

BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS

José Di Fábio
Médico Veterinário
difabio@dglnet.com.br
J.F.Laboratório
Campinas - SP – Brasil

Lavinia I. Rossini
Médica Veterinária
larossini@zipmail.com.br
J.F.Laboratório
Campinas - SP - Brasil

1. HISTÓRICO

A Bronquite Infecciosa das Galinhas é uma doença altamente infecciosa, de origem viral, de caráter agudo que acomete aves, em ambos os sexos, seja na criação para produção de carne, seja na criação para produção de ovos, nas mais diferentes idades, em praticamente todas as regiões do mundo onde existe Avicultura Industrial ou não.

Os sinais clínicos, lesões macroscópicas e histopatológicas são variadas, dependendo desde as condições ambientais e finalidade das aves, patótipos envolvidos, associação com outros patógenos, idade das aves, etc.

A Bronquite Infecciosa não é uma zoonose, não tendo maior significância na saúde humana até o momento (1999). Houve uma modificação substancial na forma de encarar esta enfermidade, na medida em que houve melhoria nas condições de diagnóstico, do melhor conhecimento dos vírus deste grupo, da pressão de seleção exercida por diferentes esquemas vacinais com diferentes cepas e inter-relação com outros patógenos dentro do mesmo processo, ou seja, as síndromes respiratórias, intestinais, etc.

2. ETIOLOGIA

A Bronquite Infecciosa das Galinhas é uma doença viral, de caráter agudo, altamente infecciosa que acomete os trato respiratório e genito-urinário das aves.

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

Este vírus pertence ao gênero *Coronavirus*, da família *Coronaviridae*. A esta família também pertencem os agentes da enterite transmissível dos perus, hepatite viral dos camundongos (MVH), gastroenterite transmissível dos suínos. (TGE) e gastroenterite transmissível dos cães. São descritos ainda, agentes da diarreia neonatal dos bezerros, gastroenterite dos potros, pneumonia dos ratos e em humanos. É um vírus que se dissemina rapidamente no organismo e aí permanece por muito tempo.

2.1 Morfologia

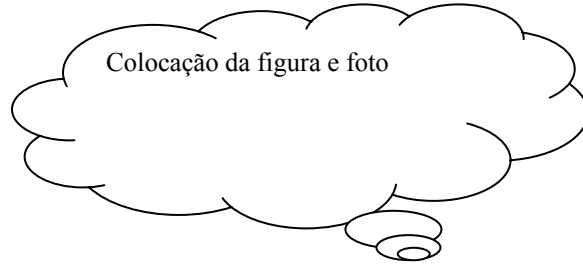
É um vírus envelopado, de cadeia de RNA de fita única, com simetria helicoidal. A composição de RNA é demonstrada por inibidores de DNA, que não interferem na multiplicação viral. O vírus é pleomórfico, com diâmetro que varia entre 90 a 200 nm. O envelope possui, externamente, proteínas na forma de espículas, que conferem ao vírus um aspecto de coroa. Daí o nome de *Coronavirus*.

Estruturalmente é constituído por três proteínas: nucleocapsídeo, glicoproteína de membrana e o peplômero (projeções superficiais). A seguir:

2.1.1 Projeções de membrana: são constituídas de aminoácidos, num total de 1160 distribuídos em duas subunidades: S1, com 520 aminoácidos e, S2 com 625 aminoácidos. Estes, estão inseridos na membrana e se projetam como se fossem espinhos. A fração S1 é responsável pela indução de anticorpos inibidores de hemaglutinação e anticorpos neutralizantes, relacionados à proteção viral. Esta porção sofre em recombinações aparentemente de um modo fácil, que resultam em diferenças detectáveis em testes de vírus neutralização (VN). A mutação nesta porção leva ao surgimento de novos sorotipos.

2.1.2 Nucleocapsídeo: glicoproteína que envolve o genoma viral (RNA). Líquidos alantóide de ovos inoculados com material suspeito são ricos de nucleocapsídeo.

2.1.3 Glicoproteína de membrana: tem importância no processo de recombinação natural entre os diferentes sorotipos de BI.



2.2. Características físico-químicas

2.2.1 Termoestabilidade: a maioria das cepas do vírus de BI é relativamente termosensível, sendo inativadas em 15 minutos a 56°C, variando no entanto, com a amostra. O líquido alantóide conservado a 30°C mantém-se vivo por 24 horas, permitindo-se também sua conservação em glicerina sem necessidade de refrigeração, o que facilita o seu envio a laboratório para análise. Tecidos infectados, se conservados e refrigeração por 80 dias, conservam o vírus. Exsudato traqueal seco, se conservado a 4°C, permanece infectado por 180 dias. Líquido alantóide se submetido a congelação e descongelação, contém um precipitado solúvel a 37°C, com alta concentração viral. Este mesmo líquido, se conservado a -20°C, permanece viável por muitos meses, não necessitando de conservante, apesar de alguns pesquisadores fazerem referência ao uso de glicerina a 50% e solução de glicose a 10%.

