

CRISTIANE REGINA CANTELLI

**DESCRIÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES DE MÚSCULO
PEITORAL E RIM ASSOCIADAS À INFECÇÃO DE CAMPO POR
VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA EM MATRIZES E FRANGOS
DE CORTE OCORRIDA NO OESTE E SUL DE SANTA CATARINA**

LAGES – SC

2007

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

CRISTIANE REGINA CANTELLI

**DESCRIÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES DE MÚSCULO
PEITORAL E RIM ASSOCIADAS À INFECÇÃO DE CAMPO POR
VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA EM MATRIZES E FRANGOS
DE CORTE OCORRIDA NO OESTE E SUL DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada à coordenação do curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr. Célso Pilati

**Lages – SC
2007**

CRISTIANE REGINA CANTELLI

**DESCRIÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE LESÕES DE MÚSCULO
PEITORAL E RIM ASSOCIADAS À INFECÇÃO DE CAMPO POR
VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA EM MATRIZES E FRANGOS
DE CORTE OCORRIDA NO OESTE E SUL DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada à coordenação do curso de Mestrado de Ciências Veterinárias, como requisito para a obtenção do título de Mestre

Banca Examinadora

Orientador:

Prof. Dr. Célio Pilati
Universidade do Estado de Santa Catarina

Membro

Prof. Dr. David Driemeier
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Membro:

Prof. Dra. Glaucia Denise Kommers
Universidade Federal de Santa Maria

Lages, 05 de outubro de 2007

AGRADECIMENTOS

“Celebrar a vida é somar amigos, experiências e conquistas, dando-lhes sempre algum significado” (Autor Desconhecido). Sendo assim, gostaria de agradecer as pessoas que, juntamente comigo, fizeram parte dessa etapa e tiveram seu importante significado:

Ao Professor Célso Pilati, pela orientação, pela grande confiança e credibilidade, pelos ensinamentos em Patologia Animal e por todos os outros ensinamentos de vida que ficarão gravados, meu eterno agradecimento.

A todos os professores do mestrado e, em especial, ao professor Aldo Gava, diretor do Laboratório de Patologia Animal; Professor Alceu Mezzalira, coordenador do curso de mestrado em Ciências Veterinárias, e ao Professor Aury, pelo incentivo na conclusão deste curso.

Agradeço a todos os bolsistas, estagiários e funcionários do Laboratório de Patologia Animal, especialmente à Rita, que ajudaram na coleta e processamento de material, seus auxílios foram para a execução de todo o processo.

A todos os colegas de turma do mestrado, em especial ao Fernando Furlan, Denis Spricigo e Luana Neis, pela troca de experiências e também por todos os churrascos que pudemos compartilhar.

À Perdigão Agroindustrial S/A e Wiper Industrial de Alimentos, pelo auxílio e disponibilidade na realização da coleta de materiais deste estudo.

Aos meus pais, Dirceu e Salete, sabendo que somente agradecer é pouco para retribuir tudo o que fizeram por mim. Agradeço toda a preocupação, confiança, amor, e espero estar proporcionando mais um motivo de orgulho para vocês.

A minha nona Graciosa, por toda sua imensa fé e carinho compartilhados em toda minha caminhada.

Ao meu namorado Tiago: “O dia mais importante não é o dia em que conhecemos uma pessoa, e sim quando ela passa a existir dentro de nós”. Agradeço seu amor, seu companheirismo, seu apoio e paciência.

Toda equipe de matrizes da Perdigão Agroindustrial S/A., Regional de Santa Catarina, em especial às amigas Rose, Alethéia, Mônica e Fernanda pelas horas de trabalho conjunto visando ao mesmo objetivo, pela descontração, risadas, conversas, e ao Juliano pela compreensão e confiança.

Aos meus familiares e a todos os colegas de Empresa que contribuíram com sua amizade. Muito Obrigada.

RESUMO

Relata-se a ocorrência de quatro surtos espontâneos de Bronquite Infecciosa (BI) cursando com nefrite e miopatia peitoral objetivando descrever as lesões macro e microscópicas do rim e músculo. Três surtos ocorreram em frangos de corte afetando diversos lotes. Um surto ocorreu em matrizes afetando dois núcleos de criação. Nos frangos de corte, foi observado em alguns lotes alta mortalidade, alto índice de descarte e em outros alta condenação no abatedouro. Também observou-se, ronquidão, apatia e desuniformidade. No lote de matriz, foi observada queda de produção e mortalidade elevada. Todos os animais em que foi realizada sorologia foram positivos para BI, o mesmo para o lote em que foi realizada PCR. Na necropsia, observou-se tumefação e palidez renal, palidez e estrias esbranquiçadas principalmente do músculo peitoral profundo, e em alguns casos leve edema. No exame histopatológico, as lesões renais consistiam de hiperplasia glomerular de moderada a intensa, em alguns casos degeneração tubular e infiltrado inflamatório multifocal intersticial. No músculo, foi observado edema intersticial, degeneração hialina, vacuolização, hipercontração e miofagia de fibras musculares. Em um caso observou-se fibrose moderada. Em outros foram observadas infiltração linfocitária de leve a moderada na traquéia. Nas matrizes, além das lesões descritas, observou-se hiperplasia linfóide peribronquial e degeneração hialina nos vasos pulmonares. Em todos os casos foi observada uma estreita relação entre lesão renal e muscular.

Palavras-chave: Bronquite Infecciosa. Miopatia. Nefropatia. Frangos de corte. Matrizes.

ABSTRACT

This report describes the occurrence of four natural outbreaks of Infectious Bronchitis (IB) accompanied by nephritis and pectoral myopathy. The objectives are to describe the macro and microscopical injuries of the kidneys and muscle. Three outbreaks affected different flocks of broilers. One case occurred in broiler breeders affecting two houses of a farm. In the broilers, high mortality and high index of discarding was observed and also high condemnation in the abattoir. Respiratory snicks, apathy and ununiformity were observed. In the flock of broiler breeders, decline of production and high mortality were noticed. All the animals were positive for IB serology, and positive results were also obtained on the flock where PCR was carried through. In the necropsy, swollen and renal pallor were observed, pallor and white streaks mainly of the deep pectoral muscles, and in some cases mild edema. In the histopathology examination, the kidney injuries consisted of moderate to intense glomerular hyperplasia, in some cases interstitial multifocal inflammatory infiltrate and tubular degeneration. In the muscle, interstitial edema was found, hyaline degeneration, vacuolation, hypercontraction and myophagia of the muscle fibres. In one case, moderate fibrosis was observed. In other cases, mild to moderate lymphocytic infiltration was observed in the trachea. In the broiler breeders, other than the described lesions, a peribrochial lymphoid hyperplasia and hyaline degeneration was noted in the pulmonary vessels. In all the cases a close relation was observed between renal and muscular injury.

Keywords: Infectious Bronchitis. Miopathy. Nefropathy. Broilers. Broiler Breeders.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Frango de corte 45 dias. Lesão renal. Rins aumentados de volume e pálidos. Surto nº 1.....	40
Figura 02 – Frango de corte 45 dias. Músculo peitoral profundo com áreas e estrias pálidas. Surto nº 1.....	40
Figura 03 - Ave com 56 dias. Corte transversal de músculo peitoral profundo. Degeneração hialina de fibras, vacuolização e edema intersticial. H&E. MO. Obj. 40x. Surto nº 1.....	41
Figura 04 – Ave com 98 dias. Músculo peitoral profundo difusamente esbranquiçado. Surto nº1.....	43
Figura 05 - Ave com 98 dias. Corte longitudinal de músculo peitoral profundo. Hipercontração de fibras, vacuolização e degeneração em gotas hialinas. Surto nº 1.H&E. MO. Obj 40x.....	43
Figura 06 - Ave com 115 dias. Músculo peitoral profundo com extensa área branco-amarelada de consistência diminuída. Surto nº 1.....	44
Figura 07 – Frango de corte com 115 dias. Músculo peitoral profundo com extensa área de necrose, intensa miofagia e fibrose. Surto nº1. H&E. MO. Obj.40x.....	45
Figura 08 – Frango de corte com 115 dias. Músculo peitoral profundo com intensa fibrose. Tricômero de Masson. Surto nº1 MO. Obj. 40x.....	45
Figura 09 - Frango de corte com 30 dias. Corte longitudinal de músculo peitoral profundo demonstrando intensa miofagia de fibra. Surto nº 2. MO. Obj. 40x.....	46

- Figura 10 – Matriz com 36 semanas. Corte de traquéia demonstrando infiltrado linfocitário difuso moderado na mucosa. Surto nº 3. Lote A. H&E. MO obj. 100x.....48
- Figura 11 – Matriz com 28 semanas. A) Hipercelularidade de glomérulo. B) Glomérulos próximos do normal. Surto nº 3. Lote B. H&E. MO. Obj. 40x.....49
- Figura 12 – Matriz com 28 semanas. Rim com infiltrado mononuclear intersticial. Surto nº 3. Lote B. H&E. MO. Obj. 40x.....49
- Figura 13 – Frango de corte com 32 dias. Músculo peitoral profundo apresentando miofagia intensa, vacuolização de fibras, degeneração hialina e edema intersticial. Surto nº 4. Lote D. H&E. MO obj. 40x.....51
- Figura 14 – Frango de corte com 32 dias. Músculo peitoral profundo apresentando miofagia intensa, vacuolização de fibras, degeneração hialina e edema intersticial. Surto nº 4. Lote D. H&E. MO obj. 40x.....51

