há relatos que citam que o mercado brasileiro de aves alternativas está em expansão; empresas do setor têm crescido em média 15% a 20% (CANAL RURAL, 2014). Além da importância econômica, a produção de aves caipiras tem uma conotação social já que muitas vezes participa da subsistência das famílias criadoras. Apesar de estar em expansão, a criação das aves caipiras, nos terreiros das pequenas propriedades, não acompanhou a evolução tecnológica e, por isso, muitas vezes apresenta baixa produtividade e/ou alta mortalidade, em função da pouca qualidade genética, falta de cuidados higiênico-sanitários e da deficiência alimentar (EMATER, 2017). Muitos autores consideram a sanidade como o principal problema limitante para este tipo de criação (MOBERLY et al., 2004; THEKISOE et al., 2004).

Embora reconhecida a importância econômica e social da criação de aves caipiras, a sanidade desses animais podem representar um risco não só para os pequenos produtores de galinhas caipiras, mas também para avicultura industrial já que as aves caipiras podem representar uma fonte de infecção às aves industriais. A preocupação com a saúde das aves deve ser constante em especial na região do triângulo mineiro que é um polo rico de produção avícola industrial.

Somada à sanidade, outro empecilho para o desenvolvimento do setor caipira é alimentação das aves de subsistência. Em muitas propriedades são oferecidas dietas mal formuladas às exigências das aves, utilizando restos de alimentos e/ou algum tipo de ração

que nem sempre atende as exigências dos animais. Isso pode causar problemas como enfermidades nutricionais e metabólicas e/ou gerando baixo desempenho ou até mortalidade.

Dentre as principais doenças respiratórias que mais causam problemas na avicultura industrial pode-se citar Bronquite Infecciosa das Galinhas (BIG) causada pelo vírus da bronquite infecciosa ou *Infectious bronchitis virus* (IBV) e a Metapneumovirose Aviária (AMPV) causada pelo metapneumovírus aviário ou *avian metapneumovirus* (AMPV). Ambas tem grande importância econômica causando diminuição no ganho de peso em lotes de produção industrial. BIG e AMPV diminuem a produção de ovos e a qualidade de casca, além de aumentarem a taxa de mortalidade. Essas doenças representam perdas consideráveis na avicultura, uma vez que prejudicam o desempenho das aves. O controle das doenças acima mencionadas é baseado em medidas de biossegurança e vacinação, porém há 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.

Além do exposto acima, a necessidade de uma dieta que supra as exigências das aves em suas diferentes fases da produção é de extrema importância para que as aves possam ter um bom desempenho.

2. OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a soroprevalência IBV e AMPV em galinhas de subsistência de pequenas propriedades localizadas no município de Uberlândia-MG e realizar associação da soroprevalência às sintomatologias clínicas presentes nas aves. Além disso, determinar o valor nutricional das dietas de rações oferecidas às estas aves e o mapeamento geográfico destas propriedades.

3. REVISÃO LITERARIA

Nas últimas cinco décadas, nenhuma atividade agropecuária alcançou o alto crescimento em termos de produção e comercialização, e que tenha conquistado os mercados mais exigentes do mundo, do que a avicultura. Neste contexto, a indústria avícola utilizou tecnologias e técnicas de interação com a genética, manejo, meio ambiente, nutrição, saúde animal, bem-estar animal (MACARI et al., 2014).

A avicultura industrial brasileira conseguiu atingir um alto *status* de sanidade devido a rígidos controles de biossegurança, estabelecidos nas granjas e pela criação do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA). Uma das atividades regulamentadas no PNSA é o monitoramento sanitário nos plantéis de reprodução, bisavós, avós e matrizes. A IN nº 56/2007 alterada pela IN 8/2017 do PNSA estabelece o registro, a fiscalização e o controle de estabelecimentos avícolas de reprodução e comerciais. Entretanto, excluem-se da obrigatoriedade de registro os estabelecimentos avícolas que possuam até 1000 aves, desde que as aves, seus produtos e subprodutos sejam destinados a comércios locais intramunicipais (BRASIL, 2017).

Levantamentos feitos pela Secretaria de Agricultura, Pecuária, Aquicultura, Pesca e Abastecimento (SAGRI), na região de Uberaba-MG, dão conta de que pelo menos 70% dos empreendedores atuantes nos diversos segmentos agropecuários executam também a avicultura de fundo de quintal, parte dela com fins comerciais e a maior parcela para o consumo familiar e venda de excedente. Os números obtidos conduzem a uma movimentação financeira de aproximadamente R\$ 5 milhões por ano com a comercialização de matérias para a criação e produtos oriundos de aves caipiras (AVICULTURA INDUSTRIAL, 2016). O consumo de produtos de galinhas caipiras é uma cultura na maioria dos estados da federação em especial na região do Triângulo Mineiro, onde existem pessoas que fazem a exploração de subsistência ou vendem seus produtos muitas vezes sem registro, sem acompanhamento técnico e sem fiscalização.

3.1. BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS

A bronquite infecciosa é uma doença viral aguda, extremamente contagiosa do trato respiratório das galinhas (CAVANAGH & NAQI, 2003; CAVANAGH, 2005). A primeira descrição do BIG foi em 1931, nos Estados Unidos. Atualmente a doença é endêmica em praticamente todos os países que criam aves. (CAVANAGH & NAQI, 2003; CAVANAGH, 2005).

O vírus da BIG pertence ao gênero *Coronavirus*, família *Coronaviridae* e ordem *Nidovirales* (MONTASSIER et al., 2008). O agente etiológico da bronquite infecciosa, pertence ao grupo 3 do gênero *Coronavirus* (GUY, 2000; GONZALEZ et al., 2003; CAVANAGH, 2005). O genoma do IBV é constituído de RNA de 27,6 kDa de fita simples positiva, que codifica quatro proteínas estruturais. A nucleoproteína (N) está associada ao

genoma viral para formar o nucleocapsídeo (NC), enquanto as outras proteínas estruturais - projeções superficiais - *spikes* (S), proteína da membrana (M) e do envelope (E) - estão inseridas no envelope que circunda o nucleocapsídeo. As proteínas M e E são necessárias à formação da partícula viral (MCKINLEY et al., 2008). Um esquema do vírus pode ser visto na figura 1.

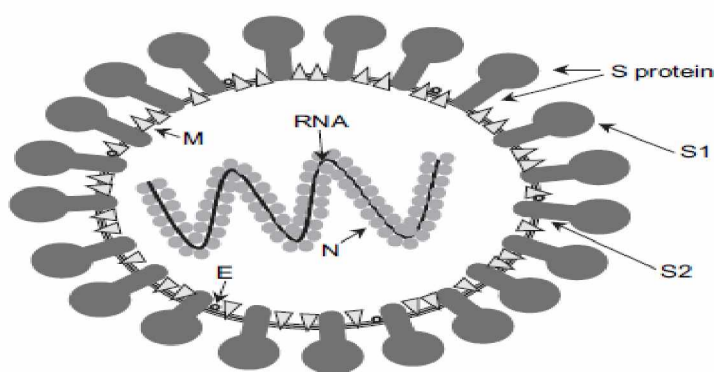


Figura 1. Desenho esquemático do IBV

Fonte: Dave Cavanagh (2005).

As diferenças entre sorotipos de IBV devem-se principalmente às variações na sequência de aminoácidos de duas regiões da subunidade S1 do envelope, chamadas regiões hipervariáveis. Diferenças sutis na composição de nucleotídeos do gene correspondente à S1 podem dar origem a novos sorotipos. A capacidade de mutação e recombinação de IBV e a pressão de seleção exercida pelo uso prolongado de vacinas vivas contribuem para o aparecimento de uma grande variedade de sorotipos e subtipos de IBV (DI FABIO & ROSSINI, 2000). A distância antigênica entre os vários vírus é classicamente avaliada pela neutralização por soro cruzado e levou a definição de inúmeros sorotipos e subtipos. Além destas variações antigênicas, há variações no tropismo destas variantes. Estes vários tropismos oferecem um meio suplementar de diferenciação de sorotipos (CAVANAGH, 1997), acredita-se que as alterações no gene correspondente a S1 e nas sequências de aminoácidos da glicoproteína E1 como determinante do tropismo e infectividade do IBV no hospedeiro natural (FERNANDO et al., 2013)

A transmissão horizontal é a forma de disseminação do vírus e a presença de vários sorotipos no mundo, também conhecidos como vírus variantes, dificultam o controle efetivo da doença (CAVANAGH & NAQI, 2003). O período de incubação é curto, de 20 a 36 horas, e a doença espalha rapidamente até afetar todas as aves do lote. O vírus pode ser excretado por tosse e espirros por 10 dias durante a fase clínica, e pelas fezes por até 30 semanas. O

nível de mortalidade é baixo, desde que não ocorra infecção bacteriana secundária, principalmente por *Escherichia coli* e *Mycoplasma* (BORNE & COMTE, 2003).

Os sinais variam de acordo com a multiplicação do vírus no tecido ou órgão, como espirros, estertores, dificuldade respiratória, lacrimejamento e edema facial (GELB, VOLLF e MORAN, 1991; DI FABIO et al., 2000; CAVANAGH, 2005). No tecido renal, observa-se nefrite e em seguida degeneração tubular com atrofia dos rins (CHONG & APOSTOLOV, 1982; ABDEL-MONEIM et al., 2006). No sistema reprodutivo da fêmea, observa-se queda de produção de ovos, ovos deformados, albúmen aquoso após infecção viral devido às lesões no epitélio do oviduto (COOK et al., 1996; IGNJATOVIC & SAPATS, 2000). Em aves de postura, os sinais clínicos parecem estar limitados ao sistema reprodutivo, afetando a produção e a qualidade de ovos (CHOUSALKAR, ROBERTS & REECE, 2007). Proventriculite também pode estar relacionada ao VBI (YU et al., 2001). No intestino, o vírus se replica no epitélio, causando enterite (AMBALI & JONES, 1990). Em machos, também foi relatada orquite, com queda de fertilidade, causada pelo VBI (BOLTZ et al., 2006).