2.2.2 pH: o vírus é resistente ao tratamento com pH ácido (2,0) por 1 hora/37°C, o que o diferencia de outras amostras virais. pH 3,0 diminui a infectividade de 1 log até 5 log.

2.2.3 Desinfetante: o vírus da BI é sensível à maioria dos desinfetantes. Tripsina não tem efeito sobre ele. É sensível ainda à radiação UV.

2.2.4 Liofilização: conserva o vírus por um período de 30 anos se conservado em geladeira. Se submetido a 37°C perde sua infectividade após um período de 180 dias (forma de diferenciação de outros vírus, p.ex. DNV e Influenza Aviária).

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

2.2.5 Propriedade hemaglutinante: o líquido alantóide infectado com vírus de BI não apresenta atividade hemaglutinante em condições naturais, somente quando tratado com neuraminidase.

2.2.6 Sobrevivência em meio ambiente: têm-se feito estudos sobre sua sobrevivência em água, dado o seu uso para a administração de vacinas. Nela, a concentração de cobre a 0,2 mg/l e 5 ppm de Cloro a 25°C, diminuem drasticamente o tempo de sobrevivência. Ions Cloro a 1 ppm não tem efeito sobre o vírus. Nas estações do ano: primavera, 12 dias e inverno 56 dias.

3. TRANSMISSÃO

O vírus da BI é talvez, o vírus que se dissemina mais rapidamente entre as aves, não necessitando de vetores para sua transmissão, dando-se de ave doente à ave sadia, por contato direto ou indireto, em qualquer estágio respiratório. O local primário de replicação, independente da cepa, é no tecido epitelial do trato respiratório superior.

Em geral, os portadores podem transmitir o vírus até 2 meses depois da infecção inicial e as aves recuperadas da infecção permanecem susceptíveis a uma outra infecção por outro sorotipo.

Resumo da Transmissão:

1-Via aerossol: trato respiratório , 4 semanas em média

2-Via fezes: muitas semanas

3-Dentro de um lote: 18 a 96 horas, sendo que a transmissão por aerossol, 18 a 36 horas já existem sinais respiratórios.

4-Entre lotes: depende das condições de isolamento entre eles (idem a granjas)

5-Em granjas de múltipla idade a transmissão é rápida (2 a 5 dias). Lotes grandes podem apresentar aves em diferentes estágios de imunidade , em diferentes estágios de infecção.

4 - CLASSIFICAÇÃO VIRAL

As amostras do vírus de BI podem ser classificadas através dos diferentes sistemas sorológicos, como virusneutralização, anéis de traquéia, anticorpos monoclonais, HI e PCR.

Inicialmente as cepas variantes eram bem distintas dos sorotipos conhecidos. A capacidade de mutação e recombinação do vírus, além da pressão de seleção através do uso prolongado de vacinas vivas, contribuiu para o aparecimento através dos anos, de uma grande variedade de sorotipos e subtipos.

Uma classificação são os patotipos, ou seja, as amostras são classificadas segundo os órgãos mais lesados pelo vírus. Em média, dois ou mais sistemas são afetados, já que as amostras têm diferenças entre elas com relação à virulência e ao tropismo. A variação nos sorotipos deve-se a variações na seqüência do gene S1, localizadas nas regiões chamadas de hipervariáveis.

Muitos sorotipos são conhecidos e têm um significado prático para o seu controle, devido ao fato de a imunidade a uma infecção ou à vacinação estar relacionada ao sorotipo e não ter reação cruzada com outro sorotipo. Os mais conhecidos são os relacionados abaixo. Outras variantes antigênicas têm sido relatadas. Dentre as identificadas temos:

1- BEAUDETTE 66579: também conhecida por "Beaudette embryo lethal". Considerada como uma cepa mutante derivada da cepa Massachusetts. Em ovos férteis mata os embriões em 48 horas, sendo apatogênica para aves. É uma amostra usada como antígeno no teste de virusneutralização. Possui reação homóloga somente com o sorotipo Mass.

2- MASSACHUSETTS 82828: também conhecida como M41, IBV41 e VR21. Primeiro sorotipo a ser descrito. Acomete trato respiratório, reprodutivo e em menor grau o urinário. Altamente patogênica para o sistema reprodutivo de fêmeas, mas não para o trato urinário, mesmo estando presente em casos agudos de infecção.

3- CONNECTICUT: também chamada de IBV46, VR817. É a primeira descrição de sorotipo diferente do Mass, não tendo reação cruzada com este.