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Etiologia e Estrutura Viral.....	14
2.2. Variabilidade do VBI e Sorotipos	15
2.3. A Doença: epidemiologia e sinais clínicos.....	18
2.3.1. Síndrome Nefrite-nefrose (SNN).....	22
2.4. Lesões	24
2.4.1. Aves jovens – menos de seis semanas de idade	24
2.4.2. Aves de postura – matrizes e poedeiras comerciais	25
2.4.3. Lesões Microscópicas.....	27
2.5. Miopatia Peitoral	28
2.6. Diagnóstico.....	31
2.6.1. Isolamento do vírus	32
2.6.2. Diagnóstico sorológico	33
2.6.3. Diagnóstico diferencial.....	34
2.7. Controle e Vacinação.....	34
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 Materiais coletados	36
3.2. Descrição dos surtos	37
3.2.1. Surto nº 01	37
3.2.2. Surto nº 02	38
3.2.3. Surto nº 03	38
3.2.4. Surto nº 04	38
4. RESULTADOS	39
4.1. Surto nº 01	39
4.1.1. Aves com 56 dias.....	41
4.1.2. Ave com 72 dias	42

4.1.3. Ave com 98 dias	42
4.1.4. Ave com 115 dias	44
4.2. Surto nº 02	46
4.3. Surto nº 03	47
4.3.1. Lote A	47
4.3.2. Lote B	48
4.4. Surto nº 04	50
4.4.1. Lote A	50
4.4.2. Lote B	50
5. DISCUSSÃO	52
6. CONCLUSÕES	56
7. REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

A Bronquite Infecciosa (BI), também chamada de Bronquite Infecciosa das Galinhas, é uma doença respiratória viral, aguda, altamente contagiosa, caracterizada por ruídos traqueais, tosse e espirros (CAVANAGH et al, 2003).

Causada por um coronavírus exclusivo das galinhas, não atacando outras espécies de aves (Di FABIO, 1993) induz quadros clínicos dos mais variados, conforme a idade das aves e o tipo de vírus (ITO, 1999) podendo ou não apresentar sinais clínicos respiratórios (Di FABIO, 1993). O vírus ocorre em muitas variantes antigênicas como consequência de mutações no seu genoma (MURPHY, et al 1999).

Possui grande importância econômica na avicultura industrial, pois provoca aumento da mortalidade, diminuição do ganho de peso e eficiência alimentar em frangos de corte, e queda na produção e qualidade interna e externa de ovos em matrizes (CAVANAGH et al., 2003; ABREU, 2006).

A BI foi descrita pela primeira vez nos Estados Unidos por Schalk e Hawn (1931) e observada apenas em pintinhos. Cinco anos mais tarde, Beaudette demonstra que a infecção também ocorre em aves adultas. Depois foi identificada em diversos países do mundo: Inglaterra/1948, Bélgica/1955, Itália/1955, Holanda/1956, França/1959, Alemanha/1959, Argentina/1965, Chile/1976 (COLUSI et al., 1965; HIDALGO et al., 1976).

No Brasil, foi identificada pela primeira vez por Hipolito, no Estado de Minas Gerais em 1957, que suspeitou da sua presença devido à grande disseminação da doença nos EUA, e às importações de aves vindas deste país (HIPOLITO, 1973).

Após sua descoberta, outros sorotipos foram sendo identificados ao longo dos anos em vários países, sendo em 1973 a primeira identificação da síndrome nefrite-nefrose no Brasil (HIPOLITO, 1973). A partir de 1980, iniciou o processo de vacinação contra BI utilizando o sorotipo Massachussets, o único liberado para vacinação no Brasil até os dias atuais (RESENDE, 2003).

Assim, devido à alta transmissão natural da doença e à ocorrência de

múltiplos sorotipos do VBI têm dificultado e aumentado o custo das medidas de prevenção da doença (CAVANAGH et al., 2003). Surtos de BI nos últimos anos têm sido menos freqüentes devido à utilização de vacinas, no entanto, a doença ainda ocorre, até mesmo quando adiciona-se aves infectadas em plantéis vacinados (MURPHY et al., 1999).

Um novo sorotipo de BI foi identificado na Europa em 1996 (GOUGH et al., 1992; COOK et al., 1996), distinto do sorotipo vacinal Massachussets, provocando além de sinais clínicos respiratórios e/ou queda de produção, lesões de miopatia nos músculos peitorais não observados em surtos anteriores de BI. Essa forma atípica da doença ainda não havia sido observada no Brasil.

A partir do ano de 2003 no Brasil vêm ocorrendo novos surtos atípicos de BI, tanto em frangos de corte como em matrizes (TREVISOL et al., 2006), associados com a apresentação deste novo tipo de lesão, caracterizado por degeneração e necrose da musculatura peitoral (BRENTANO et al., 2005; TREVISOL et al., 2006), entretanto essa nova etiopatogenia do VBI ainda precisa ser estudada (RESENDE, 2003).

Devido à falta de informações sobre a descrição das lesões musculares e renais associadas com a Bronquite Infeciosa das Aves, o objetivo deste estudo foi caracterizar histopatologicamente as lesões nestes órgãos provenientes de aves de surtos de campo de bronquite infecciosa.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Etiologia e Estrutura Viral

O Vírus da Bronquite Infecciosa (VBI), causador da Bronquite Infecciosa das Aves, é um membro da família *Coronaviridae*, a qual inclui os gêneros *Coronavirus* e *Torovirus*. O VBI está no grupo III do gênero *Coronavirus* (CAVANAGH et al., 2003) e é completamente distinto de outros coronavírus que infectam aves (perus) e mamíferos (RESENDE, 2003).

O VBI tem simetria helicoidal e genoma formado por RNA de fita simples, não segmentado, de polaridade positiva e com aproximadamente 27,6 kb (PENA et al., 2005). Tem estrutura pleomórfica, mas geralmente arredondado, com envelope de aproximadamente 120 nm de diâmetro contendo projeções superficiais (espículas) com cerca de 20 nm de comprimento (RESENDE, 2003).

O vírus é composto por três grandes proteínas estruturais: as glicoproteínas da espícula (S) e de membrana (M) da superfície viral, e a nucleoproteína interna (N). Acredita-se também, que há uma quarta proteína, associada com o envelope do vírion, a proteína de membrana (E), necessária para a replicação viral (CAVANAGH et al., 2003).

A proteína N está localizada na parte interna do vírion, estando intimamente associada ao RNA viral. Anticorpos dirigidos contra essa proteína são os primeiros a serem detectados após a infecção, entretanto, não estão associados com a proteção (PENA et al., 2005). Mutações na proteína N podem afetar a estabilidade e a viabilidade viral (RESENDE, 2003). A glicoproteína M interage com o nucleocapsídeo interno da partícula viral e tem cerca de 225 aminoácidos, sendo que desses, somente 10% estão exteriorizados no envelope viral. Tem papel importante na replicação viral e no processo de recombinação natural entre diferentes sorotipos de VBI (MURPHY et al., 1999; PENA et al., 2005).

A glicoproteína S é dividida em duas subunidades: S₁ e S₂. A estrutura espacial da proteína S₂ tem o formato de clava e penetra no envoltório lipídico da membrana, atravessando-a. Mais externamente e aderida à S₂, está a proteína S₁ em forma globular. A S₁ é responsável pela infectividade viral, é a principal indutora da resposta imune protetora contra a infecção pelo VBI, e também a base dos testes de diagnóstico para identificar e caracterizar as amostras virais (COOK et al., 1996; RESENDE, 2003; PENA et al., 2005). A variação na sua composição aminoacídica é a principal estratégia do VBI para escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro (PENA et al., 2005).

A subunidade S₂ tem uma importante função na manutenção da estrutura espacial da S₁ e qualquer variabilidade na S₂ pode afetar a configuração estrutural da S₁, o que dificulta o reconhecimento da mesma por anticorpos específicos (RESENDE, 2003; PENA et al., 2005;).

De modo geral, o vírus é bastante sensível aos desinfetantes comuns e em ambientes secos não sobrevive por longos períodos (Di FABIO, 1993).

2.2. Variabilidade do VBI e Sorotipos

Através do seqüenciamento do glicopolipeptídeo S, pode-se constatar que a variabilidade entre os isolados de VBI concentra-se em duas regiões da subunidade S₁, chamadas de regiões hipervariáveis (CAVANAGH et al., 2003; PENA et al., 2005).

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 (Di FABIO, 1993).

Uma classificação do VBI utilizada atualmente é a dos *Patotipos*, ou seja, as amostras são classificadas segundo os órgãos mais lesados pelo vírus. No geral, dois ou mais sistemas são afetados, já que as amostras têm diferenças entre elas com relação à virulência e o tropismo (Di FABIO, 2004).

Muitos sorotipos são conhecidos e algumas variantes antigênicas têm sido relatadas. Dentre os sorotipos de VBI, Di Fabio (2004) relata os mais conhecidos:

- *Massachussets (Mass)*: Primeiro sorotipo a ser descrito. Acomete os tratos 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.

- *Beaudette*: considerada como cepa mutante derivada da cepa Massachussets, sendo apatogênica para aves. É uma amostra utilizada como antígeno no teste de vírus-neutralização. Possui reação homóloga somente com o sorotipo.

- *Connecticut (Conn)*: primeira descrição de sorotipo diferente do Mass, não tendo reação cruzada com este. Acomete o trato respiratório, porém é tida como menos patogênica que a Mass. Causa as mesmas alterações microscópicas do que a Mass. Não são relatadas infecções no trato genito-urinário.