Pouco se sabe a respeito da ocorrência e perdas causadas por VBI em criações de galinhas caipiras, uma vez que esse tipo de produção ainda não tem um apoio técnico veterinário adequado. A inexistência de sinais clínicos patognomônicos para a bronquite infecciosa, assim como a ocorrência de quadros subclínicos e atípicos, faz com que seja necessário o emprego de técnicas apropriadas que permitam, em tempo hábil, o diagnóstico da presença do VBI em aves infectadas (ASSAYAG JR. et al., 2004). Sendo assim, os sinais e o histórico clínico servem como norteadores para a realização de diagnósticos diretos ou indiretos do agente em questão.

O diagnóstico sorológico de infecções pelo VBI tem sido utilizado como uma alternativa mais rápida para o monitoramento de lotes comerciais e para a definição de medidas de biossegurança (CARDOSO et al., 2001; MUÑIZ et al., 2000). A infecção pelo VBI é sorologicamente detectada em aves pela demonstração de soroconversão usando pares de soros ou pela presença de Imunoglobulina M (IgM) específica para VBI (DE WIT et al., 2000). A detecção dos anticorpos no soro dos animais infectados é possível a partir de uma semana após a exposição ao vírus, podendo perdurar por 20 a 90 dias. Sendo assim, a ocorrência de resultados negativos pode ser atribuída ao fato de aves não apresentarem anticorpos circulantes no momento da colheita ou não ter dado tempo de iniciar a resposta humoral (DI FÁBIO & ROSSINI, 2000).

O ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) trata-se da técnica amplamente usada para monitoramento de desafios de campo de grandes plantéis comerciais, que ao detectar imunoglobulinas IgM e IgG ainda na primeira semana após infecção ou vacinação, constitui-se em um indicador de imunidade humoral, permitindo uma análise da resposta pós-vacinal e de infecção em aves (CAVANAGH & NAQI, 2003). Os testes ELISA têm diversas vantagens sobre outros testes de diagnóstico, dentre elas o seu alto limiar de detecção e por ser uma ferramenta quantitativa e de fácil aplicação (VIDAL & RAZIA, 2006).

3.2. METAPNEUMOVIROSE AVIÁRIA

Pneumovírus aviário pertence à família Paramyxoviridae, subfamília Pneumovirinae, gênero *Metapneumovirus*. O AMPV é um vírus RNA de cadeia única de sentido negativo que causa rinotraqueíte e/ou síndrome da cabeça inchada em aves (OWOADE A, 2008). A doença é, geralmente acompanhada por infecções bacterianas secundárias (HOSSEINI H, 2012). As infecções secundárias ou coinfeções com outros organismos podem piorar o quadro clínico (JONES R, 2013).

O AMPV foi relatado pela primeira vez no Sul da África em 1978 e mais tarde foi detectado na França, no Reino Unido, Israel, Ásia, Brasil e EUA. O AMPV é amplamente distribuído em todo o mundo, exceto na Austrália (AL-SHEKAILI T, 2015).

Assim como as outras doenças respiratórias o AMPV também é responsável por causar prejuízos econômicos na criação de aves em todo o mundo, tanto na produção de carne, quanto na de ovos. Tais perdas são representadas por gastos com medicamentos, aumento do índice de mortalidade, elevação dos índices de condenação de carcaças nos abatedouros, quedas da produção e incubação de ovos férteis, diminuição da espessura da casca de ovos e diminuição da viabilidade embrionária. A morbidade é geralmente alta, pois a doença é muito contagiosa. Contudo, a mortalidade varia de acordo com a severidade de quaisquer infecções bacterianas, que compliquem a infecção inicial (BORNE E COMTE, 2003).

A transmissão ocorre de forma horizontal, não havendo evidências de transmissão vertical. A difusão do vírus pode ser facilitada pelo ar, pessoas, animais silvestres e veículos, sendo mais evidente nas aves criadas em galpões do que naquelas mantidas em gaiolas, permitindo sugerir que o contato físico seja um importante fator na transmissão da doença (OLIVEIRA, 2004).

Existem quatro subtipos distintos de AMPV: A, B, C e D. Os subtipos A e B estão espalhados por toda a Ásia, Europa, África e América do Sul. Relatos de infecções pelos os subtipos C e D são infrequentes. Até hoje, o subtipo C tem sido relatado na França, na Coreia e nos EUA, e o subtipo D até agora só foi detectado na França (AL-SHEKAILI T, 2015).

Devido a sinais clínicos não específicos de infecções por AMPV, e pelo fato de o isolamento do vírus ser demorado, apresenta maior custo e fastidioso (COOK JKA, 2002), o diagnóstico é de difícil conclusão. Em perus, o vírus induz sintomas respiratórios caracterizados por edema facial, dificuldades respiratórias, descarga nasal e inchaço de pálpebras. Em frangos, os sintomas são parecidos, contudo o vírus é em geral menos virulento e menos contagioso que nos perus. Frangos de corte são razoavelmente suscetíveis à doença, porém o número de aves afetadas em geral permanece baixo. As condições na granja e a microbiota do ambiente determina a severidade das consequências da doença (BORNE E COMTE, 2003).

Pouco se sabe sobre a prevalência desta doença em aves caipiras. Um estudo realizado por Sales et al. (2010), na Bahia observaram a prevalência de 69,78% de anticorpos contra metapneumovirus aviário, em aves de fundo de quintal.

3.3. EXAME SOROLÓGICO POR ELISA (*ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY*)

A sorologia é um exame laboratorial que tem como objetivo a mensuração das reações antígeno-anticorpo pelo uso do soro sanguíneo, 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 (TESSARI & CARDOSO, 2011). Consiste em detectar e quantificar a presença de anticorpos para um determinado agente (TESSARI & CARDOSO, 2011).

A detecção de anticorpos é a melhor opção para diagnosticar uma infecção, uma vez que o agente infeccioso tende a ser eliminado com a evolução do quadro (TESSARI & CARDOSO, 2011). Após a eliminação do agente apenas anticorpos permanecem e servem como prova de que a infecção ocorreu (TESSARI & CARDOSO, 2011). Assim, pode-se afirmar que a sorologia representa um método indireto para o diagnóstico de infecções (TESSARI & CARDOSO, 2011). A sorologia é utilizada para fins de diagnóstico, para a saúde e o monitoramento epidemiológico, e para monitorar as vacinações (BORNE E COMTE, 2003).

A técnica de ELISA é utilizada com o objetivo de detectar ou medir o nível de anticorpos (ELISA indireto) ou antígenos (ELISA direto) (TESSARI & CARDOSO, 2011). É uma técnica que possui alta especificidade e sensibilidade, bem como rápido processamento de múltiplas amostras (TESSARI & CARDOSO, 2011). Com o auxílio da sorologia pode-se determinar o perfil sorológico de um plantel avícola, a partir daí, pode-se avaliar se ele esteve exposto ao agente infeccioso em questão (TESSARI & CARDOSO, 2011).

Para a realização do diagnóstico deve-se 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, 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 37⁰C. Após esse período é realizada outras três lavagens e posteriormente é adicionado um conjugado enzimático. Geralmente a enzima de escolha é a peroxidase; e realizado nova incubação. Após estas etapas é adicionado o substrato enzimático OPD (cromógeno) e a interrupção da reação enzimática acrescentando água destilada. Em seguida é realizada a leitura do teste, sendo a atividade enzimática (intensidade da cor) proporcional à concentração de antígeno e anticorpo ligado e mensurado pelo espectrofotômetro (leitora de placas), com emissão de luz no comprimento de onda adequada para cada cromógeno. A concentração do anticorpo presente na amostra testada pode ser determinada por comparação da coloração do produto da reação de uma curva-padrão conhecida (MINEO et al., 2016).

O resultado pode ser expresso como um título ELISA, pela aplicação de uma fórmula matemática que transforma as densidades óticas em “títulos”. A transferência de resultados do espectrofotômetro, para um programa adequado transforma os dados em uma apresentação “amigável” dos resultados para todas as amostras de um lote (BORNE E COMTE, 2003).

3.4. NUTRIÇÃO

A produção industrial de aves sofreu enormes avanços nos últimos anos, assumindo caráter de importância fundamental para a economia de nosso país. Grande parte deste crescimento está associado ao conhecimento do valor nutricional dos ingredientes das rações e das exigências nutricionais dos animais nas diferentes fases produtivas, bem como em melhorias de manejo e ambiência (HORACIO S. ROSTAGNO, 2007).

O conhecimento da composição química e energética dos ingredientes utilizados na formulação de rações é necessário para que se produzam rações com níveis nutricionais

adequados para suprir as exigências dos animais, sem excesso ou deficiência, e permitir máxima produtividade (MELLO et al., 2009). Existem vários fatores que podem alterar as exigências nutricionais das aves, como raça, linhagem, sexo, consumo de ração, nível energético da ração, disponibilidade dos nutrientes, temperatura ambiente, umidade do ar e estado sanitário, além de outros (ROSTAGNO, H.S. et al. 2017)

Em geral, as aves recebem diferentes rações de acordo com a idade, fato importante, pois durante o crescimento das aves ocorrem alterações nas exigências nutricionais das mesmas. No Brasil são utilizados, principalmente, os programas de três fases (inicial, crescimento e terminação), de quatro fases (inclusão de uma ração pré-inicial) e ainda o programa de cinco fases, com uma pré-inicial e duas de crescimento (PESSÔA et al., 2011).