Também acomete o trato respiratório, porém é tida como menos patogênica do que esta. Apresenta as mesmas alterações microscópicas do que a Mass. Não são relatadas infecções no trato genito-urinário.

4- AMOSTRAS NEFROTRÓPICAS: as amostras pertencentes a este grupo são Gray and Holte, isoladas nos EUA e Holland (H). Esta última tem sua patogenicidade diminuída quando inoculada sucessivamente em ovos embrionados, o que permite sua aplicação em vacinas. Não perde no entanto, a afinidade pelo tecido renal. Nela identificam-se a H52 e H120, que fazem referência ao número de passagens em OE.

5- ARKANSAS: variante antigênica. Acomete trato respiratório e reprodutivo. Não relata infecção no trato urinário.

Existem descrições na literatura de novas cepas, com diferente tropismo e patogenicidade.

Não existe correlação entre sorotipo e patotipo, podendo estes, por vezes, serem sorologicamente distintos entre si. A imunidade cruzada produzida por alguns sorotipos do vírus de BI contra cepas antigenicamente distintas é conhecida. Atualmente não existe nenhuma amostra ou combinação de amostras vacinais de diferentes sorotipos que reproduzam proteção cruzada completa contra variantes emergentes.

Alguns trabalhos sugerem a possibilidade de uma nova classificação do vírus, não em sorotipos, mas em Protectotipos. Estes seriam amostras de vírus capazes de, através do teste de imunidade cruzada em anéis de traquéia ou aves SPF, conferir proteção contra sorotipos do mesmo grupo ou de grupos sorologicamente distintos. Essa idéia provém do fato que, somente algumas alterações de aminoácidos na glicoproteína S pode gerar o aparecimento de um novo sorotipo de BI. Portanto, a maior parte da estrutura viral permanece inalterada acarretando em reações cruzadas entre os sorotipos.

Uma avaliação prática da ocorrência desta reação cruzada pode ser feita através do teste de ciliostase em anel traqueal e recuperação do vírus a partir de aves vacinadas e posteriormente desafiadas com um vírus de BI. Pelo teste de anel traqueal a persistência do movimento ciliar comprova identidade entre as amostras virais.

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

Isto poderia reduzir significativamente o grande número de sorotipos, subtipos, agrupando-os em número muito menor. Há estreita correlação do teste "in vitro" e experimental "in vivo": (aves SPF), com imunoprofilaxia dos plantéis no campo permitindo uma melhor eficiência dos programas vacinais elaborados a partir deste sistema (produção de vacinas autógenas, p.ex)

5. SINTOMAS E LESÕES MACROSCÓPICAS

Mortalidade dificilmente ocorre. Se presente e, em níveis elevados, deve-se a infecções bacterianas secundárias, principalmente *E.coli*, que ocasiona um quadro septicêmico. Mortalidade devida somente ao vírus da BI ocorre quando a infecção dá-se nos primeiros dias de vida das aves ou, quando se dão por um vírus que tem tropismo pelo tecido renal. Em aves mais velhas dificilmente ocorre mortalidade, observando-se mais comumente quadros reprodutivos ou respiratórios.

5.1 Aves jovens

5.1.1. Sintomas respiratórios: se a infecção por vírus de BI não sofre complicação, os sintomas tendem a desaparecer entre 10-15 dias. Alterações patológicas variáveis ocorrem, como edema e exsudato catarral ou mucoso na traquéia e brônquios, congestão pulmonar, inflamação catarral ou fibrinosa nos sacos aéreos, pericardite e pleurite. Pintos muito novos apresentam inflamação catarral nas vias aéreas e dos seios, causando descarga nasal e lacrimejamento. Em alguns casos a coagulação do exsudato produz pus nos brônquios que levam à morte. O quadro de Síndrome de Cabeça Inchada, caracterizado por edema de barbela, sinusite, conjuntivite, pode estar associado ao vírus de BI. A mortalidade nestes casos depende da evolução dos sintomas, do número de partículas virais, cepa, e interação com agentes bacterianos como *E.coli*, *O. rhinotracheale*, *Bordetella*, *Pasteurella*. A aplicação de amostras vacinais pouco atenuadas inadequadamente aplicadas podem levar ao mesmo quadro da doença.

5.1.2. Sistema urinário: as amostras predominantemente nefrotrópicas como a amostra T, produzem de moderada a severa diarreia, desidratação e graves lesões renais como nefrite, nefrose e urolitíase. Neste caso, a mortalidade é um sinal clínico relevante.

5.2. Aves de postura (postura comercial e reprodutoras)

5.2.1 Sistema respiratório: não ocorrem ou, se ocorrem, é de forma discreta. Em casos de complicação bacteriana, os sintomas são os mesmos descritos para aves jovens.