- *Amostras Nefrotrópicas*: as amostras pertencentes a este grupo são Gray, Holte, amostra T australiana e Holland. 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

- *Arkansas*: variante antigênica. Acomete os tratos respiratório e reprodutivo. Não é relatada infecção no trato urinário.

Desde 1930 quando a BI foi reconhecida pela primeira vez, e em meados de 1950, quando foi iniciada a vacinação, apenas o sorotipo Mass era prevalente nos EUA. Um segundo sorotipo foi identificado em 1950, o Connecticut (Conn) e logo se iniciou o uso da vacina comercial com esta cepa (JIA et al., 2002).

Com a finalidade de verificar o conceito de que o único sorotipo existente no EUA entre 1930 e 1950 era o Mass, Jia et al. (2002) analisaram 40 isolados de VBI, sendo que trinta e oito destes foram identificados como pertencentes ao sorotipo Mass, os outros dois não tiveram relação com aquele sorotipo. Os resultados indicam que embora o sorotipo Mass fosse prevalente naquela época, outros sorotipos também estavam presentes.

Cepas do sorotipo Mass têm sido isoladas na Europa desde 1940. Muitos outros sorotipos, diferentes daqueles norte-americanos, também têm sido isolados na África, Ásia, Índia, Japão e Coréia, Austrália e Europa (CAVANAGH et al., 2003).

El-Houdfi et al. (1986) isolaram e caracterizaram pela primeira vez o VBI no

Marrocos a partir de seis isolados de campo em lotes de frangos de corte. Cinco destes isolados demonstraram ser relacionados ao sorotipo Mass, enquanto que o sexto, designado G, não apresentou correlação com aquele sorotipo. Todos os isolados causaram doença respiratória típica de VBI em inoculação experimental em pintinhos SPF. A particularidade do isolado G refere-se a uma predileção do vírus pelo trato digestivo, em que ele pode ser isolado do esôfago e proventrículo até 21 dias pós-inoculação, e do duodeno até 28 dias. O teste de proteção vacinal com o sorotipo Mass protegeu contra todos os isolados, com exceção do isolado G.

Isolados variantes também foram descritos por Gelb et al. (1991) que sorotipificaram 20 cepas de campo do VBI obtidas de aves de postura comercial e frangos de corte. Nas aves de postura, de um total de sete isolados, cinco foram considerados sorotipos variantes, sendo que dois diferentes foram isolados na mesma granja de matrizes com idades múltiplas. Ao contrário do que ocorreu em frangos de corte, de um total de 13 isolados, apenas um sorotipo foi considerado variante.

Parsons et al. (1992) relataram quatro isolados variantes, semelhantes entre si, mas diferentes de todos os outros isolados conhecidos, obtidos de dois lotes de matrizes vacinadas que apresentaram aumento de mortalidade e queda na produção de ovos. No experimento, o sorotipo vacinal Mass (H120) não protegeu as aves do desafio com os novos isolados até 21 dias pós-inoculação.

Na Grã-Bretanha, pelo menos dez sorotipos distintos são conhecidos, todos diferentes dos sorotipos descritos em muitos países através do mundo (COOK, 1990).

No Brasil, no período entre maio a dezembro de 1995, foi observado em frangos de corte com idade entre 28 e 44 dias um significativo aumento de doença respiratória, acompanhados por problemas digestivos e renais. No mesmo período, foi observada queda de produção em lotes de matrizes entre 25 e 60 semanas. Estes problemas eram vistos principalmente nos Estados do Sudeste em São Paulo e no Rio de Janeiro; do Sul, no Paraná; e Nordeste, no Estado da Bahia. Muitos destes lotes não eram vacinados para BI. Di Fabio et al. (2000), caracterizaram os isolados provenientes de 126 lotes de aves oriundas daqueles Estados. Foram identificados 15 isolados do VBI, sendo que uma das cepas correspondia ao sorotipo Mass, enquanto que as outras 14 eram pertencentes a pelo menos quatro grupos antigênicos diferentes a todos os descritos até aquele momento em outros países,

confirmando a presença de VBI variantes também no Brasil.

A existência de sorotipos variantes no Brasil também foi confirmada por Resende (2003) através de estudos com isolados de VBI obtidos de surtos ocorridos em Minas Gerais de 1972 a 1989.

Sabe-se que muitos tipos sorológicos diferentes do VBI são encontrados em muitos países diferentes e que vários sorotipos diferentes podem coexistir num determinado país. Além disso, também está claro que os sorotipos comumente encontrados em um determinado país podem se alterar no decorrer do tempo (COOK, 1990).

Alguns autores sugerem a possibilidade de uma nova classificação do vírus, não em sorotipos, mas em *Protectotipos*. Estes seriam amostras de vírus capazes de 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 (Di FABIO, 2004).

A possibilidade da ocorrência de novos sorotipos de VBI é definida por dois mecanismos: recombinação entre duas partículas virais antígenicamente diferentes, ou como resultado da pressão de seleção imposta pelo uso, por várias décadas, da vacina viva de BI. É provável que ambos os mecanismos sejam importantes (COOK, 1990).

O aparecimento de variantes é mais freqüente em plantéis de vida longa, como reprodutoras e poedeiras, do que em frangos de corte, pelo maior tempo de contato entre o vírus e o hospedeiro, múltiplas idades e uma maior possibilidade de erros na replicação viral do genoma. Assim, na região hipervariável S₁, o aparecimento de mutações antigênicas no gene S é grande e pode levar a emergência de novos sorotipos (Di FABIO, 2004).

2.3. A Doença: epidemiologia e sinais clínicos

O VBI ataca aves de todas as idades, mas os pintos são mais suscetíveis e apresentam maior mortalidade. As aves adultas, quando recebem o vírus sob a

forma de aerossol apresentam sintomas respiratórios 18 a 24 horas após a inoculação (HIPOLITO et al., 1979).

A infecção ocorre via trato respiratório e a traquéia é o alvo primário. As infecções pelo VBI têm um período de incubação curto e seus sinais clínicos como estertores traqueais, exsudato nasal, são evidentes após 24 a 48 horas de exposição ao vírus. Além disso, o VBI é um vírus altamente infeccioso, sendo necessárias poucas partículas virais para iniciar uma infecção (COOK, 1990).

O vírus realiza a invasão via epitélio traqueal, seguido por uma viremia um a dois dias após a infecção, distribuindo-se em outros órgãos (COOK, 1990; MURPHY, 1999). Fora o trato respiratório, os tecidos nos quais o VBI é capaz de causar lesões são os do ovário, oviduto e dos rins (Di FABIO, 1993). Atualmente, tem-se descrito um novo sorotipo de VBI causando lesões também no músculo peitoral superficial e profundo, associado ou não a outro tipo de lesão (DHINAKAR RAJ e JONES, 1996).

A transmissão do vírus entre aves doentes e aves saudáveis se dá por contato direto ou indireto. O vírus pode ser transmitido durante qualquer estágio respiratório da doença e tem sido reisolado de aves infectadas até quatro semanas após a inoculação. Os portadores são capazes de transmitir o vírus até 43 dias após a ocorrência da doença e em alguns casos até mesmo depois de dois meses (HIPOLITO et al., 1979). As aves recuperadas da infecção permanecem susceptíveis a uma outra infecção por outro sorotipo do VBI (Di FABIO, 1993).

O vírus é excretado a partir do trato respiratório via aerossol por um período superior a quatro semanas pós-infecção, mas via fezes por um período consideravelmente maior. O vírus pode também ser excretado via ovo e tem sido encontrado em pintos recém-nascidos, mas este não é reconhecido como um meio importante de transmissão do VBI (COOK, 1993).

Estudos realizados por El-Houadfi et al. (1986) com seis isolados de VBI demonstraram que, ao serem inoculados em aves de três semanas SPF os sinais clínicos respiratórios de tosse, espirros e conjuntivite tiveram durações diferentes entre os isolados, e sem ocorrência de mortalidade. Observaram também, que a permanência dos isolados nos tecidos foi diferente, sendo que o vírus na maioria foi detectado na traquéia entre 9 e 13 dias, embora em um isolado tenha sido detectado aos 28 dias. Apenas dois isolados, foram encontrados nos rins, e outros dois nas fezes.

Os sinais clínicos são dependentes das idades afetadas e sorotipo do VBI. Em aves jovens, os sinais respiratórios característicos são tosse, espirros, descarga nasal e ruídos traqueais. Cabeça inchada também pode ser observada, e em alguns casos, pode haver inchaço dos sinusóides. As aves apresentam-se apáticas, procuram se aquecer, diminuem consumo de alimentos e ganho de peso (CAVANAGH et al., 2003).

As infecções respiratórias podem ser complicadas pela presença de *Mycoplasma gallisepticum*, *M. sinoviae* e *Escherichia coli*, resultando em pericardite, aerossaculite, peri-hepatite e peritonite (PENA et al., 2005).

Estudos de sorotipificação com isolados de campo de VBI realizados por Gelb et al. (1991) confirmam que a variação de sinais clínicos da doença está ligada ao sorotipo e à idade das aves. Cinco isolados foram obtidos de plantéis não vacinados de frangos de corte que apresentaram doença respiratória, alta mortalidade e condenação ao abate. Um lote de matrizes que tinha sido vacinado com vacina viva Mass foi o provável causador da disseminação do vírus nos frangos. Isolados de VBI também foram obtidos de outro lote de frangos de corte com doença respiratória e com *E. coli* associada causando aerossaculite. VBI também foi isolado de um lote de matrizes com 26 semanas, vacinado, apresentando queda de postura de 15%. Todo complexo da granja tinha histórico de problemas de produção e qualidade de ovos.