Existe a possibilidade do uso de programas de alimentação múltiplos (“*phase-feeding*”), nos quais um grande número de dietas é fornecido às aves durante sua criação, porém vale ressaltar que a divisão em muitas fases pode se tornar inviável economicamente, devido ao maior trabalho (PESSÔA et al., 2011). Os níveis nutricionais utilizados em cada fase representam o valor médio da exigência para a fase avaliada, isto significa que no princípio da fase as aves recebem dieta com nível subótimo do nutriente e no final o recebem em excesso (PESSÔA et al., 2011).

4. MATERIAIS E MÉTODOS.

Foram coletadas amostras de sangue de 200 galinhas com idade entre 12 e 56 semanas em 19 propriedades rurais que exercem a prática de criação de aves caipiras na região de Uberlândia-MG, de março a outubro de 2018. Todas essas propriedades são carentes de assistência técnica veterinária. Embora as técnicas utilizadas nesse trabalho sejam da rotina da produção de aves, a pesquisa foi submetida ao CEUA sob o número de 036/18.

4.1. AMOSTRAS

4.1.1. SORO SANGUÍNEO

As amostras de sangue foram obtidas pela punção do sangue pela veia ulnar, com agulhas e seringas estéreis e descartáveis, e estocados em tubos para coleta à vácuo com ativador de coágulo (sílica), devidamente identificados.

Estas amostras foram armazenadas 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 realizada a pipetagem do soro sanguíneo com o auxílio de pipetas automáticas e ponteiros individuais e em seguida, encaminhadas para o Laboratório de Saúde Animal para análise sorológica pela metodologia ELISA.

4.1.2. EXAME SOROLOGICO

Para o teste ELISA indireto foi utilizado o *kit* comercial (IDEXX) em que a amostra foi colocada em placa para sensibilização. Após a sensibilização, as placas foram lavadas com substância tampão. Em seguida, foi adicionado o soro das aves e incubado à 18-26⁰C por 30 minutos. Após esse período, foram realizadas lavagens e posteriormente, foi adicionado um conjugado enzimático e realizada nova incubação, seguida de lavagens. Após estas etapas, foi adicionado o substrato enzimático e realizada nova incubação por 15 minutos a 18-26⁰C. A reação foi interrompida acrescentando a Solução de Interrupção (IDEXX, 2012).

A leitura do teste foi realizada com base nos resultados obtidos no espectrofotômetro por densidade ótica e pelos valores de absorbância. Os cálculos dos títulos foram automaticamente realizados pelo *software* fornecido pela empresa (IDEXX).

As amostras de soro com titulações maiores que 396 foram consideradas positivas e podem indicar vacinação do plantel ou sua exposição à IBV e AMPV (IDEXX, 2012).

4.2. INGREDIENTES UTILIZADOS COMO ALIMENTO NAS PROPRIEDADES

As amostras dos ingredientes utilizados na alimentação das aves foram coletadas em uma quantidade aproximada de 200g em cada propriedade, posteriormente estas amostras foram devidamente identificadas e encaminhadas para o Laboratório de Análise de Matéria Prima e Ração – LAMRA-FAMEV da Universidade Federal de Uberlândia-MG. Em seguida as amostras foram moídas em moinho de faca e peneira de um milímetro para posteriores análises de Umidade e Matéria Seca (MS), Proteína Bruta (PB), Extrato Etéreo (EE), Fibra Bruta (FB), Cinza ou Matéria Mineral (MM).

4.2.1. MATÉRIA SECA

A determinação da MS e da umidade das amostras foi realizada pesando-se o cadinho vazio em balança analítica com aproximação de 0,0001g (que previamente ficou em estufa a 105°C por 2 horas) esse valor foi anotado, em seguida 1g de amostra foi pesada. Esse peso foi

anotado e o cadinho com a amostra foi levado para estufa regulada a 105°C, deixando-o por cerca de 12 horas. Após o tempo decorrido, o cadinho foi retirado da estufa, colocado em dessecador e pesado quando alcançou a temperatura ambiente, obtendo o peso do cadinho+amostra seca. Com as medidas de peso foram calculadas a porcentagem de MS e Umidade existente na amostra.

4.2.2. PROTEÍNA BRUTA

A PB foi determinada pelo método de KJELDAHL. O ensaio é baseado na digestão da amostra nitrogenada com ácido sulfúrico concentrado, em presença do catalisador. Este método se baseia em três etapas: digestão, destilação e titulação. O nitrogênio da amostra é transformado em sulfato de amônia por digestão ácida, e em nitrogênio amoniacal por destilação em meio alcalino. O nitrogênio então é quantificado por titulação em ácido padronizado.

Pesou-se 0,20g de cada amostra que foi transferida para os tubos de digestão, e acrescentado 1g da mistura catalítica (94% de sulfato de potássio, 5% de sulfato de cobre e 1% de selênio), 4 ml de ácido sulfúrico. Então colocados no bloco digestor e elevada a temperatura até o máximo de 150 °C, e digerido por 2 horas.

Após o esfriamento adicionou – se de 5 a 10 ml de água destilada, e agitada para que ocorresse a dissolução, em um tubo de *erlenmeyer* adicionou-se 20 ml de ácido bórico a 4%. No destilador foi colocado 20 ml de NaOH 50%, e destilado por arraste mantendo o terminal do condensador mergulhado na solução até toda a amônia ter sido liberada, recolhendo 120 ml destilado, e realizada a titulação do *erlenmeyer* com HCl 6,25%.

Fórmula:

$$\% \text{PROTEÍNA} = \frac{(V_{\text{HCl}0,2}) \times N_{\text{HCl}} \times 0,014 \times 6,25}{P \text{ amostra (g)}} \times 100$$

4.2.3. EXTRATO ETÉRIO

A determinação do EE foi realizada pelo método de SOXHLET. Este método determina o total de substâncias solúveis em solventes orgânicos, sendo essas substâncias os acilgliceróis, os ácidos graxos livres, o colesterol, a lecitina, a clorofila, os álcoois voláteis, óleos voláteis e as resinas.

Para a determinação de EE foi pesado 1,5g de cada amostra em papéis filtros, e fechados os papéis filtros em forma de cartucho, posteriormente pesado os frascos *Reboler*

(limpos e secos a 105° e resfriados em temperatura ambiente) e anotado a massa. No extrator do tipo SOXHLET, foram colocados os cartuchos com as amostras nos suportes do extrator. Foi, então, adicionado éter etílico nos *Rebblers* e encaixados no extrator.

Deixando a extração por 2 a 3 horas após a fervura do éter, fechando as válvulas do extrator para a recuperação do solvente. Após a evaporação de todo o éter os copos foram retirados e levados a estufa a 105°C por no mínimo 2 horas, e então retirados com auxílio de uma pinça e colocados em um suporte de madeira para atingirem temperatura ambiente e pesados.

O calculo do EE foi realizado com o uso da fórmula:

$$\%EE = [(C - B)] \times 100$$

A = peso da amostra; B = peso do reboler; C = peso do reboler + gordura extraída.

4.2.4. FIBRA BRUTA

A fibra bruta é o resíduo insolúvel que se obtém após o tratamento sucessivo da amostra com ácidos e álcalis diluídos a quente, que representa a fração que contém celulose, hemicelulose, lignina e suberina dos ingredientes. O teor de fibra bruta está relacionado à fração indigestível e por consequência à energia, entretanto por si só não representa o valor nutricional do ingrediente. A fibra bruta tem relação com a qualidade do ingrediente para processamento e com a densidade.

Para a obtenção da FB, foram utilizados saquinhos de 5x5 centímetros de tecido não tecido, identificados com lápis 6B, posteriormente esses saquinhos foram pesados e anotados suas massas (A). Posteriormente pesou – se 1g de cada amostra e colocado nos saquinhos e anotado a massa (B), e depois foi realizada a selagem dos saquinhos.

Em seguida os saquinhos foram encaixados no suporte e introduzidos no determinador de fibra, adicionado a 2 litros de solução ácida (ácido sulfúrico 1,25 %), deixando por 30 minutos após o equipamento ter atingido 90 °C.

Após o tempo, o equipamento foi desligado e escoada toda a solução ácida. Posteriormente, foram adicionados 2 litros de água destilada e ligado a equipamento por mais 15 minutos, esse procedimento foi realizado duas vez.

Depois da lavagem com água destilada foi então adicionado 2 litros de solução básica (hidróxido de sódio 1,25%), ligado o equipamento de contados 30 minutos depois de atingido 90 °C. Após os 30 minutos foi desligado o equipamento e escoado a solução.

Os saquinhos foram retirados do equipamento e realizadas duas lavagem com acetona e depois água destilada. E colocados a Estufa de Circulação de Ar a 80°C por no mínimo 6 horas e depois colocado na estufa a 105°C por uma hora.

Depois da estufa os saquinhos foram colocados no dissecador para atingirem a temperatura ambiente e em seguida pesados.

Foi feita então, a identificação e a pesagem dos cadinhos e em seguida colocado cada saquinho, respectivamente, no interior de cada cadinho, e levados à Mufla por 3 horas a 550°C. Depois a Mufla foi desligada e aguardada uma hora antes de abrir o equipamento, posteriormente os saquinhos foram colocados no dissecador e esperado atingirem temperatura ambiente, e pesados com as cinzas.

E então feito os cálculos com a fórmula:

$$\%FB = (C - A) - D / B \times 100$$

A = massa do saquinho; B = peso da amostra; C = peso cadinho / peso do saquinho / peso da amostra; D = peso cadinho / cinzas

Cinza ou Matéria Mineral é o resíduo inorgânico resultante da queima da amostra a uma temperatura de 550 a 600°C, fornecendo dados da quantidade de minerais totais contidos nos produtos de origem vegetal, animal ou de misturas. As cinzas foram calculadas junto com a FB.