5.2.2 Sistema urinário: as lesões vão de discretas (ligeiro aumento renal) a um quadro de urolitíase, que é uma condição de degeneração renal seguida de atrofia renal, fibrose, cálculos renais formados nos dutos coletores e ureteres de aves afetadas. Frangas de reposição são potencialmente afetadas com mortalidade variando de 2 a 50% ou mais. Aves mortas geralmente apresentam um quadro de gota úrica visceral.

Aves em produção em gaiola apresentam queda acentuada de produção, sendo que, muitas aves afetadas continuam a ser produtivas, se pelo menos 1/2 da massa renal permanecer funcional. Aves recuperadas podem apresentar gota úrica articular. Amostras nefrotrópicas como as amostras Gray and Holte e, mais recentemente a amostras Mw34, têm sido correlacionadas a estes quadros. Algumas cepas Mass podem causar esta condição de maneira moderada a severa. Especula-se que a urolitíase não seria uma interação de um vírus de BI, mas dietas altas em Ca e baixas de P. Restrição de água também não pode ser descartada.

5.2.3 Sistema reprodutor: fase de viremia. Algumas cepas podem atingir e lesar o sistema reprodutor e, associando à infecção bacteriana, observa-se uma produção de ovos com alteração de casca (fina e porosa) ou alteração no formato dos ovos. As quedas na produção podem ser representadas por oscilações na postura diária (lotes grandes, p.ex).

Altera-se também a qualidade da albumina do ovo, que pode se mostrar aquosa, com baixa viscosidade. Dependendo da idade de infecção das aves, o quadro lesional reprodutivo é irreversível, com o aparecimento de falsas poedeiras.

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

5.2.4 Sistema digestivo: amostras de Bronquite enterotrópica como a IBVG (amostra G), têm sido isoladas de plantéis com processo entérico associado à intensa diarreia, sintomas respiratórios como sem queda acentuada da produção de ovos. Nestes casos, a amostra Mass tem sido ineficiente no sentido de proteger as aves contra sinais e sintomas descritos. Uma vacina inativada fabricada a partir do sorotipo descrito tem sido eficiente na proteção dos plantéis acometidos.

6. LESÕES HISTOPATOLÓGICAS

Não existem lesões patognomônicas para o vírus de BI. Não se observam corpúsculos de inclusão. O exame histológico pode ser um recurso para se avaliar a virulência, a patogenicidade e avaliação de respostas imunes.

A nível de trato respiratório, seja em situações de desafio de campo ou inoculação, o que se nota é a ocorrência de diminuição dos cílios, descamação do epitélio, presença de células inflamatórias e presença de edema na porção da mucosa e submucosa. Observa-se ainda congestão vascular. Na submucosa vê-se vacuolização e hemorragia. O lúmen traqueal pode conter exsudato seromucoso, que pode ou não conter células inflamatórias.

A ausência de cílio e a descamação ocorrem nos primeiros dois dias de infecção, seja qual for a idade em que esteja ocorrendo a infecção. Em aves jovens o edema de submucosa é proeminente, com discreto infiltrado inflamatório. Em aves mais velhas, esse infiltrado já se apresenta mais intenso, talvez pela resposta imune da ave ser mais eficiente. Esse infiltrado celular, bem como a presença de edema, também tem relação com a amostra de vírus, pelo fato de ser mais ou menos virulenta. Infecções secundárias também podem ter interferência na presença de infiltrado.

No trato reprodutivo o que se pode observar é uma redução localizada ou generalizada de cílios, fibroplasia e edema, presença de focos de infiltrado celular mononuclear. No trato urinário observa-se como, lesão básica, nefrite intersticial.

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

7. IMUNIDADE

Para a prevenção e diagnóstico do vírus da BI é necessário se conhecer um pouco dos tipos de imunidade envolvidas. As classes de Ig envolvidas na resposta imune a uma infecção por vírus de BI são IgM, IgG e IgA.

1- IgM: é o primeiro Ac a aparecer após uma infecção atingindo uma alta concentração por volta do 7º dia pós-infecção. Podem persistir por 20 a 90 dias. É indicativo de infecção recente ou vacinação.

2- IgG: Ac de maior presença no soro após uma infecção, permanecendo por longo período. São os Ac que se medem na sorologia para diagnóstico de BI e em monitoração de plantéis.

3- IgA: Ac produzidos em secreções tais como secreção lacrimal ou salivar. Atua como primeira linha de defesa do organismo à infecção, principalmente no trato respiratório superior.

Os tipos de imunidade envolvidas são:

1- Imunidade de origem maternal: Ac IgG e IgM, na traquéia e circulantes. Protegem aves contra infecções precoces, porém de curta duração.

2- Imunidade local ou de mucosa: pelo estímulo da glândula de Harder nos órgãos linfóides paranasais, paraoculares e traquéia. Do tipo IgA e IgG. Protegem contra infecção respiratória primária.