Em aves com idade acima de seis semanas e em aves adultas, os sinais clínicos são similares, porém não ocorre descarga nasal com frequência. A doença pode passar despercebida se o plantel não for observado com cuidado, pois os sinais são pouco intensos, e os ruídos são apenas observados à noite quando as aves estão normalmente em silêncio (CAVANAGH et al., 2003).

DiFabio et al. (2000) examinaram vários isolados de VBI provenientes de surtos de campo em frangos de corte com idade entre 30 a 40 dias, em que puderam ser observados os seguintes sinais clínicos: lote 1, infecção respiratória + diarreia; lote 2, sinais respiratórios + aumento de mortalidade; lote 3, sinais respiratórios.

Em lotes de poedeiras comerciais e matrizes, são vistos declínios na produção e qualidade de ovos em adição aos sinais respiratórios. Em muitos casos são observadas alterações na coloração da casca dos ovos, queda de produção e ausência de sinais respiratórios (CAVANAGH et al., 2003).

A queda de postura pode chegar a 25%, e a incubabilidade pode reduzir em

7%, devido ao aparecimento de ovos de casca mole, sem casca ou com casca rugosa. A qualidade interna do ovo também é afetada, o albúmen apresenta-se aquoso (HIPOLITO et al., 1979). A severidade da queda de produção vai variar com a idade da matriz e com a virulência do VBI (CAVANAGH et al., 2003). Pode ainda não haver alteração dos ovos e as quedas serem representadas por oscilações na postura diária (Di FABIO, 1993).

Parsons et al. (1992) caracterizaram o VBI de dois lotes de matrizes de postura com idades diferenciadas e que apresentaram aumento de mortalidade e queda na produção de ovos.

Um dos lotes de matrizes com 29 semanas apresentou diminuição do consumo de ração e aumento da mortalidade em 0,65% de um dia para o outro. Os sinais clínicos observados foram letargia, depressão, inchaço ao redor dos olhos, olhos fechados, agitação da cabeça, dificuldade respiratória e asas abertas. Entre 28 e 30 semanas a mortalidade aumentou para 1,5%. Foi observada queda na produção de ovos de 8% e perda de coloração de casca.

Dois dias depois do início dos sinais clínicos do lote anterior, outro lote de matrizes com 55 semanas, situado a um quilômetro de distância, também apresentou sinais clínicos semelhantes. A mortalidade aumentou, houve queda de produção de 51,9% para 29,5% por quatro semanas, depois mostrou alguma melhora. Os dois lotes eram vacinados para BI.

Queda na produção de ovos associada com aumento na mortalidade também foi observada por Di Fabio et al. (2000) em lotes de matrizes entre 25 e 30 semanas em que foi isolado VBI.

Cook et al. (1986) avaliaram o efeito de três isolados de VBI em relação à queda de produção de ovos e alteração de coloração de casca em matrizes de postura comercial. Observaram que os isolados, quando inoculados em aves de postura de ovos marrons, produziram pequena alteração na produção de ovos, mas uma significativa alteração na coloração da casca, reportando a importância econômica deste tipo de infecção.

Infecções em matrizes com um dia podem produzir danos irreversíveis ao oviduto conduzindo a uma baixa produção e qualidade de ovos quando as aves entrarem em produção, transformando-se em falsas poedeiras. Presença de anticorpos maternos tem demonstrado proteger o oviduto de danos provocados pelo VBI nos primeiros dias de vida (CAVANAGH et al., 2003).

A duração dos sinais clínicos varia de um galpão a outro e entre as aves do mesmo galpão. Os sinais cessam entre 7 a 18 dias após o início da infecção. A morbidade no plantel é alta (CAVANAGH et al., 2003), mas a mortalidade que pode alcançar 25%, só afeta as aves mais jovens, principalmente os pintos (HIPOLITO et al., 1979).

2.3.1. Síndrome Nefrite-nefrose (SNN)

A infecção respiratória inicial pode ser seguida pela infecção de outros tecidos, principalmente os do trato reprodutivo da fêmea e os dos rins. Em decorrência, a irregular produção de ovos ou a nefrite podem ser a seqüela de uma traqueíte inicial (COOK, 1990).

Alguns sorotipos, denominados sorotipos nefropatogênicos, determinam lesões renais com vários graus de comprometimento. Esses sorotipos estão relacionados na etiologia da nefrite-nefrose aviária (PENA et al., 2005).

Os sorotipos nefropatogênicos mais conhecidos são o Holte, Gray e a Amostra T. Algumas cepas menos atenuadas do sorotipo Holland também causam lesões no aparelho urinário como a H52. Cepas do sorotipo Massachussets também podem lesionar o sistema urinário de maneira moderada a severa (Di FABIO, 1993; ITO, 1999).

Estudos ultraestruturais de rins infectados pelo VBI nefropático revelam que as células epiteliais do baixo néfron e ductos são os locais primários de replicação do VBI (CAVANAGH et al., 2003).

VBI nefropáticos geralmente induzem depressão, penas arrepiadas, fezes aquosas e aumento do consumo de água após o término da fase respiratória. Empastamento de cloaca e/ou diurese é observado em alguns casos e, comumente, aves assintomáticas apresentam somente lesões microscópicas no rim caracterizadas por necrobiose tubular e hiperplasia linfóide. Cepas mais patogênicas podem induzir a nefrite-nefrose (ITO, 1999).

Hipólito et al., em 1973, isolaram pela primeira vez no Brasil o sorotipo do VBI causador da SNN, que já havia sido identificado na Austrália e nos Estados Unidos. Em complementação com aquele estudo, July et al. (1973), analisaram os aspectos

ultraestruturais da partícula viral e descreveram um método mais rápido e simples do que o descrito por Hipólito et al. (1973), para o diagnóstico laboratorial da doença.

Em outra pesquisa envolvendo seis granjas em Minas Gerais e São Paulo, com uma população total de mais de 300 mil frangos, Lamas et al. (1979) estudaram os aspectos clínicos e anatomopatológicos da SNN em aves com idades entre 15 a 45 dias.

Os principais sinais clínicos observados foram aspecto úmido da cama, mortalidade elevada, cianose de crista e barbeta, e diarreia branco-leitosa. O canibalismo também foi constatado no início da doença, principalmente nos lotes com 15 e 23 dias de idade.

Macroscopicamente, as aves apresentavam as seguintes lesões: na traquéia das aves com 23, 35 e 42 dias, observou-se discreta congestão e presença de um líquido seromucoso; o rim apresentou aumento de volume, duas a três vezes o tamanho normal, consistência friável e preenchido por um material branco-leitoso, ureteres dilatados e repletos do mesmo material encontrado nos rins. Os demais órgãos não apresentaram lesões.

Microscopicamente, a traquéia apresentou edema, congestão discreta e infiltração de células mononucleares no epitélio e lâmina própria. Em alguns casos, havia hiperplasia dos folículos linfóides isolados na submucosa. Os pulmões apresentaram discreta bronquite catarral nos grandes brônquios e hiperplasia folicular adjacente.

As lesões renais se caracterizaram por degeneração turva e necrose de coagulação tubular, edema intersticial, acentuado acúmulo de uratos e cilindros granulados intratubulares. Além das lesões degenerativas, os autores observaram uma nefrite intersticial aguda difusa com exsudato de células mononucleares (linfócitos) tanto na cortical como na medular. Os glomérulos renais mostraram-se invadidos por células inflamatórias dando um quadro de glomerulite aguda.

Amostras de soro coletadas durante a fase aguda da doença e submetidas à prova de neutralização foram negativas. No segundo teste, realizado três semanas após o início do surto nas granjas infectadas o resultado foi positivo para BI.

Butcher et al. (1990) isolaram de rins de frangos de corte uma cepa Massachussets nefropatogênica designada H13-IBV. Em infecção experimental com pintinhos SPF, os sinais clínicos observados foram distúrbios respiratórios, depressão e diarreia.

Macroscopicamente, os rins apresentaram coloração pálida, aumento de volume e deposição de uratos; engrossamento e edema de sacos aéreos; congestão da traquéia e presença de exsudato seroso na mucosa.

Na microscopia, as lesões renais se caracterizavam por infiltrado mononuclear intersticial, degeneração e necrose das células epiteliais; traquéia com perda dos cílios, infiltrado inflamatório e metaplasia escamosa. As lesões renais foram mais severas em pintinhos infectados até um dia de idade.

Sinais clínicos semelhantes em frangos de corte foram observados por Lin et al. (1991) quando isolaram quatro VBI nefropatogênicos diferentes do sorotipo vacinal utilizado. Na necropsia, constatou-se rins aumentados de volume com túbulos proeminentes e ureteres distendidos caracterizando uma nefrite tubulointersticial.

Em 2002, Landman et al. avaliando a proteção vacinal conferida por uma cepa nefropatogênica, PA/Wolgemuth/98, na Pensilvânia, observaram as seguintes lesões microscópicas renais provocadas pela cepa em questão: leve a severa infiltração linfoplasmocitária nos cones medulares, edema, infiltrado heterofílico, degeneração e necrose tubular.

2.4. Lesões

As lesões limitam-se à traquéia, pulmões e brônquios, mas está na dependência da idade em que a ave foi afetada e o sorotipo do VBI.