4.3. VERIFICAÇÃO GERAL DA BIOSSEGURANÇA, SINTOMATOLOGIA CLÍNICA, MANEJO E MAPEAMENTO GEOGRÁFICO DAS PROPRIEDADES

Para compreensão do manejo empregado pelos produtores, foi utilizado um questionário abordando a alimentação e limpeza das instalações. Adotou-se ainda a inspeção visual para análise das condições sanitárias do ambiente e das aves. Características gerais das aves também foram observadas como presença de dedos e pernas tortas, dificuldade de locomoção, e alterações e/ou sintomatologia clínica relacionada ao sistema respiratório.

Também foi realizado o mapeamento geográfico das propriedades para o conhecimento da proximidade com granjas industriais.

4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

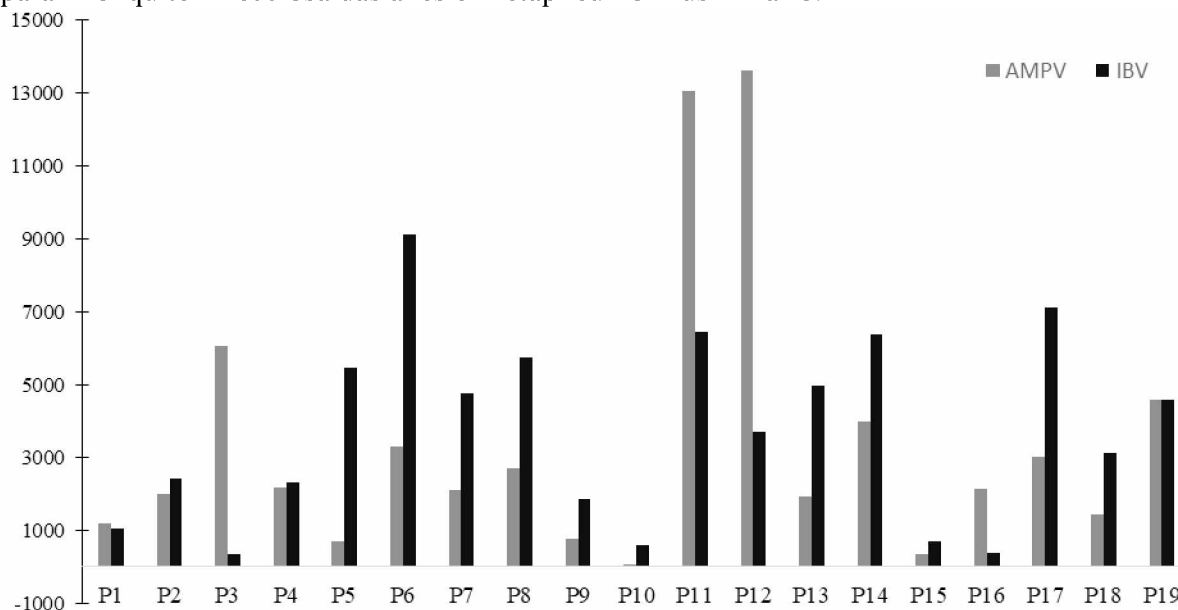
Foi realizada análise estatística descritiva para avaliação da soroprevalência pelo teste de média e desvio padrão. A avaliação da associação foi feita pelo teste de qui-quadrado seguido

pela razão de odds e análise da correção feita pelo teste de correlação de *Spearman*. Para a construção do histograma dos níveis sorológicos, os títulos foram divididos em categorias conforme indicado pelo fabricante dos kits de ELISA. Assim, as categorias foram divididas nas seguintes categorias: 0: Títulos de 0 a 396 (considerado negativo), 1: Títulos de 397-1000, 2: Títulos de 1001 a 2000, 3: Títulos de 2001 a 3000, 4: Títulos de 3001 a 4000, 5: Títulos de 4001 a 5000, 6: Títulos de 5001 a 6000, 7: Títulos de 6001 a 7000, 8: Títulos de 7001 a 8000, 9: Títulos de 8001 a 9000 e assim por diante. O grau de confiança foi de 95% usando o programa Graph Pad Prism 7.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Das 19 propriedades investigadas havia um total de aproximadamente 2112 aves. Entretanto, foi coletado sangue de 200 aves entre as idades de 12 a 56 semanas. Das propriedades visitadas, apenas quatro haviam realizado vacinação anteriormente, sendo a P5 (bouba, bronquite, New Castle e Gumboro) P9 (bouba e New Castle), P17 (New Castle, bouba, Marek, coriza, bronquite, gumboro) e a P19 (New Castle, Bouba Marek, Coriza e Bronquite). Não se sabe exatamente se as aves avaliadas haviam sido vacinadas para as doenças acima mencionadas. O que se sabe é que houve vacinação nessas propriedades citadas aproximadamente 6 e 12 meses anteriores à coleta. A média dos títulos sorológicos das propriedades avaliadas para as duas doenças que afetam o sistema respiratório estão descritas na figura 2.

Figura 2. Média dos títulos sorológicos pela avaliação do ELISA das propriedades avaliadas para Bronquite Infecciosa das aves e Metapneumovírus Aviário.



As médias foram construídas em aves de 12 a 54 semanas de idade

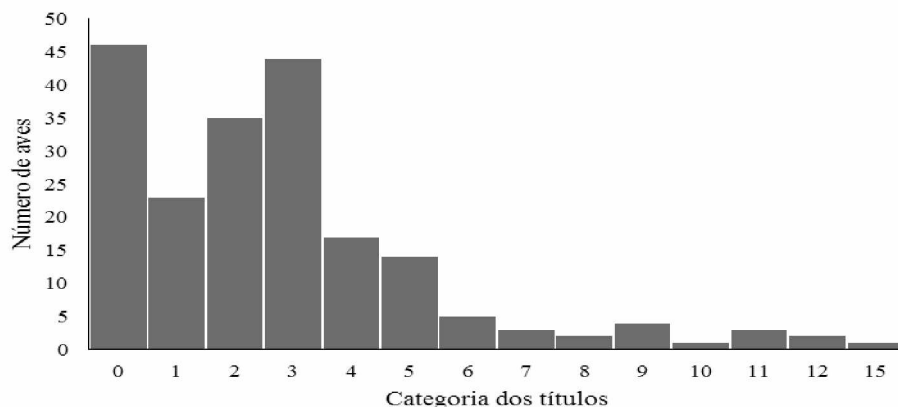
Pela orientação do fabricante dos kits de ELISA valores de titulação igual ou acima de 397 são consideradas positivas. Dessa forma quando se avalia média populacional é possível notar que as propriedades P10 e P15 os animais apresentaram títulos para metapneumovírus e P3 e P16 não apresentaram títulos para bronquite infecciosa das galinhas. As propriedades P3, P11 e P12 foram as que mais apresentaram reação para AMPV, enquanto as propriedades P6, P11, P14 e P17 apresentaram maior reação para IBV. Embora reagente para bronquite infecciosa, as propriedades P10 e P15 apresentaram os menores índices de títulos quando se considera a análise de ambas as doenças.

Vale destacar que os lotes antes vacinados para IBV (P5, P17 e P19) têm títulos sorológicos similares ou até abaixo daqueles não vacinados. Isso indica que os altos títulos sorológicos verificados para IBV e também AMPV podem estar relacionados à presença dos vírus de campo nos plantéis caipiras. Vale levantar a hipótese de que a proximidade entre os plantéis caipiras e a avicultura industrial (figura 8), amplamente vacinada contra IBV e AMPV, pode ser a origem do contato entre os vírus estudados e as galinhas caipiras. Outra hipótese possível seria a presença de vírus de campo originários dos lotes caipiras que poderiam representar um risco para as granjas industriais. Seria necessário o isolamento e avaliação de epidemiologia molecular para confirmar uma das especulações.

Além da avaliação da média dos títulos sorológicos foram construídos os histogramas para melhor avaliação das doenças nas propriedades. Para isso os títulos foram divididos em

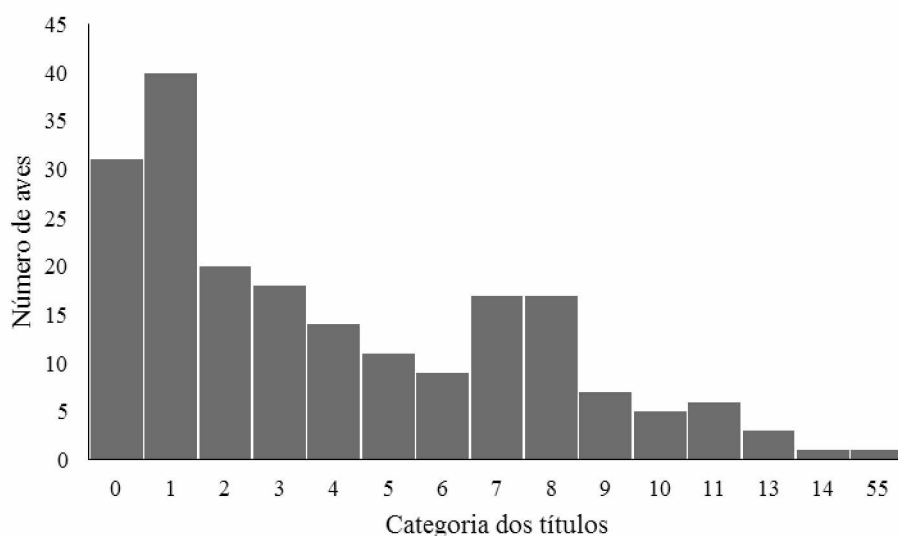
categorias exatamente como recomendado pelo fabricante. Um histograma geral títulos sorológicos para AMPV e IBV podem ser visualizados nas figuras 2 e 3 respectivamente.