3- Imunidade mediada por célula: parece ser tão ou mais importante quanto a imunidade local na proteção contra a doença.

4- Imunidade humoral: produzida por Ac associados à proteção contra viremia e consequentemente o envolvimento de outros órgãos como oviduto, ovário e rim.

Ao se falar em sistema imune não se pode deixar de mencionar o efeito imunossupressor que determinados agentes têm sobre ele. Aves infectadas por agentes imunossupressores apresentam uma diminuição da resposta imunológica, com diminuição da produção destas Ig, exacerbando os efeitos provocados pelo vírus da BI, p.ex. Interação com agentes como o vírus da Doença de Gumboro e *Cryptosporidium*, que atuam diretamente sobre a Bursa de Fabricius, vírus da Anemia Infecciosa das Galinhas, que atua sobre o timo, causam imunossupressão.

Tem-se relatado em frangos de corte, o isolamento de cepas patogênicas de Reovirus Aviário, que agiriam indiretamente como agentes imunossupressores. Isto pela interferência sobre a vacina de Marek aplicada ao primeiro dia, que por sua vez, tem efeito imunossupressor pela atrofia de órgãos linfóides primários (BF e timo). Substâncias antimicrobianas, tais como cloranfenicol, neomicina, estreptomicina, sulfonamidas podem ter o mesmo efeito, ou ainda agir diretamente sobre vacinas, diminuindo sua atividade imunogênica.

8. DIAGNÓSTICO

8.1 Presuntivo: baseado no histórico do lote e sinais clínicos. Feito mais no estágio inicial da doença, quando se mortalidade do lote, da queda nos níveis de produção de ovos. Torna-se um diagnóstico difícil pois, no início pode-se confundir com outras enfermidades respiratórias ou reprodutivas, ou ainda, com reações vacinais.

8.2 Diagnóstico direto: através de microscopia eletrônica e provas de imunofluorescência onde se observa o vírus em tecidos infectados.

8.3 Diagnóstico indireto:

8.3.1 Isolamento viral: feito a partir de órgãos infectados, sejam eles pulmões, rins, traquéia, tonsilas cecais. No início da doença respiratória pode-se optar pelo swab de muco traqueal. Pela afinidade do vírus com o trato intestinal, o isolamento de algumas amostras virais pode ser realizado a partir deste material, após algumas semanas do desaparecimento dos sintomas, o que faz com que não se considere o seu isolamento um processo infeccioso recente. Para o sucesso do isolamento, ele deve ser feito o mais breve possível, quando o lote manifesta sintomatologia clínica, tendo-se maiores concentrações virais. Além do momento da coleta, deve-se atentar também, ao adequado acondicionamento dos órgãos, seja por congelamento ou em solução de glicerina a 50%. Em casos de infecção de trato urinário opta-se pela coleta de fragmentos de traquéia, pulmão e rins. Para infecção do trato reprodutivo opta-se além de fragmentos de oviduto, tonsilas cecais e rins.

8.3.1.1 Inoculação em ovos embrionados: inoculação de macerado de órgãos em cavidade alantóide de ovos SPF, com idade entre 9 e 11 dias de incubação.

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

Observam-se alterações morfológicas nos embriões como nanismo, enrolamento depósito de urato nos mesonefrons e mortalidade embrionária. Constitui um método caro, laborioso e demorado, pois necessita da adaptação do vírus ao meio através de passagens sucessivas no substrato. O exame do embrião dá-se 7 dias após a inoculação. Há ainda, a possibilidade de isolamento de outros agentes que também podem ocasionar mortalidade embrionária, requerendo um teste diferencial.

8.3.1.2 Cultivo celular: inoculação em cultura de células renais de embrião de galinha, dispostas em monocamada, com a observação de efeito citopático e, em anéis traqueais (AT) onde se verifica o efeito de ciliostase. O número de passagens que se exige para a produção de efeito citopático em célula vai depender da cepa de vírus e da sua concentração no inóculo. Esta metodologia também requer uma adaptação do vírus, que pode ser feita inicialmente em OE. O efeito citopático visto é a formação de sincícios e picnose nuclear.

O isolamento viral em AT é uma prova mais rápida em relação aos OE, com leitura no 3º dia pós inoculação. Permite uma melhor tipificação do vírus. Constitui-se em uma cultura preparada a partir de traquéia de embriões de galinha com 20 dias de idade, com a manutenção individual de traquéia em tubos, movimentados a uma velocidade constante, que permite a manutenção do movimento ciliar. Microscopicamente vê-se uma ciliostase (parada do movimento ciliar) em um período de 72 horas pós-infecção. O grau de ciliostase vai de 0 (ausência de lesão) a 4 (ciliostase total). É um método que tem demonstrado ser muito eficiente no isolamento, titulação de amostras de campo.