2.4.1. Aves jovens – menos de seis semanas de idade

Sistema Respiratório

As lesões mais comumente encontradas são 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 das vias aéreas e dos seios causando descarga nasal e lacrimejamento. A coagulação do exsudato forma tampões que podem vedar a luz

da laringe e produzir morte por asfixia. O quadro clínico da síndrome da cabeça inchada, ou seja, conjuntivite, edema de barbela e sinusite muco-purulenta pode estar associado ao VBI. Observa-se também, espessamento da mucosa e submucosa da traquéia. (DiFABIO, 1993; HIPOLITO, 1979).

Em aves em crescimento a traqueíte é o achado mais constante, a mucosa apresenta-se edemaciada, às vezes congesta e com a superfície coberta por um exsudato que pode ser claro ou turvo (HIPOLITO, 1979).

Sistema Urinário

As amostras nefrotóxicas produzem de moderada a severa diarreia, desidratação e graves lesões renais com nefrite, nefrose e urolitíase (GELB et al., 1991; Di FABIO, 1993).

Especula-se se a urolitíase não seria uma interação de um vírus da BI associado a altas dietas de cálcio e baixas de fósforo. Falta de água também não pode ser descartada (Di FABIO, 1993).

Cavanagh et al. (2003), citam autores que realizaram experimentos utilizando altos níveis de cálcio na alimentação das aves seguido por infecção com a cepa Gray desenvolvendo assim urolitíase e lesões renais. Em contrapartida, nas mesmas condições, somente o aumento da taxa de cálcio na alimentação das aves durante oito semanas não produziu urolitíase.

2.4.2. Aves de postura – matrizes e poedeiras comerciais

Sistema respiratório

Nas aves adultas as lesões são mais ou menos semelhantes às observadas nas aves em crescimento. O edema é geralmente bem pronunciado e a mucosa traqueal, não raro, se apresenta coberta por um exsudato mucoso (Di FABIO, 1993). Muitas vezes não apresentam lesão macroscópica na traquéia, mas podem tornar-se improdutivas apresentando atrofia ou hipotrofia do oviduto (BACK, 2002).

Em poedeiras comerciais, e menos freqüente em reprodutoras pesadas, pode ocorrer sinusite e traqueíte complicadas, quando a infecção com o VBI estiver associada com *M. gallisepticum* e *M. synoviae* (BACK, 2002).

Parsons et al. (1992) isolaram o VBI em dois lotes de matrizes de frangos de corte apresentando queda de produção e mortalidade elevada. As aves necropsiadas apresentaram carcaças pálidas, traqueíte e grande quantidade de muco. Rins estavam pálidos e aumentados de volume e pulmões congestos.

Sistema urinário

As lesões vão de discretas, como um ligeiro aumento renal, a um quadro de urolitíase que é uma condição de degeneração renal seguida de atrofia renal, fibrose, presença de pedra nos rins formada nos ductos coletores e ureteres de aves afetadas. Aves mortas geralmente apresentam um quadro de gota úrica visceral (GELB et al., 199; Di FABIO, 1993).

Nefropatias crônicas ou mesmo problemas digestivos induzidos pelo VBI de tropismo diferenciado, podem comprometer a qualidade da casca devido à alteração no metabolismo do cálcio, fósforo e minerais essenciais (ITO, 1999).

Sistema reprodutor

Fase de viremia em que algumas cepas podem atingir e lesar o sistema reprodutor causando atrofia de ovário, ooforite não purulenta, salpingite com queda leve a severa na produção de ovos (Di FABIO, 1993).

De modo geral não são observadas lesões macroscópicas no oviduto, exceto discreto encurtamento. No entanto, a severidade das lesões macro e microscópicas podem variar conforme a patogenicidade da amostra, idade de infecção, tempo pós-infecção, e associação com *E. coli* (ITO, 1999).

Material fluido da gema pode ser encontrado na cavidade abdominal das fêmeas em produção infectadas pelo VBI (CAVANAGH et al., 2003).

Quando a infecção ocorre nas primeiras semanas de vida ou durante a maturação do sistema reprodutor, observam-se aves com oviduto e ovário infantil, tornando-se improdutivas ao longo da vida (BACK, 2002).

Sistema Digestivo

Amostras de VBI com enterotropismo podem estar associadas com

gastroenteropatias, diarréias, diurese e injúria epitelial na bolsa de Fabrícus (Di FABIO, 1993; ITO, 1999).

Em 1996, na China, foi descrito um sorotipo de VBI causando lesões no proventrículo em frangos de corte. A doença era caracterizada por um inchaço no proventrículo, hemorragia e ulceração do órgão (CAVANAGH et al., 2003).

No mesmo país, foram descritos casos em que as aves apresentavam sinais de depressão, olhos inchados, lacrimejamento, diarréia e sinais respiratórios. A morbidade foi de 100% e a mortalidade 20%. Lesões macroscópicas demonstraram que a lesão primária foi o aumento de tamanho/inchaço do estômago glandular (CAVANAGH et al., 2003).

2.4.3. Lesões Microscópicas

Microscopicamente observa-se hiperplasia e metaplasia epitelial na traquéia e nos brônquios, edema e infiltração de heterófilos, monócitos e linfócitos na lâmina própria (BACK, 2002).

Infiltração linfocitária também pode ser vista no oviduto, associada com metaplasia do epitélio, dilatação glandular e proliferação dos folículos linfóides. O epitélio do oviduto das fêmeas adultas apresenta-se edemaciado e com infiltração de células inflamatórias (BACK, 2002).

As lesões renais são características de nefrite intersticial. O vírus causa uma degeneração hidrópica, vacuolização e descamação do epitélio tubular, infiltração severa de heterófilos no interstício nos estágios agudos da doença. As lesões nos túbulos são mais proeminentes na medular. Áreas focais de necrose podem ser vistas como indicadores de regeneração do epitélio tubular (CAVANAGH et al., 2003).

Em muitos casos, as alterações degenerativas podem persistir e provocar uma severa atrofia de uma ou todas as divisões dos néfrons. Na urolitíase, os ureteres associados com a atrofia renal ficam distendidos por acúmulos de uratos formando cálculos (CAVANAGH et al., 2003). Observa-se também necrose do epitélio tubular e acúmulo de material necrótico no lúmen (BACK, 2002).

Algumas lesões de BI foram descritas por El-Houadfi et al. (1986) em um

estudo que caracterizou seis isolados do vírus no Marrocos. Os pintinhos de um dia inoculados com as estirpes dos VBI apresentaram lesões respiratórias típicas, como traquéia congesta e com acúmulo de muco, opacidade dos sacos aéreos, congestão dos sinusóides e com conteúdo mucoso, aumento de volume renal também foi observado em alguns casos.

As alterações microscópicas na traquéia caracterizaram-se por perda de cílios e de glândulas mucosas, adelgaçamento do epitélio, infiltrado de células mononucleares e edema.

2.5. Miopatia Peitoral

A BI continua sendo a causa de sérios problemas econômicos na indústria avícola devido à constante recombinação do vírus, conseqüente surgimento de novos sorotipos, sua vasta disseminação e o tropismo pelos diferentes tecidos (DHINAKAR e JONES, 1996).

Em 1991, foi identificada uma variante do VBI na Grã-Bretanha, em machos de reprodução vacinados, associada com alta mortalidade das aves e miopatia bilateral do músculo peitoral superficial e peitoral profundo, lesão até então nunca descrita relacionada com infecção pelo VBI. A nova variante foi denominada de 793/B ou 4/91 (GOUGH et al., 1992). Não foi possível distinguir a lesão de miopatia observada daquela, sem etiologia específica, descrita por Wight e Siller em 1980.

A vacina contra BI usada comumente H120, sorotipo Mass, oferece pouca proteção contra esta nova variante (Parsons et al., 1992; COOK et al., 1996).

Quatro anos depois da primeira identificação, Cook et al. (1996) analisaram várias amostras de soros de lotes de aves comerciais de diferentes países com suspeita de infecção pelo IBV 4/91. Os soros eram originados de lotes de matrizes de frangos de corte e poedeiras comerciais, com histórico de infecção respiratória nas aves adultas e quedas de produção e qualidade de ovos, algumas vezes acompanhadas de mortalidade. A análise dos soros confirma a presença do IBV 4/91 não só na Europa, mas também na Grécia, México, Espanha, Tailândia, Nova Zelândia, França e Alemanha.

Com o objetivo de conhecer mais sobre o VBI causador desta forma atípica

da doença, Dhinakar Raj e Jones (1996) estudaram a imunopatogênese do isolado 793/B ou 4/91 causador de miopatia peitoral. Foram realizadas inoculações experimentais em pintinhos SPF e em frangos de corte com seis semanas, sendo as aves sacrificadas em idades determinadas. Para análise histopatológica, foram coletadas traquéia, glândula de Harder, músculo peitoral e rins dos frangos de corte, e dos pintinhos SPF, apenas músculo peitoral.

Nos pintinhos SPF não foram observados sinais respiratórios evidentes e nem mortalidade durante os 21 dias. A traquéia nos dias três e cinco pós-inoculação (p.i.) apresentou-se congesta, com acúmulo de muco e pulmões também congestionados. Tecidos respiratórios demonstraram-se normais a partir do dia sete (p.i.). Rim aumentado e pálido no vigésimo primeiro dia (p.i.), mas não foi observado acúmulo de uratos. Três aves do grupo apresentaram músculo peitoral pálido em três dias (p.i.). O exame histopatológico do músculo não revelou alterações significativas, exceto um edema separando as fibras musculares.