Figura 3. Distribuição dos títulos em categorias para títulos de Metapneumovírus Aviário.



*As categorias foram divididas da seguinte forma: 0: Títulos de 0 a 396 (considerado negativo). A partir da categoria 1 os títulos são considerados positivos: categoria 1: Títulos de 397-1000, 2: Títulos de 1001 a 2000, 3: Títulos de 2001 a 3000, 4: Títulos de 3001 a 4000, 5: Títulos de 4001 a 5000, 6: Títulos de 5001 a 6000, 7: Títulos de 6001 a 7000, 8: Títulos de 7001 a 8000, 9: Títulos de 8001 a 9000 e assim por diante.

Figura 4. Distribuição dos títulos em categorias para títulos de Bronquite Infecciosa.



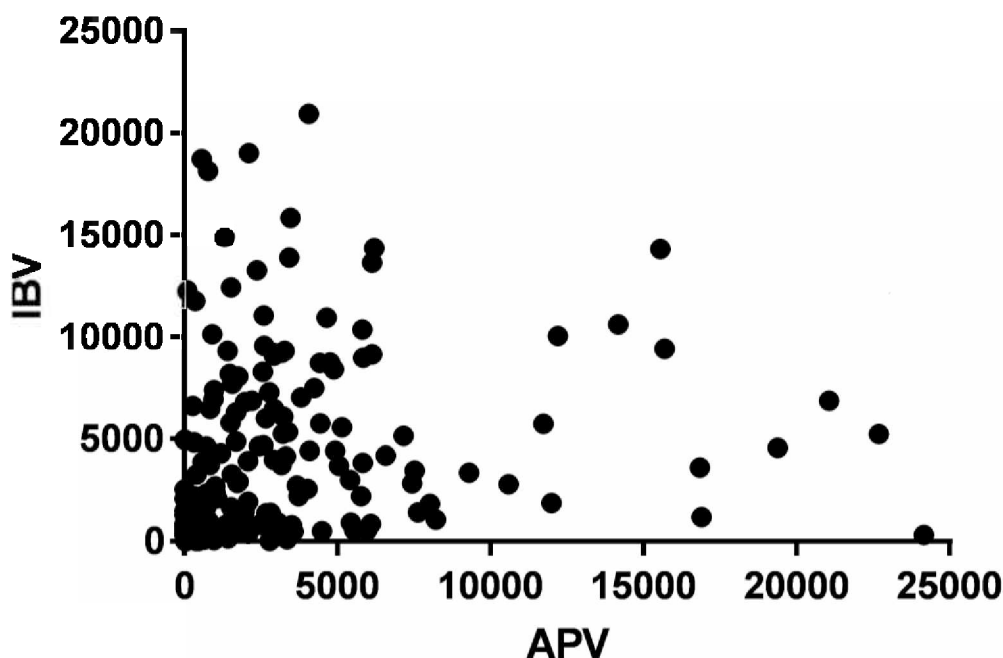
*As categorias foram divididas da seguinte forma: 0: Títulos de 0 a 396 (considerado negativo). A partir da categoria 1 os títulos são considerados positivos: categoria 1: Títulos de 397-1000, 2: Títulos de 1001 a 2000, 3: Títulos de 2001 a 3000, 4: Títulos de 3001 a 4000, 5: Títulos de 4001 a 5000, 6: Títulos de 5001 a 6000, 7: Títulos de 6001 a 7000, 8: Títulos de 7001 a 8000, 9: Títulos de 8001 a 9000 e assim por diante.

Pela orientação do fabricante dos *kits* de ELISA utilizados neste trabalho recomenda – se que os valores de titulação a partir de 1 sejam considerados positivos para AMPV tanto para IBV. Dessa forma pode ser observado um número alto de aves reagentes para as doenças pesquisadas. Para AMPV 45 apresentaram foram negativas para AMPV e 155 aves

apresentaram titulação positiva entre 1 a 15 títulos. Já para IBV, apenas 30 aves apresentaram titulação negativa e 170 aves tiveram título positivo. O histograma para AMPV apresentou um desvio mais à direita quando comparado ao IBV mostrando que houve um maior número de aves em contato com o IBV em relação ao AMPV.

Ao realizar a análise de correlação entre os títulos sorológicos para os dois vírus foi encontrada correlação positiva ($p < 0,001$ $r = 0,447$) (figura 4)

Figura 4. Correlação entre os títulos sorológicos para Metapneumovírus Aviário e Bronquite Infecciosa das Galinhas.



A correlação positiva entre os títulos sorológicos para os dois vírus pode levantar várias especulações para investigações futuras e melhor entendimento dessas doenças no campo. Uma primeira hipótese é que tanto o AMPV (COOK, 2000) como o IBV (MATTHIJS ET AL., 2003) podem ser agentes primários e assim um dos agentes pode “abrir porta” para o outro agente.

Outra hipótese é relacionada a biossegurança. Como esses lotes de aves caipiras são criados em condições de baixas biossegurança e não há nenhum controle sanitário, pode haver transferência horizontal (CAVANAGH & NAQI, 2003; OLIVEIRA, 2004) de ambos os vírus por vetores como pássaros, outros animais, seres humanos ou contato com ração, água, equipamentos e veículos contaminados.

Na avaliação de ocorrência de sinais clínicos de doença respiratória nas propriedades P1, P2, P5, P9, P12, P14, P15, P17, P18, foram observado sinais como ronqueira, presença de muco nas narinas e boca e edema de face. Aspectos de alterações respiratórias podem ser observados na figura 6.



Figura 5. Aves apresentando sinais de doenças respiratórias: edema de face, muco na narina e boca.

Fonte: Arquivo Pessoal

Foi então realizada uma análise de associação entre a presença de sinais clínicos do sistema respiratório e os títulos sorológicos para ambas as doenças. Na análise não houve associação entre os títulos sorológicos e os sinais clínicos observados (tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Associação entre a presença de sinais respiratórios e títulos reagentes para o vírus da Bronquite Infecciosa.

	Reagente para IBV	Não reagente para IBV	Associação
Ronqueira	6	0	Não há associação ($p>0,999$)
Ausência de ronqueira	11	2	
Secreção nasal	8	0	Não há associação $p>0,485$
Ausência de secreção nasal	9	2	
Cabeça inchada	2	0	Não há associação $p>0,999$
Ausência de cabeça inchada	15	2	

Tabela 2. Associação entre a presença de sinais respiratórios e títulos reagentes para e o Metapneumovírus Aviário.

	Reagente para APV	Não reagente para APV	
Ronqueira	6	0	Não há associação $p>0,999$
Ausência de ronqueira	11	2	
Secreção nasal	7	1	Não há associação $p>0,999$
Ausência de secreção nasal	8	1	
Cabeça inchada	2	0	Não há associação $p>0,999$
Ausência de cabeça inchada	15	2	

Uma possível razão para ausência de sinais clínicos nestas aves é a possibilidade da doença subclínica. Embora a doença subclínica não cause alta morbidade ou mortalidade, essa condição pode ser um fator predisponente a outras doenças.

Outra possibilidade é a ocorrência de outras doenças também causadores sintomas respiratórios não estudadas neste trabalho como, por exemplo, a Micoplasmose Aviária, Coriza Infecciosa das Galinhas, entre outras.

Ainda deve-se destacar que a análise realizada nessas aves foi apenas no dia da visita. Ou seja, há possibilidade de as aves terem se recuperado da sintomatologia clínica restando apenas os títulos sorológicos. De qualquer maneira, os resultados desse trabalho mostram que as aves entraram em contato com os vírus pesquisados. O que representa a presença desses vírus para os problemas respiratórios das propriedades caipiras ou para a avicultura industrial deve ser objeto de estudos futuros. Em especial para o IBV que é um vírus importante quando se considera sua capacidade de mutação e recombinação (DI FABIO & ROSSINI, 2000).

De acordo com o questionário das análises de biossegurança pode-se verificar que a higiene é inadequada e que as aves vivem em péssimas condições ambientais. Observou-se ainda a criação de aves de outras espécies em dezesseis das dezenove propriedades investigadas. Entre as espécies, podemos citar patos (*Cairina moschata momelanotus*), perus (Meleagris), pavão (*Pavo cristatus*), galinhas d'angola (*Numida meleagris*), gansos (*Anser anser*) e marrecos (*Anas querquedula*), codornas (*Coturnix coturnix*), emu australiano (*Dromaius novaehollandiae*), além de espécies de aves silvestres como mutum (*Cracinae*), Saracura-do-brejo (*Aramides saracura*).

Uma alteração comumente percebida nas propriedades é a presença de dedos tortos e mau empenamento em aves de qualquer idade (figura 7).



Figura 6. Aves apresentando mau empenamento e dedos tortos.

Fonte: Arquivo Pessoal

A alimentação das aves destas propriedades é a base de milho quebrado, fuba de milho e farelo de soja e ração. Muitas das propriedades não tinham a nutrição adequada de suas aves usando somente quirela de milho, restos de hortaliças, sem a utilização de suplementação ou o uso de uma ração adequada para a fase de vida da ave, acarretando em problemas de mau desenvolvimento das aves. Uma síntese das dietas fornecidas às aves nas propriedades pode ser vista na tabela 3.

Tabela 3. Dietas fornecidas às aves nas propriedades.