Um ponto importante é que, seja qual for a metodologia empregada, o isolamento de vírus pode recuperar amostras de vírus provenientes de campo ou de vacina, não havendo distinção entre elas, o que é feito a partir de sorologia, confrontando-se com soros específicos ou através de biologia molecular.

8.3.1.3 Ensaio molecular (PCR): método baseado em biologia molecular, que utiliza princípios de hibridização e replicação de ácidos nucleicos, identificando microorganismos patogênicos, obtidos a partir de homogeneizados de órgãos de aves doentes ou de líquido alantóide de OE ou cultivo celular inoculados com material suspeito. É um método rápido e sensível para identificar sorotipo e

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

variantes de vírus de BI. O valor da prova de PCR é que ela traz a possibilidade de diferenciação futura entre vírus vacinais e vírus de campo. Hoje é utilizado como método auxiliar no diagnóstico de BI junto com outras provas.

8.3.1.4 Virusneutralização: neste teste há neutralização do vírus a partir de Ac conhecidos. Pode ser realizada tanto em OE como em cultivo celular. É uma técnica utilizada para identificar sorotipos de vírus conhecidos ou sorotipos diferentes de vírus conhecidos, pela variação na porção S1 do vírus.

O resultado é dado em índice de neutralização, que é o quociente do título do vírus-diluído pelo título-soro. O resultado é baseado no resultado obtido em aves saudáveis que é $10^{1,5}$. Assim, índices que têm como resultado até 1,5 são considerados como negativos. De 1,5 a 1,9 são considerados como suspeitos. Amostras que apresentarem resultados com índices de neutralização igual ou superior a 10^2 são considerados como positivos.

8.3.2 Sorologia: é o método mais utilizado para diagnóstico de BI, feito através de diluições seriadas do soro avaliando a ausência, presença e aumento no título de Ac em sorologias comparadas, propiciando com isso, o monitoramento de programas de vacinação ou possíveis infecções de campo. Identifica também, sorotipos existentes do vírus dependendo da técnica sorológica utilizada. Alguns dos procedimentos não se correlacionam devido a diferença entre os Ac detectados e medidos em cada um deles. P.ex.: todas as amostras de vírus de BI induzem produção de Ac precipitantes e os detectados por ELISA. Com relação à prova de virusneutralização, existem variações que são induzidas pelas unidades S1 (subunidades de glicoproteína S). Para análise sorológica é importante considerar o momento da coleta e, como já foi dito, o tipo de análise solicitada, pois dependendo do estágio da doença, a resposta do sistema imune produzirá um tipo de Ig.

8.3.2.1 ELISA: método imunoenzimático que, pela automação, permite a detecção e titulação de Ac em uma grande amostragem de soros ao mesmo tempo. A maioria das provas de ELISA que existe no mercado é específica para sorogrupos, ou seja, não diferencia sorotipos. Isto se deve ao fato de a

superfície da placa onde se dá a reação Ag-Ac, ser impregnada com suspensão viral na sua forma completa. A resposta então, dá-se a qualquer amostra de vírus. Detecta IgG e IgM, tornando-se portanto, um indicador de imunidade humoral, permitindo a análise de uma resposta pós-vacinação, de infecção (aves adultas) e de imunidade materna (aves jovens).

Os títulos obtidos neste teste devem, para pintos de 1 dia, variar entre 3000 e 6000. Para reprodutoras ou PC, variar entre 3000 e 10000. Leva-se em consideração nestas aves, a idade, o esquema de vacinação utilizado pela granja e a procedência do Kit.

8.3.2.2 Soroneutralização: detecta Ac produzidos pela fração proteica S1, portanto, prova sorotipo específica. Pode ser realizada em cultura de células ou em anel traqueal. A leitura tem como princípio o mesmo do isolamento do vírus em OE e CC, ou seja, a comprovação de alterações embrionárias e efeitos citopáticos. Requer um soro que não tenha reação cruzada com outro sorotipo. Os anticorpos neutralizantes são altamente específicos e responsáveis pelo efeito protetor do soro. Estão dirigidos contra determinantes antigênicos da superfície viral, que intervém no processo de adsorção à célula. Portanto, importante na caracterização viral. Os títulos observados são os seguintes:

1:20 - infecção em aves não vacinadas

1:40 a 1:320 - vacinação

1:640- doença

8.3.2.3 Inibição da hemaglutinação: prova sorológica qualitativa que pode ser empregada tanto para a identificação sorológica como no sorodiagnóstico do vírus. A identificação sorológica faz-se mediante a inibição da hemaglutinação de uma amostra viral por um soro-padrão. O sorodiagnóstico ao contrário, é a detecção no soro do animal, de Ac que inibem a hemaglutinação por um vírus específico.