Os frangos de corte com seis semanas apresentaram sinais respiratórios leves com tosse e espirros até três dias (p.i.) e diarreia esverdeada. Na necropsia, traquéia com bastante muco no terceiro dia (p.i.). O músculo peitoral se apresentou pálido e edematoso em vinte e um dias (p.i.). Análise histopatológica demonstrou lesões na traquéia, características de infecção por VBI, mas músculo e rins não apresentaram lesões.

Com relação ao isolamento viral, este foi mais alto no esôfago seguido de traquéia, rim, pulmão, reto, bursa, tonsilas cecais, proventrículo, íleo e duodeno. Não foi isolado vírus do jejuno nem do músculo peitoral em nenhuma ocasião.

Os autores puderam concluir que o isolado 793/B se distribui nos tecidos respiratórios, digestivo e urinário, entretanto o tropismo e a persistência diferem pela idade da ave. As particularidades do 793/B são as lesões musculares, rápida eliminação do vírus do trato respiratório em frangos de seis semanas e a replicação do vírus no intestino. A patogênese do dano muscular não foi esclarecida, acredita-se que possa ser resultado de deposição de imunocomplexos nas paredes dos capilares (DHINAKAR RAJ e JONES, 1996).

Estudos da seqüência aminoacídica da proteína S₁ têm demonstrado que os membros do subgrupo 4/91 do VBI diferem de outros isolados europeus e americanos entre 21% a 48% (DHINAKAR RAJ e JONES, 1996).

No Brasil, essa forma atípica da doença ainda não havia sido descrita. A partir

do ano de 2003, surgiram os primeiros casos de VBI causando lesões de miopatia peitoral.

Brentano et al. (2005) investigaram três lotes de matrizes pesadas com suspeita de BI atípica buscando realizar o isolamento do vírus para diagnóstico e a reprodução experimental. Os lotes apresentaram sinais clínicos de apatia, dificuldade respiratória, aumento de mortalidade, queda de produção e aparecimento de ovos com casca fina. Na necropsia, foram observadas necrose e/ou edema na musculatura do peito e casos de hipertrofia renal com retenção de uratos. Através do isolamento viral e PCR, foi confirmada a presença da BI atípica nos três lotes de matrizes suspeitos. Os autores confirmaram o diagnóstico de BI também por reprodução da doença respiratória e renal *in vivo*, mas não foi possível reproduzir as lesões de miopatia em aves leves SPF.

Esses surtos observados no Brasil assemelham-se aos descritos inicialmente na Europa, cujo novo sorotipo identificado foi o 793/B ou 4/91. Brentano et al. (2006) realizaram o seqüenciamento do gene S₁ dos VBI isolados dos três lotes de matrizes com BI atípica. Nenhuma das três amostras analisadas se agrupa com a 4/91 descrita como novo sorotipo de VBI associado com lesões de miopatia peitoral. Os autores concluem que, através dos resultados da filogenia, não há necessariamente uma relação entre o sorotipo variante e as novas lesões de miopatia observadas.

Devido ao aparecimento de outras formas clínicas de BI, e sendo o sorotipo Massachusetts o único liberado para vacinação no Brasil, Trevisol et al. (2006) realizaram testes para avaliar a capacidade da amostra vacinal viva H120 proteger as aves desafiadas com uma amostra de BI isolada de caso clínico de miopatia. Avaliaram-se sinais clínicos, lesões macroscópicas, e fez-se tentativas de recuperação viral e análise de ciliostase para determinação dos índices de proteção. Não houve reprodução das lesões de miopatia e os únicos sinais visíveis foram de estertores pulmonares e presença de muco nas traquéias.

Através do teste vacinal, houve redução dos sinais clínicos, mas não completa redução da ciliostase e a alta taxa de recuperação viral demonstra que a amostra atípica de VBI analisada é uma variante contra a qual não há completa proteção cruzada pelo sorotipo Massachusetts.

Gomes (2004) na tentativa de correlacionar a lesão de miopatia peitoral com um vírus variante de BI, realizou um estudo em sete granjas de frangos de corte que apresentaram altas taxas de mortalidade a partir dos 25 dias de idade. Os sinais

clínicos observados foram diarreia aquosa e, na fase final, estertores traqueais e espirros. As alterações macroscópicas observadas foram músculo peitoral superficial com manchas pálidas difusas de forma uni ou bilateral e o músculo peitoral profundo com intensa palidez, edema gelatinoso e discreta hemorragia na fáscia muscular. Não foram encontradas alterações significativas na histopatologia, apenas um grande espaço entre as fibras musculares. Através de isolamento viral e PCR o autor isolou da traquéia, rins e tonsilas cecais uma amostra considerada variante de VBI. Não foi possível isolar o vírus do músculo peitoral.

Lesões de miopatia peitoral em lotes de matrizes também foram observadas por Wight e Siller (1980), porém a única enfermidade associada ao aparecimento da lesão foi a pododermatite. Os autores classificaram as lesões peitorais macroscopicamente em três categorias: edema agudo progredindo a uma necrose esverdeada, presença de uma cicatriz localizada centralmente e pela presença de tecido fibroadiposo. Microscopicamente a lesão de coloração esverdeada consistia de necrose com fibras musculares anucleadas circundadas por uma cápsula fibrosa com uma borda interna reativa, sem infiltrado inflamatório. Os achados indicam se tratar de uma necrose isquêmica, lesão não relacionada à infecção pelo VBI.

2.6. Diagnóstico

O histórico e os sinais clínicos orientam o diagnóstico presuntivo, mas isso só é possível nos estágios finais da doença, quando outros fatores como duração da doença e índice de mortalidade são conhecidos. Nos estágios iniciais a BI pode ser facilmente confundida com outras doenças respiratórias, como a doença de Newcastle, laringotraqueíte infecciosa, coriza e a doença crônica respiratória (HIPOLITO et al., 1979).

Independente dos sistemas afetados, os sinais clínicos desencadeados e as lesões macro e microscópicas não são patognomônicas de uma infecção pelo VBI, sendo necessárias outras providências posteriores aos exames clínico e anatomopatológico para confirmação da infecção (RESENDE, 2003).

Para o sucesso da detecção do VBI em surtos de campo, é necessário o conhecimento da patogênese do vírus nas aves para minimizar a ocorrência de erros

de diagnóstico. A detecção do vírus é influenciada por numerosos fatores, dentre eles, cita-se o tempo do início da infecção e a amostragem; nível de imunidade da ave no momento da infecção; número de aves amostradas; escolha e qualidade dos órgãos coletados para análise; genética da ave; e possibilidade de imunossupressão (WIT, 2000).

O diagnóstico de BI deveria incluir o sorotipo do vírus causal devido à grande variação antigênica das cepas de VBI. Técnicas para detecção do VBI ou anticorpos induzidos pelo vírus são descritas e comparadas por Wit (2000).

Seguem, nos itens abaixo, algumas considerações sobre o diagnóstico de BI.

2.6.1. Isolamento do vírus

Fragmentos de traquéia, pulmão e rins constituem o material de eleição para o isolamento do vírus (HIPOLITO et al., 1979).

Todos os VBI podem ser isolados do trato respiratório, onde a maior concentração de vírus está na traquéia entre os primeiros três a cinco dias após a infecção. Após este período, a concentração do vírus cai rapidamente. Rins, tonsilas cecais e swab cloacal são órgãos de eleição no caso de infecção crônica ou em lotes vacinados onde é esperada uma pequena quantidade de vírus no trato respiratório (WIT, 2000).

Amostras para isolamento viral são comumente inoculadas em ovos embrionados. O material coletado, geralmente um pool de órgãos, é triturado e tratado conforme rotina laboratorial (HIPOLITO et al., 1979). Recomenda-se inoculação em embriões de 9 a 12 dias de idade pela cavidade alantóide. Após sete dias, verifica-se a mortalidade, nanismo e enrolamento do embrião e depósito de uratos nos mesonéfrons.

A inoculação de pintos suscetíveis com líquido alantóide colhido da primeira passagem, pode abreviar o diagnóstico, já que a mortalidade e o encontro de lesões podem ocorrer nesta fase. Nos casos positivos, os sinais respiratórios como ruídos traqueais, aparecem de 18 a 36 horas após a inoculação. Juntando-se essa a outras informações, o diagnóstico pode ser feito em três a quatro dias.

Em aves vacinadas, é necessário combinar dados de isolamento viral, análise de patogenicidade e aumento de título de anticorpos circulantes após a ocorrência

do quadro clínico (BACK, 2002).

O isolamento também pode ser feito em cultura de células primárias de rim de embrião ou de pinto recém-nascido e no epitélio de anel de traquéia. Quando ocorre o crescimento do VBI, observa-se efeito citopático nas culturas de células renais, caracterizado pelo aparecimento de células birrefringentes arredondadas. Anéis de traquéia infectados com o VBI apresentam ciliostase ou perda dos movimentos dos cílios e degeneração com descamação das células epiteliais (BACK, 2002).

2.6.2. Diagnóstico sorológico

Os métodos sorológicos são altamente recomendáveis para identificação da BI pela sua especificidade e pela reprodutibilidade dos resultados. Baseia-se na demonstração de um título ascendente de anticorpos no soro das aves afetadas, colhida a primeira amostra, na fase inicial da doença, e a segunda, duas a três semanas após. O título baixo na primeira amostra e o aumento do mesmo na segunda amostragem é a prova da existência da infecção por VBI (HIPOLITO et al., 1979).