PROPRIEDADES	DIETA
P1	um tipo de ração para todas as fases de criação
P2	quirera de milho
P3	quirera de milho
P4	quirera de milho e farelo de arroz
P5	um tipo de ração para todas as fases de criação
P6	resto de hortaliças, restos da alimentação humana e pastagem

P7	um tipo de ração para todas as fases de criação
P8	milho
P9	dois tipos de rações (crescimento e postura) para todas as fases de produção
P10	um tipo de ração para todas as fases de criação
P11	milho em grão
P12	um tipo de ração para todas as fases de criação
P13	milho e sorgo misturado
P14	ração misturada com milho e sorgo
P15	ração de formulação para bovinos em confinamento
P16	misturada com milho em grãos
P17	ração com milho e trigo misturados
P18	ração e milho misturados
P19	três tipos de ração (inicial, crescimento, postura)

Nas análises bromatológicas dos alimentos e rações fornecidos as aves nas propriedades pesquisadas, foram encontrados os seguintes níveis de bromatológicos vistos na tabela 4. As propriedades P17, P18 e 19 não foram possíveis à realização das análises.

Tabela 4. Níveis nutricionais encontrados nas dietas fornecidas as aves.

PROPRIEDADE	CINZAS%	FB%	PB%	EE%
PROP1	7,80	5,23	16,44	4,09
PROP2	2,26	2,16	12,63	4,10
PROP3	1,68	3,83	12,26	4,67
PROP4	3,26	3,54	21,84	2,51
PROP5	16,32	3,39	25,82	3,54
PROP6	1,93	2,26	22,66	6,50
PROP7	15,33	6,62	11,36	6,29
PROP8	6,53	4,34	20,98	3,90
PROP9 post.	14,52	5,93	27,83	3,79
PROP9 cres.	6,377	8,58	19,75	3,33
PROP10	5,13	2,82	20,26	1,19
PROP11	2,01	3,73	13,24	3,82
PROP12	8,43	3,99	12,98	1,78
PROP13	4,74	3,01	14,24	2,54
PROP14	4,20	2,48	11,90	1,80
PROP15	5,90	3,26	14,11	4,54
PROP16	9,62	6,52	25,65	2,55

Pouco se encontra na literatura a respeito das exigências nutricionais tanto para aquelas aves para corte como para aves produtoras de ovos a respeito de aves caipiras.

Conforme o sistema alternativo de criação de aves caipiras desenvolvido pela EMPRAPA, escrito por Barbosa et al. (2007), deve – se fornecer as aves dietas com teores de PB acima de 16% e de FB acima de 6%. De acordo com Dantas (2006), a aves caipiras destinadas a produção de carne durante a fase inicial do 1º ao 28º de vida a ração para esta fase deve conter entre 21% a 22% de PB, na fase de crescimento do 29º ao 56º recomenda – se entre 19% a 20 de PB, e na fase final a partir do 57º até o bate recomenda – se o fornecimento de uma dieta entre 16% a 17% de proteína.

Ainda segundo com Dantas (2006), as aves destinada a produção de ovos durante a fase inicial do 1º ao 42º dia de vida deve se fornecer uma dieta entre 21% a 22% de PB, durante a fase de crescimento do 43º ao 140º dia de viva pode se fazer o fornecimento de ração com 16% porém deve se acompanhado e controlar o ganho de peso das aves conforme a linhagem, Na Fase de postura a partir do primeiro ovo posto até o descarte da ave recomenda se o fornecimento de ração para postura com 16% de PB.

As aves desse estudo eram em sua maioria de dupla aptidão sendo exploradas tanto para produção de ovos quanto de carne. Dessa forma, embora seja difícil discutir os níveis ideias de proteína, pode se observar que pelo menos as propriedades P2, P3, P7, P11, P12,

P13, P14 e P15 não atenderam aos níveis de PB mínimo recomendado para as aves de 16%. Já a respeito do percentual de FB recomendado só as propriedades P7, P9_{cresc.}, P16 demonstraram percentual indicado conforme Barbosa et al. (2007).

Ao se construir uma tabela de contingência pode-se verificar a associação entre valores de PB abaixo de 16% e a alteração nas características das penas (tabela 5). O cálculo da razão de *odds* mostra que a presença de penas alteradas foi 31,5 vezes mais alta em animais com níveis de PB abaixo de 16%.

Tabela 5. Associação entre valores de PB inferior a 16% e problemas de empenamento das aves.

	PB<16%	PB>16%
Alteração de penas*	7	2
Penas normais	1	9

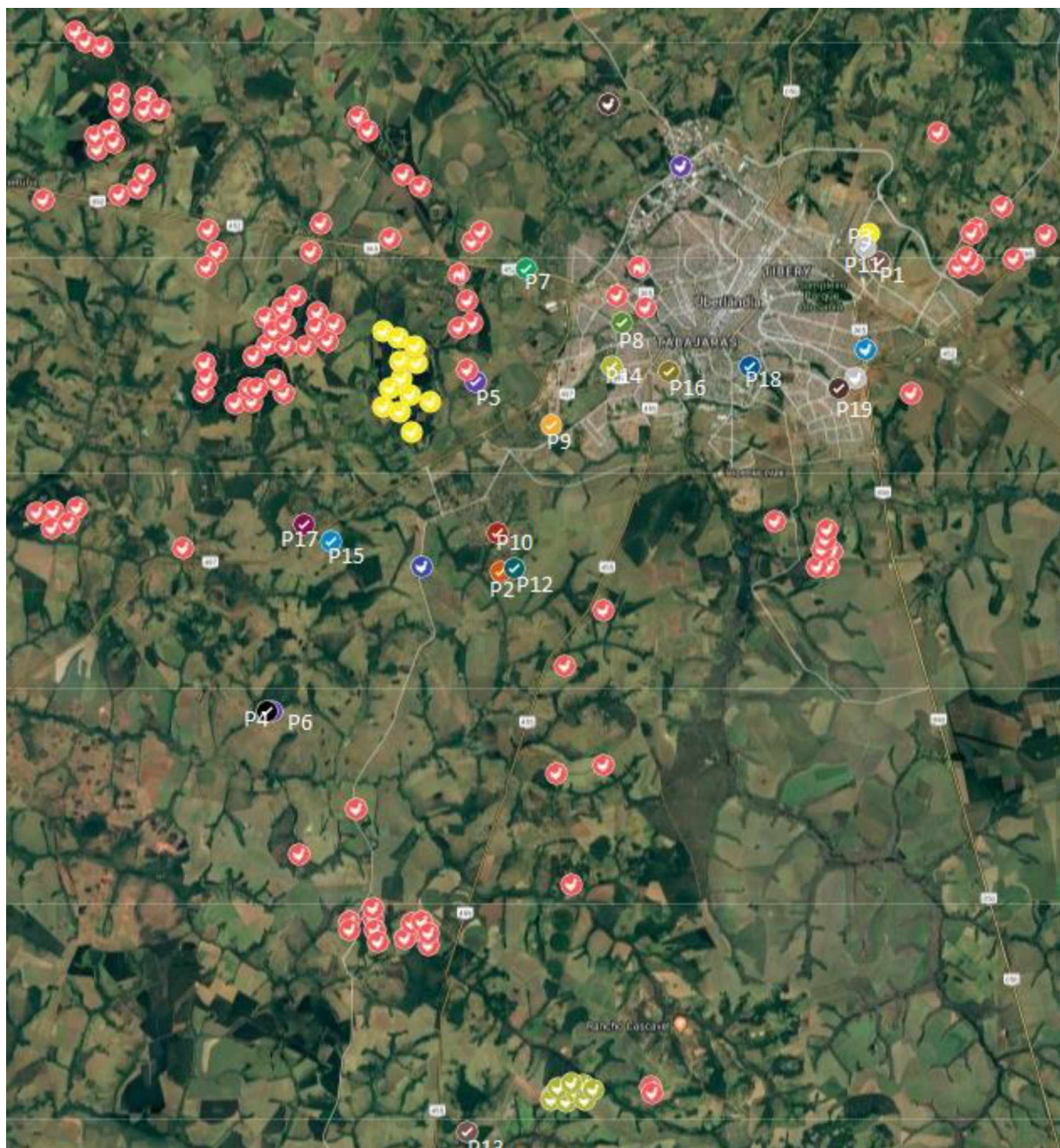
P=0,0055; RO = 31,5 *alterações de penas: mau empenamento e/ou penas tornas.

Há várias causas para problemas de empenamento das aves como ausência de minerais (zinco e selênio) e vitamina E (MATEOS et al., 2005). De acordo com Kalinowski et al. (2003), os níveis de metionina e cistina das rações podem influenciar o empenamento das aves. Portanto, qualquer alteração na composição de aminoácidos das proteínas das penas poderão causar um crescimento anormal das penas e/ou reduzir o empenamento.

Todas as propriedades fazem o ciclo completo de produção, entretanto, nenhuma faz o uso de uma formulação específica para cada fase de produção. Grande parte das propriedades fazem o uso somente do milho sem a devida suplementação com núcleos ou suplementos vitamínicos. A falta de nutrientes adequados às aves pode causar problemas de desenvolvimento, enfermidades metabólicas e/ou baixo desempenho podendo levar até morte.

Com o auxílio do *Google Maps*, foi realizada a montagem de um mapa que indica as localizações das propriedades caipiras e estabelecimentos avícolas industriais (Figura 8).

Figura 8. Mapa das Propriedades Rurais caipiras, Granjas industriais, Incubatórios, frigoríficos da região.



Os ícones “✓” representam as propriedades pesquisadas nesse estudo, os círculos verdes, amarelos com o desenho de uma galinha são estabelecimentos que exercem a atividade voltada a avicultura industrial de cores vermelha, amarela e azul (granja, incubatório, frigorífico respectivamente).

Todas as propriedades estudadas se encontram em um raio de 6 km até 500 metros de distância de estabelecimentos de atividades avícola industrial, indicando que todas as propriedades se encontram a uma distância próxima de produções industrial de aves, o que pode representar potencial fator de risco para a indústria avícola local, uma vez que todas as propriedades apresentaram altos títulos de anticorpos para as doenças investigadas. Entretanto

pode-se especular também que a ocorrência dessas doenças em planteis caipiras seja pela proximidade entre a avicultura industrial, amplamente vacinada contra IBV e AMPV. Estudos futuros devem focar na caracterização dos agentes encontrados nas criações caipiras para melhor avaliação epidemiológica dessas propriedades e o potencial risco para aves industriais.