O vírus da BI não é naturalmente hemaglutinante, como o vírus da DNV e da Influenza Aviária, necessitando de tratamento prévio com a enzima fosfolipase tipo C, para exposição das hemaglutininas, o que torna esta prova muito trabalhosa e de difícil padronização. Os Ac hemoaglutinantes são mais específicos que os

neutralizantes e também permitem a diferenciação de sorotipos. A resposta do vírus da BI por Ac hemoaglutinantes é rápida, ocorrendo dentro de 5-7 dias, atingindo um pique de resposta por volta dos 14 dias. Como título podemos observar as seguintes respostas:

- 1- entre 1:32 e 1:256- e reações cruzadas de diferentes sorotipos
- 2- ou igual a 1:32- infecção em aves não vacinadas
- 3- ou igual a 1:512- específicos para o sorotipo testado.
- 4- entre 1:16 e 1:32 com $SN\ 4\ \log_2$ e $5\ \log_2$ em frango de corte é considerado como vacinação
- 5- títulos entre 1:4 e 1:8 (corte) com $SN\ 4\ \log_2$, considera-se resposta fraca à vacinação.
- 6- poedeiras e reprodutoras que receberam vacina viva, com sorologia após 3 semanas, temos resposta de 1:32 a 1:128
- 7- poedeiras ou reprodutoras que receberam vacina oleosa após 3 semanas observam-se títulos que variam de 1:128 a 1:512.

8.3.2.4 AGP : prova rápida de baixo custo, qualitativa, baixa sensibilidade, que permite a visualização de resposta pela precipitação de complexos Ag-Ac em meio semi-sólido. Detecta principalmente IgM. A aplicação de vacina oleosa ou H 52 permite a reação positiva por até 30 dias. Em infecção natural a reação mantém-se por até 3 meses. Para a amostra H 120 observa-se uma baixa positividade. Resultados negativos podem ser falsos. Em lote de produção, resposta menor do que 33% significa vacinação anterior. Acima de 33% dos soros com resposta positiva provável desafio, associando-se a queda na postura ou a resposta à vacinação.

8.3.2.5 ELISA de captura com Ac monoclonais: são técnicas utilizadas para se detectar o vírus de BI diretamente de tecidos infectados ou a partir de OE ou cultura celular infectados. Os Ac monoclonais podem ser específicos a um sorotipo ou detectar o sorogupo. São produzidos por um clone isolado de Ig, definido quimicamente, que não sofre a variação existente entre animais ou no próprio animal.

9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL:

Existem outros agentes infecciosos que podem ocasionar os mesmos quadros clínicos observados na BI tais como: Doença de Newcastle (DN), Laringotraqueíte (LT) e Coriza Infecciosa (IC). Dentre estas existem sinais característicos que permitem diferenciá-las da BI. Na DN tem-se um quadro mais severo, com mortalidade elevada e ainda, por vêzes, sinais nervosos. A sua disseminação no plantel é mais rápida. Na LT a disseminação é mais lenta. Na IC observa-se um edema facial com descarga nasal serosa que, raramente ocorre na BI. Quadros reprodutivos, tais como queda na postura e alteração na qualidade dos ovos podem ser vistos na Síndrome da Queda da Postura (EDS). A diferença entre elas reside no fato de na EDS não se ter alteração da qualidade da albumina, o que ocorre na BI.

Ainda há que se considerar as interferências ambientais que podem ocasionar quadros respiratórios. Nos distúrbios reprodutivos, além de causas infecciosas, existem as causas nutricionais e as ambientais.

10. PREVENÇÃO E CONTROLE

O controle da BI está relacionado com prevenção da infecção dentro do lote. Impedir a transmissão para outros lotes e para outras granjas através de medidas de manejo e vacinação, já que este vírus, quando presente, é altamente invasivo, disseminando-se rapidamente no organismo da ave.

No aspecto de manejo, como a principal via de transmissão é a via aérea e o vírus se espalha rapidamente dentro do lote, podemos tentar impedir a transmissão para outros galpões através do controle do fluxo de pessoas, banho, troca de roupa, impedir o acesso de veículos de ração, ovos de área não infectada para áreas infectadas. Isto é válido para outras granjas próximas também. No caso de granjas de múltipla idade, em algumas áreas intensamente povoadas, este trabalho de manejo para impedir a transmissão fica quase impossível.

Outra forma de prevenção é a vacinação. Para selecionarmos uma cepa vacinal, o ideal seria isolar e tipificar as cepas que estão causando problemas de campo. Infelizmente no Brasil este trabalho não é rotineiro e existem apenas tentativas isoladas neste sentido. O problema é que o procedimento para isolamento e,

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

principalmente para tipificação do vírus, demandam tempo e dinheiro para adaptação de um vírus em embrião de galinha ou em sistemas celulares e ainda, um banco de soros contra cepas conhecidas também torna-se complicado. Com o uso de Ac monoclonais e da técnica de PCR este procedimento deve ser simplificado.