A sorologia de rotina para o VBI é usualmente feita com vírus-neutralização, Inibição da hemaglutinação ou ELISA, individualmente ou associados.

- Vírus-neutralização (VN): é o processo preferido para identificar sorologicamente o VBI, usando-se a amostra Beaudette. Se o anti-soro neutraliza o vírus, o diagnóstico está feito, mas os resultados negativos podem ser atribuídos a um vírus da bronquite de grupo sorológico distinto ou a um vírus diferente.

- Inibição da hemaglutinação (IH): 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 é a detecção no soro do animal de anticorpos que inibem a hemaglutinação por um vírus específico. O vírus da BI não é naturalmente hemaglutinante, necessitando de tratamento prévio com a enzima fosfolipase tipo C para exposição das hemaglutininas, o que torna essa prova muito trabalhosa e de difícil padronização (Di FABIO e ROSSINI, 2000).

- ELISA: o teste de ELISA é amplamente utilizado na sorologia. A resposta de anticorpos pode ser detectada mais precocemente pelo ELISA do que pelo teste de

VN (RESENDE, 2003). No entanto, uma grande quantidade de vírus é necessária para que seja detectado antígeno pelo teste de ELISA, uma vez que a sensibilidade para detecção de VBI diretamente em órgãos é baixa. Esta técnica é muito usada quando há uma grande quantidade de amostras a serem analisadas (WIT, 2000).

Também podem ser usadas para pesquisa de anticorpos de bronquite, os testes de precipitação em ágar-gel (AGP), Imunofluorescência, Imunoperoxidase, imunistoquímica e para detecção do genoma do VBI, PCR e RT-PCR que são muito utilizados atualmente (WIT, 2000).

2.6.3. Diagnóstico diferencial

Existem outros agentes infecciosos que podem ocasionar os mesmos quadros clínicos observados na BI, tais como a Doença de Newcastle (DN), Laringotraqueíte (LT), Coriza infecciosa (CI) e Síndrome da Queda de Postura (EDS).

Segundo Di Fabio e Rossini (2000), existem sinais característicos que permitem diferenciá-las da BI. Na DN, tem-se um quadro mais severo, com mortalidade elevada e por vezes, sinais nervosos. Na LT, a disseminação é mais lenta. Já na CI, observa-se 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 EDS. A diferença entre elas reside no fato de que na EDS não há alteração da qualidade da albumina, o que ocorre na BI.

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

2.7. Controle e Vacinação

No Brasil, o único sorotipo liberado para vacinação é o Mass. A decisão de se optar por VBI vacinais deste sorotipo baseou-se no fato de que conferiam uma imunogenicidade mais ampla, inclusive sobre VBI pertencentes a outros sorotipos (RESENDE, 2003).

Atualmente, não existe amostra ou combinação de amostras vacinais de diferentes sorotipos que produzam proteção cruzada completa contra variantes emergentes (Di FABIO, 2004).

São utilizadas basicamente as cepas H120 e H52 vivas ou inativadas. O esquema básico seria uma vacina nas primeiras semanas H120 ocular e após uma vacina H52 viva por *spray* ou ocular, ou ainda, uma vacina inativada geralmente associada a Newcastle e/ou EDS ou Coriza Infecciosa. Durante a produção se utilizam uma ou duas vacinações com cepas H120 ou H52 vivas (Di FABIO, 1993).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais analisados foram provenientes de surtos de campo acompanhados entre 2005 e 2006 nas regiões Oeste e Sul de Santa Catarina, nos quais as aves apresentavam sinais clínicos compatíveis com Bronquite Infecciosa, tanto em frangos de corte como em matrizes. Alguns casos acompanhados não apresentaram sinais clínicos característicos de BI, porém exames complementares confirmaram o diagnóstico.

Da maioria dos surtos, foram coletados sangue para exame sorológico (CARDOSO et al., 1996) e, de todos os surtos, órgãos para análise histopatológica no Laboratório de Patologia da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC/CAV.

3.1 Materiais coletados

Em todos os casos acompanhados, as aves foram sacrificadas por deslocamento cervical, necropsiadas e coletados músculo peitoral superficial e profundo, traquéia, pulmão, rins, coração, proventrículo, moela, intestino delgado e grosso.

As amostras coletadas foram mantidas em formol neutro, 10%, para fixação. Após, os tecidos foram incluídos em parafina, cortados em micrótomo na espessura de quatro a cinco micras (μm), corados com hematoxilina e eosina (H&E) conforme as técnicas de rotina, e analisados em microscópio óptico (MO). Alguns cortes de músculo peitoral foram submetidos à coloração especial de Tricômico de Masson (PROPHET et al., 1992) para observação de tecido fibroso.

Os cortes de músculo peitoral foram fixados sobre superfície de papelão e presos nas duas extremidades através de alfinetes para evitar artefatos de contração muscular.

Em todos os lotes foi realizado exame sorológico através de coleta de sangue por venopunção.

3.2. Descrição dos surtos

Foram incluídos neste estudo lotes de frangos de corte que apresentaram sinais clínicos e mortalidade na faixa etária compatível com casos de BI ocorrida em lotes anteriores no mesmo local.

No caso ocorrido em matrizes, foram selecionados lotes que possuíam sinais clínicos compatíveis com BI.

Nos surtos acompanhados foram realizadas necropsias de algumas aves, observadas lesões macroscópicas e coletados órgãos para exame histopatológico, conforme descrito no item 3.1.

Todos os lotes de matrizes foram vacinados contra BI na recria e produção com a cepa H120 ou MA5, sorotipo Massachussets.

3.2.1. Surto nº 01

Duas granjas de frangos de corte, com idade de 45 dias, localizadas em Orleans, Santa Catarina, com sistema automatizado e capacidade para 27.000 aves.

As aves foram vacinadas com cepa H120 no 1º e 10º dias. Sinais clínicos iniciaram a partir de 21 dias de vida do lote, período em que foi realizada a coleta de sangue para exame sorológico. A histopatologia foi realizada aos 45 dias de vida.

Deste lote, foram separadas oito aves para observação da evolução da doença e da lesão muscular.

Assim, com um intervalo de 15 a 20 dias, uma das aves era sacrificada, realizada a necropsia, coletava-se o material respectivo e comparava-se, através da microscopia, a evolução das lesões do músculo peitoral.

3.2.2. Surto nº 02

Cinco granjas de frangos de corte, com idade de 30 dias, localizadas na Região do Vale do Rio do Peixe.

Aves vacinadas contra a doença de Gumboro no campo com 14 ou 18 dias dependendo da região. Matrizes vacinadas contra BI com a cepa H120 ou MA5 nas semanas 33, 43 e 53.

3.2.3. Surto nº 03

Granja de matriz de frango de corte, localizada no Vale do Rio do Peixe, formada por seis núcleos de múltiplas idades com capacidade para 40.000 aves. Sinais clínicos ocorreram em dois núcleos com intervalo de uma semana entre eles.

Lote A

Matrizes com 36 semanas apresentando aumento da mortalidade quatro dias após acasalamento de machos provenientes de outro lote.

Lote B

Matrizes com 28 semanas apresentando aumento de mortalidade e queda de produção.

3.2.4. Surto nº 04

Monitoria de Bronquite Infecciosa realizada em granjas de frangos de corte, devido à suspeita de infecção pela observação de sinais clínicos compatíveis com a doença.

Lote A

Lote de frangos de corte com idade de 31 dias.

Lote B

Frangos de corte com 32 dias.

4. RESULTADOS

Todos os casos acompanhados são referentes a surtos de campo ocorridos no período de 2005 e 2006 em matrizes e frangos de corte, nas regiões Oeste e Sul de Santa Catarina.

4.1. Surto nº 01

Analisaram-se dois lotes de 27.000 frangos de corte, com idade de 45 dias, apresentando aumento de mortalidade (4,7%), desuniformidade, atraso no desenvolvimento, ronquidão e apatia. Essas alterações foram observadas a partir de 21 dias de vida do lote.

Foram necropsiadas 20 aves de cada lote. As lesões macroscópicas observadas foram semelhantes nos dois lotes e se caracterizaram por aumento de volume renal em quase todas as aves (Figura 01). Algumas apresentaram rins aumentados e de coloração pálida e músculo peitoral profundo com estrias de coloração esbranquiçada distribuídas por toda a sua extensão (Figura 02).

Na microscopia, o músculo peitoral apresentou degeneração hialina de fibras, algumas com vacuolização e outras fibras individuais mostrando intensa miofagia. No corte longitudinal, observou-se hipercontração de fibras com perda das estriações transversais e edema intersticial. O rim apresentou glomérulos com hiperplasticidade de leve a moderada, degeneração tubular leve e infiltrado eosinofílico moderado intersticial. O fígado apresentou necrose individual de hepatócitos, infiltrado mononuclear focal e infiltrado moderado de eosinófilos no espaço porta. Intestino com infiltrado linfoplasmocitário difuso moderado.

Outro lote apresentou as mesmas lesões de rins e músculo descritas acima, mas também foram observadas lesões microscópicas na traquéia, que se caracterizaram por infiltrado mononuclear difuso severo. Não foram observadas lesões de fígado e intestino neste lote.