6. CONCLUSÕES

Lotes de avicultura caipira da cidade de Uberlândia apresentam altos títulos sorológicos para IBV e AMP havendo correlação entre os títulos das duas doenças. A dieta fornecida às aves da maioria das propriedades avaliadas apresenta níveis proteicos abaixo do recomendado havendo associação entre os níveis de proteína abaixo do mínimo preconizado e a presença de problemas de empenamento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-SHEKAILI T, BAYLIS M, GANAPATHY K. **Molecular detection of infectious bronchitis and avian metapneumoviruses in Oman backyard poultry.** Res Vet Sci; 99: 46-52, 2015.
- ALVARADO, I. R. **Infectious bronchitis vírus: in vivo and in vitro methods of attenuation, and molecular characterization of fields strains.** Universidade da Georgia, Athens, p. 171. 2004.
- AMBALI, A. G, JONES, R. C. **Early pathogenesis in chicks of infection with an enterotropic strain of infectious bronchitis vírus.** Avian Dis., v. 34, p. 809-817. 1990.
- ARNS, C. W.; COSWIG, L. T.; MONTEIRO, M. C. G. B. Pneumovirose aviária. In: BERCHIERI JR, A.; MACARI, M. **Doença das aves.** Campinas: Facta, p. 359-363. 2000.
- Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA. **Relatório Anual 2017.** São Paulo, 2017, 68 p, Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/>>. Acessado em Abril de 2018.
- BARBOSA, F. J. V. et al. **Sistema alternativo de criação de galinhas caipiras.** 1ª edição. ed. Teresina, PI: EMBRAPA, 2007. 19 p. 2007.
- BECHT, H. **Infectious bursal disease virus. Current Topical of Microbiology and Immunology,** 90: 107-121, 1981.
- BOLTZ, D.A.; ZIMMERMAN, C.R.; NAKAI, M.; BUNICK, D.; SCHERBA, G.; BAHR, J.M. **Epididymal stone formation and decreased sperm production in roosters vaccinated with a killed strain of avian infectious bronchitis virus.** Avian Dis., v. 50, n. 4, p. 594-598, 2006.
- CARDOSO, T.C.; OLIVEIRA, C.; DA-SILVA, S.E.L.; FERREIRA, H.L.; PINTO, A.A. **Estudo comparativo de três diferentes modalidades de ELISA para medir os anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa em frangos vacinados e não vacinados.** Revista Brasileira de Ciência Avícola, v.3, n.1, Campinas, jan/apr 2001.

CAVANAGH D., NAQI S.A. **Infectious bronchitis**. In **Diseases of poultry**, 10th ed. CALNEK. B.W., BARNES H.J., BEARD C.W., McDOUGALD I.R et SAIF Y.M., EDS Iowa State University Press, Ames, p. 369 – 413. 1997.

CAVANAGH, D. & NAQI, S.. **Infectious Bronchitis**. In Y.M. Saif, H.J. Barnes, J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. McDougald & D.E. 2003.

CAVANAGH, D.. **Coronaviruses in poultry and other birds**. **Avian Pathology**, 34 , 439-448, 2005.

CAVANAGH, D.; NAQI, S. **Infectious bronchitis**. In BARNES, H. J.; FADLY, A.M.; GLISSON, J. R.; McDOUGALD, L. R.; SWAYNE, D. E. (Eds), **Diseases of Poultry**, 11th ed. Ames: Iowa State University Press, p.101-119. 2003.

CHOUSALKAR, K. K.; ROBERTS, J. R.; REECE, R. **Comparative histopathology of two serotypes of infectious bronchitis virus (T and N1/88) in laying hens and cockerels**. *Poult. Sci.*, v. 86, p. 50-58, 2007.

COOK JKA, CAVANAGH D. **Detection and differentiation of avian pneumoviruses**. *Avian Pathol*; 31: 117-132, 2002.

COOK, J. K.A. **Avian Pneumovirus Infections of Turkeys and Chickens**. *The Veterinary Journal*, 160:118-125, 2000.

COOK, J.K.; CAVANAGH, D. **Deteccion and differentiation of avian penumoviruses (metapneumoviruses)**. *Avian Pathol*, v.31, n.2, p.117-132, 2002.

COSGROVE, A.S. **An apparently new disease of chickens avian necrosis**. *Avian Diseases*, 6: 385-389, 1962.

DANI, M.A.C.; DURIGON, E.L.; ARNS, C.W. **Molecular characterization of Brazilian avian pneumovirus isolates: Comparison between immunochemiluminescent Southern blot and nested PCR**. *J Virol Meth*, v.79, p.237-241, 1999.

DANTAS, F. É. R. **Apostila De Criação De Frangos Caipiras**. Disponível em <<https://pt.slideshare.net/carpen2/criao-manejo-e-comercializacao-de-galinhas-caipiras-e-ovos?ref=http://criacaodeanimais.blogspot.com/2008/12/alimentao-de-galinha-caipira.html>> Acessado em 16 de novembro de 2018.

DE WIT, J. J. **Detection of infectious bronchitis virus**. **Avian Pathology**, v.29, p.71-93, 2000.

DI FÁBIO, J.; ROSSINI, L.I. **Bronquite Infecciosa das Galinhas**. In: BERCHIERI JUNIOR, A., MACARI, M. **Doença das aves**. Campinas: FACTA, p.293-300, 2000.

DOBOS, P.; HILL, B.J.; HALLETT, R.; KELLS, D.T.C.; BECHT, H.; TENINGES, D. **Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented doublestranded RNA genomes**. *Journal of Virology*, 32: 593-605, 1979.

ELE, L. E HANNON, GJ. MICRORNAS: **pequenos RNAs com grande papel na regulação gênica.** *Nat. Rev. Genet.* 5, 522-531, 2004.

EMBRAPA – **Validação do Sistema Alternativo de Criação de Galinha Caipira.** Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/AgriculturaFamiliar/RegiaoMeioNorteBrasil/GalinhaCaipira/index.htm>> Acessado em 04 de abril de 2018.

EMMANS. G.C. **Problems in modeling the growth of poultry.** *World Poultry Science Journal*, v.51, p.77-89, 1995.

FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, LA. **Virus Taxonomy**, p. 561-569, London: Elsevier Academic Press, 2005.

FERNANDO, F. S. ; SANTOS, R. M; SILVA, K; OLIVEIRA, E. S.; MONTASSIER , M. F. S.; MONTASSIER H. J. **DISTRIBUIÇÃO TECIDUAL E CARGA VIRAL DE UMA VARIANTE BRASILEIRA DO VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA (VBI) APÓS INFEÇÃO EXPERIMENTAL EM GALINHAS.** *Ars Veterinaria.*, v. 29, 2013.

GANAPATHY, K., WILKINS, M., FORRESTER, A., LEMIERE, S., CSEREP, T., MCMULLIN, P., JONES, R.C. **QX-like infectious bronchitis virus isolated from cases of proventriculitis in commercial broilers in England.** *Vet. Rec.* 171, 597, 2012.

GARMSAR I. **Phylogenetic study based on the gene of attachment protein (G) avian metapneumovirus from broiler breeder farm in Iran.** *Iran J Virol* 2013;7(3):7-11, , 2013.
GONZALEZ, J.M., GOMEZ-PUERTAS, P., CAVANAGH, D., GORBALENYA, A.E. & ENJUANES, L.. **A comparative sequence analysis to revise the.** 2003.

GUY, J.S.. **Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: a review.** *Avian Pathology*, 29 , 207 _/212, 2000.

Hirai, K. e S. Shimakura. **"Estrutura do vírus infeccioso da doença da bolsa."** *J Virol* 14 (4): p.957- 964, 1974.

HORACIO S. ROSTAGNO; SILVANO BÜNZEN; NILVA K. SAKOMURA; LUIZ F.T. ALBINO. **Avanços metodológicos na avaliação de alimentos e de exigências nutricionais para aves e suínos.** *Resvista Brasileira de Zootecnia.*, p.10, 2007.

HOSSEINI H, GHALYANCHI-LANGEROUDI A. **Detection and molecular characterization of avian metapneumovirus in Iran: The first report.** *Iran J Virol*; 6(2):26-31, 2012.

HUDSON, PJ, MCKERN, NM, POWER, BE E AZAD, AA. **Estrutura genômica do grande segmento de RNA do vírus da doença infecciosa da bolsa.** *Ácidos Nucleicos Res.* 14, 5001-5012, 1986.

IBGE – **CENSOAGRO.** Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br> Acessado em 28 de Agosto de 2018.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal**. Acessado em : < <https://www.ibge.gov.br/> >. Em abril de 2018.

JAGADISH, MN, STATON, VJ, HUDSON, PJ E AZAD, AA. **A poliproteína precursora do birnavírus é processada em Escherichia coli pelo seu próprio polipeptídeo codificado pelo vírus**. *J. Virol.* 62, p.1084-1087, 1988.

JONES R, RAUTENSCHLEIN S. **Avian metapneumovirus**. In: **Diseases of poultry**. 13th ed. Iowa, USA: John Wiley & Sons Inc. p.112-120, 2013.

KALINOWSKI, A.; MORAN JR., E.T.; WYATT, C. **Methionine and cystine requirements of slow- and fast-feathering male broilers from zero to three weeks of age**. *Poultry Science*, v.82, p.1423-1427, 2003.

KIBENGE, FS, MCKENNA, PK E DYBING, JK. **Clonagem de genoma e análise do segmento de RNA grande (segmento A) de um vírus de doença da bolsa infeccioso de vírus natural avirulento**. *Virology* 184, 437-440, 1991.