11. VACINAS

11.1 Vacinas atenuadas: derivam da baixa virulência do vírus e têm a função de prevenir e controlar infecções em frango de corte e sensibilizar poedeiras comerciais e reprodutoras jovens. Vacinas muito atenuadas não se replicam nas aves, vacinas pouco atenuadas podem provocar reações severas ou doença (salpingite, ooforite), dependendo do título do vírus na vacina, via de aplicação (oral, ocular, pulverização, água de bebida), do nível de Ac no momento da aplicação, sanidade do plantel, etc.

11.2 Vacinas inativadas: não provocam reação ou doença. Conferem um estímulo antigênico com títulos altos e uniformes para proteger a produção e a qualidade dos ovos, porém não impedem infecção das vias respiratórias superiores. Necessitam de prévia sensibilização por vacina viva. Sorotipos Mass. Arkansas, D274.

12. CONCLUSÃO

É de suma importância também, a perfeita adequação de técnicas de diagnóstico. Bem como o aprimoramento de novas, para detecção de novas cepas variantes. Ainda, o controle de agentes intercorrentes e das condições ambientais favoráveis a ocorrência de infecções nos planteis.

O controle da doença em plantéis reside em se detectar a origem do problema, quais seus fatores primários, a existência de fatores que atuam como complicantes. O ajuste de programas de vacinação através de monitoramento sorológico, a obediência a preceitos de biossegurança, cuidados no manejo, etc. Todos estes cuidados tem interferência direta sobre a Síndrome da Doença respiratória por vírus de BI e suas associações.

FORT DODGE Saúde Animal Ltda

Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

Na síndrome respiratória do Brasil, considero este vírus ao lado dos imunossupressores, como sendo um dos agentes desencadeantes de processo patológico na imensa maioria dos casos diagnosticados. A pressão de seleção induzida pelo "status" imunitário em uma determinada região geográfica pode resultar em diferentes sorotipos do vírus e, uma evolução independente dos sorotipos de cada região geográfica. Por isso, a grande variedade de sorotipos encontrada em todas as partes do mundo, não havendo necessariamente identidade antagônica entre elas. Por outro lado, isto não significa que teremos que utilizar vacinas específicas para cada sorotipo variante encontrado.

13. BIBLIOGRAFIA

- A.G. Ambali and R.C. Jones* - II International Symposium of IBV
- Barret S. Cowen and Robert F. Wideman Jr* - IV Reunion Latino Americana de Especialistas em Ciências Avícolas, 1989 - Costa Rica
- Cook, Jane A.* Archives of Virology, 50, 109-118, 1976.
- Cook, Jane A.* Conferência de Ciência e Tecnologia Avícola, 1990
- Cook, Jane A.* Simpósio Sobre Sanidade Avícola - FACTA - 1997
- Cook, Jane A.* Conferência de Ciência e Tecnologia Avícola - 1998
- Cook, Jane A.* XVI Congresso Latino Americano de Avicultura - 1999
- Di Fábio, José* - Conferência de Ciência e Tecnologia Avícola - 1992
- Di Fábio, José* - Conferência de Ciência e Tecnologia Avícola - 1993
- Ikuta, Nilo* - Conferência de Ciência e Tecnologia Avícola - 1999
- Ito, Nair M.K.* - Simpósio de sanidade Avícola - ACETAV - 1998
- Jacwood, Mark W., Gelb Jr, Jack* - a Laboratory manual for the Isolation and identification of avian Pathogens - 1998
- Kaleta, E.F.* - XXVIII Convegno della Società Italiana di Patologia Aviaria - 1989
- Lúcio B.* - III Ciclo de Conferência da AVE - 1992
- Mac Martin, Duncan A.* Infectious Bronchitis. Virus Infections of Birds - 1987
- M. el Houdfi, H. el Bouzidi et alli* - II International Symposium on IBV, Germany - 1991
- G. Tannock, Marian Zerbes et alli*
- R.B. Cuming* - II International Symposium on IBV, Germany - 1991
- FORT DODGE Saúde Animal Ltda**
Rua Luiz Fernando Rodrigues, 1701 – V. Boa Vista – CEP 13064-798 – Campinas – SP – Brasil – Fone: (019) 3745.6000 – Fax: (019) 3745.6011

V.Hinze, J.E.Lohr et alli - II International Simposium on IBV, Germany - 1991

Wentz, I. Conferência de Ciência e Tecnologia Avícola - 1992

W. Peter - II International Symposium on IBV, Germany - 1991

Zavata, Guilherme - XVI Congreso Latino Americano de Avicultura - 1999