LIU, S. et al. **Evaluation of the protection conferred by commercial vaccines and attenuated heterologous isolates in China against the CK/CH/NDL/97I strain of infectious bronchitis coronavirus**. *Veterinary Journal*, v.179, n.1, p.130-136, 2009. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WXN-4R1NNNK-3&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=955095987&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=e7ef21e273140574217910a14f935975>. Acesso em: 02 de maio de 2018.

LIU, S.-W. & KONG, X.-G.. **A new genotype of nephropathogenic infectious bronchitis virus circulating in vaccinated and non-vaccinated flocks in China**. *Avian Pathology*, 33 , p.321-327, 2004.

LUKERT, P.D; SAIF, Y.M. **Infectious bursal disease**. In: Y.M. Saif, H.J. Barnes, J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. McDougald; D.E. Swayne. *Disease of Poultry* 11th ed. Ames: Iowa State Press. p.161-179, 2003.

MACARI, M; MENDES, A.A; MENTEN; J.F.M; NÄÄS, I.A.N. **Produção de Frangos de Corte**. 2 Ed. FACTA, 2014.

Mateos, G. G., Lázaro, R., Astillero, J. R., Serrano, M. P. **Trace mineral: what text books don't tell you**. In: **Re-defining mineral nutrition**. Taylor-Pichard and L. A. Tucker. ed. Nottingham University Press. p. 21-62. 2005.

MATTHIJS, M.G.R; VAN ECK, J.H.H; LANDMAN, W.J.M; Stegeman, J.A. **Ability of Massachusetts type infectious bronchitis virus to increase colibacillosis susceptibility in commercial broilers: a comparison between vaccine and virulent field virus**. *Avian Pathology*, 32:473 - 481, 2003.

MELLO, H.H. DE C., GOMES, P.C., ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., SOUZA, R.M. DE E CALDERANO, A.A. **Valores de energia metabolizável de alguns alimentos obtidos com aves de diferentes idades.** Rev Bras Zootecn, 38: p.863-868, 2009.

MINEO, JOSE ROBERTO et al. **MANUAL ILUSTRADO DE PRATICAS LABORATORIAIS EM IMUNOLOGIA.** Uberlandia: Edufu, 2016.

Ministério da Agropecuária, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Panorama da Avicultura Nacional e Perspectivas para o Setor 2014.** Brasília, 76 p, Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acessado em Abril de 2018.

MOBERLY, R.L., P.C.L. WHITE & S. HARRIS. **Mortality due to fox predation in free-range poultry flocks in Britain.** *The Veterinary Record* 155; p.48–52, 2004.

MONTASSIER, H.J. **Doença de Gumboro: Imunologia.** In: II Simpósio da Doença de Gumboro, FACTA, Campinas/SP, p37-45, 2001.

MONTASSIER, M.F.S. et al. **Genetic grouping of avian infectious bronchitis virus isolated in Brazil, based on RT-PCR/RFLP analysis of the S1 gene.** Pesquisa Veterinária Brasileira v.28, n.3, p.190-194, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v28n3/11.pdf>> Acesso em: 02 de maio de 2018.

MORGAN, MM, MACREADIE, IG, HARLEY, VR, HUDSON, PJ E AZAD, AA. **Sequência do pequeno segmento genômico de RNA de fita dupla do vírus da doença infecciosa da bolsa e seu produto de 90 kDa deduzido.** *Virology* 163, p.240-242, 1988.

MORLEY, A. J; THOMSON, D.K. **Swollen head syndrome in broiler chickens.** *Avian Diseases*, 28: 338-343. 1984.

MÜLLER, H.; SCHNITZLER, F.; BERNSTEIN, F.; BECHT, H.; CORNELISSEN, D.; LÜTTICKEN, D.H. **Infectious bursal disease of poultry: antigenic structure of the virus and control.** *Veterinary Microbiology*, 33: 175-183, 1992.

MÜLLER, H.; SCHOLTISSEK, C.; BECHT, H. **The genome of infectious bursal disease virus consists of two segments of double-stranded RNA.** *Journal of Virology*, 31; p.584-589, 1979.

MUÑIZ, F. G.; ESCORCIA, M.; PETRONE, V. M.; FEHERVARI, T.; QUINTANA, J. A. L.; ISAIAS, G. T. **Evaluación de tres protocolos de vacunación de explotaciones de pollo de engorda en el altiplano mexicano, mediante detección de anticuerpos y protección ante un desafío controlado con el virus de bronquites infecciosa.** *Vet. Méx*, v.31, n2, 2000.

OLIVEIRA C. 2004. **Controle da pneumovirose aviária via vacinas: a experiência brasileira.** Disponível em: <<http://www.avisite.com.Br/cet/1/23/index.shtm>> Acesso em: 23/03/2018.

OWOADE A, DUCATEZ M, HÜBSCHEN J, et al. **Avian metapneumovirus subtype A in China and subtypes A and B in Nigeria.** *Avian Dis*; 52(3): p.502-506, 2008.

PAN, J., LIN, L. E TAO, YJ. **A auto-guanilização de VP1 de birnavírus não requer um local de atividade da polimerase intacto.** *Virology* 395, p.87-96.2009.

PESSÔA, G. B. S.; TAVERNARI, F. C.; VIEIRA, P.A.; ALBINO, L. F. T. **Novos conceitos em nutrição de aves.** XXI Congresso Brasileiro de Zootecnia. Universidade Federal de Alagoas. 2011.

PITCOVSKI, J., GUTTER, B., GALLILI, G., GOLDWAY, M., PERELMAN, B., GROSS, G., et al. **Desenvolvimento e uso em larga escala da vacina VP2 recombinante para a prevenção de doença infecciosa da bolsa de galinhas.** *Vacina* 21, p.4736-4743, 2003.

QIN, Y. AND S. J. ZHENG. **Infectious Bursal Disease Virus-Host Interactions: Multifunctional,** 2017.

RAJ, G.D. & JONES, R.C. **Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken.** *Avian Pathology*, 26 , p.677-706, 1997.

RODRIGUES, O.; PEREIRA, R.A. **Diagnóstico clínico e envio de material ao laboratório.** In: II Simpósio da Doença de Gumboro, FACTA, Campinas/SP, p 67-73, 2001.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição e Exigências nutricionais.** 4 Ed.- Viçosa; Departamento de Zootecnia, UFV, 2017.

SALES, T.S; HERVAL, E.F.G; SILVA, P.S; LIMA, J.M; RAMOS, I; FERNADES, L.M.B. **Frequência de Anticorpos Contra Metapneumovírus Aviário em Criações Industriais e de Galinhas de Quintal no Polo Avícola da Bahia.**p. 3-6, 2010.

SANTOS, B.M.; MORAES, M.P.; BARRIOS, P.R.; MARIN, S.Y.; NASCIMENTO, W.M. **Ocorrência de doença infecciosa bursal após vacinação com vacina atenuada com baixa passagem.** *Arquivos do Instituto Biológico*, 71 (4): p.511-513, 2004.

SHARMA, J. M. 2005 **Imunidade e doenças imunossupressoras de aves.** Disponível em: <<http://www.avisite.com.br>> Acesso em 29 maio 2018.

SILVA, E.N.; ARNS, C.W.; SILVA, J. M. L. **Observações sobre a síndrome da cabeça inchada em matrizes pesadas no Brasil.** *Arq Bras Med Vet Zoot*, v.46, n.3, p.210-222, 1994.

STRICKER, RL, BEHRENS, SE E MUNDT, E.. **O fator nuclear NF45 interage com proteínas virais do vírus infeccioso da doença da bolsa e inibe a replicação viral.** *J. Virol.* 2010.

TESSARI, E.N.C; CARDOSO; A.L.S.P. **Importância do monitoramento sorológico na avicultura.** 2011. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2011_3/MonitoramentoSorologico/index.htm>. Acesso em: 08de junho de 2018.

THEKISOE M.M.O., MBATI P.A. & BISSCHOP S.P.R. **Different approaches to the vaccination of free ranging village chickens against Newcastle disease in Qwa-Qwa, Sout. Afric.** *Vet. Microb.* 10: p.23-30, 2004.

Uberlândia é o líder na suinocultura e avicultura. Disponível em <<https://www.suinoindustria.com.br/imprensa/uberlandia-e-o-lider-na-suinocultura-e-avicultura/20061220-100206-2405>> Acessado em 28 de abril de 2018.

VAN DEN BERG, T.P. **Acute infectious bursal disease in poultry: a review.** *Avian Pathology*, 29: 175-194, 2000.

VIDAL, C.E.S; RAZIA, L.E. **Interpretação dos resultados de testes ELISA para o diagnóstico de doenças.** Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/sgc_artigos/artigos_x7177s9r.html> Acesso em 12 Mar. 2018.

VILLARREAL, L.Y.B.; BRANDÃO, P.E.; CHACÓN, J.L.; SAIDENBERG, A.B.S.; ASSAYAG, M.S.; JONES, R.C.; FERREIRA, A.J.P. **Molecular Characterization of Infectious Bronchitis Virus Strains Isolated from the Enteric Contents of Brazilian Laying Hens and Broilers.** *Avian Diseases*, v.51, p.974-978, 2007.

WINTERFIELD, R.W.; HITCHNER, S.B.; APPLETON, G.S.; COSGROVE, A.S. **Avian nephrosis, nephritis and Gumboro disease.** *L & M News and Views*, 3: p.103, 1962.

YU L.; LIANG, Y.; LOW, S.; WANG, Z.; NAM, S. J.; LIU, W.; KWANGAC, J. **Characterization of three infectious bronchitis virus isolates from China associated with proventriculus in vaccinated chickens.** *Avian Dis.*, v. 45, p. 416-424, 2001.