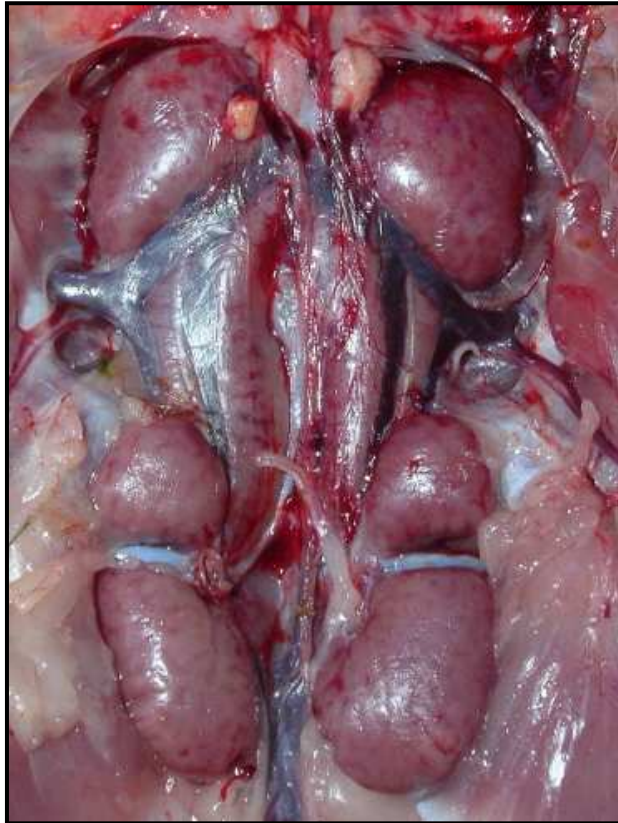


FIGURA 01 – Frango de corte 45 dias. Lesão renal. Rins aumentados de volume e pálidos. Surto nº1.



FIGURA 02 – Frango de corte 45 dias. Músculo peitoral profundo com áreas e estrias pálidas. Surto nº 1.

Através do exame sorológico das aves realizado aos 21 dias de vida, foi constatada a presença de infecção pelo Vírus da Bronquite Infecciosa, sendo confirmada pelas lesões no exame histopatológico.

Deste mesmo lote, foram separadas oito aves e necropsiadas em seqüência com intervalos de 10 a 15 dias cada uma, para observação da evolução das lesões. A descrição das lesões macro e microscópicas observadas em cada ave seguem relatadas nos itens abaixo.

4.1.1. Aves com 56 dias

Macroscopicamente, o músculo peitoral profundo apresentou algumas pequenas áreas de coloração mais esbranquiçada, e o rim apresentou-se aumentado de volume.

Na microscopia, o músculo apresentou degeneração hialina de fibras com vacuolização de algumas e edema intersticial (Figura 03); rim com leve hiperplasticidade do glomérulo, leve degeneração tubular e calcificação isolada de túbulos.

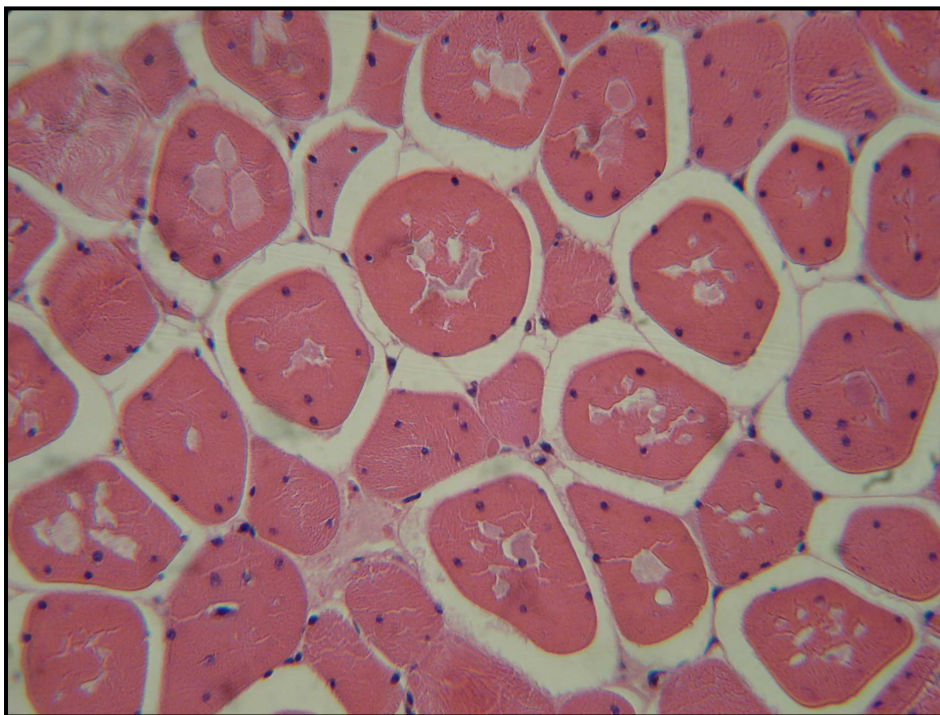


FIGURA 03 - Ave com 56 dias. Corte transversal de músculo peitoral profundo. Degeneração hialina de fibras, vacuolização e edema intersticial. H&E. MO. Obj. 40x. Surto nº 1.

4.1.2. Ave com 72 dias

Na macroscopia, o músculo peitoral profundo também apresentou algumas pequenas áreas de coloração mais esbranquiçada e rins aumentados de volume e de aspecto pálido.

Microscopicamente, a traquéia apresentou leve infiltrado linfocitário na mucosa; músculo peitoral com degeneração individual de fibras e miofagia de algumas fibras; rim com leve hiper celularidade glomerular, degeneração tubular moderada e infiltrado multifocal linfocitário intersticial.

4.1.3. Ave com 98 dias

Macroscopicamente, o músculo peitoral profundo apresentou uma extensa área longitudinal de coloração esbranquiçada e algumas estrias no sentido paralelo de coloração esbranquiçada. Foram observadas também, pequenas áreas de coloração avermelhada sobre a musculatura peitoral profunda (Figura 04).

Microscopicamente, o músculo apresentou intensa degeneração hialina com vacuolização, edema intersticial acentuado e algumas fibras apresentaram leve mineralização central. No corte longitudinal, foi observada intensa hiper contração de fibras, vacuolização e intensa formação de gotas hialinas (Figura 05). Foi observada igualmente, miofagia individual de fibras.

O rim apresentou hiper celularidade de leve a moderada, degeneração tubular leve e infiltrado linfocitário intersticial leve difuso.



FIGURA 04 – Ave com 98 dias. Músculo peitoral profundo difusamente esbranquiçado. Surto nº 1.

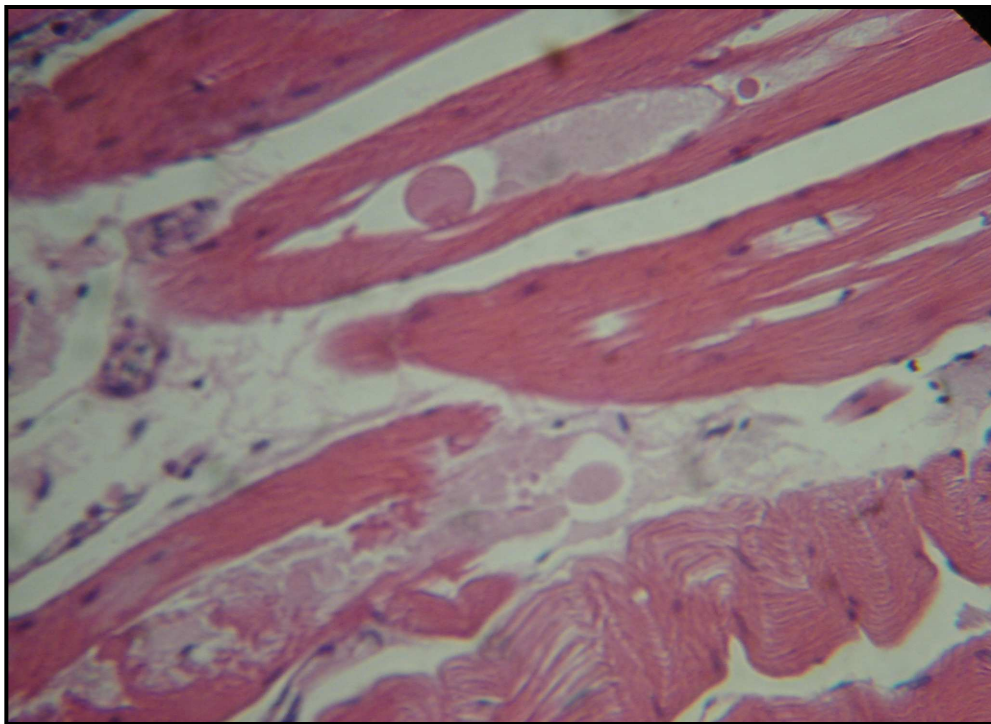


FIGURA 05 - Ave com 98 dias. Corte longitudinal de músculo peitoral profundo.
Hipercontração de fibras, vacuolização e degeneração em gotas hialinas. Surto nº 1.
H&E. MO. Obj 40x.

4.1.4. Ave com 115 dias

Macroscopicamente, o músculo peitoral profundo esquerdo apresentou uma extensa área pálida, que após o rebatimento da fáscia, apresentou consistência diminuída na superfície. Observou-se também uma pequena área de coloração vermelho-escuro sobre a área pálida (Figura 06). Não foram observadas alterações renais significativas.



FIGURA 06 - Ave com 115 dias. Músculo peitoral profundo com extensa área branco-amarelada de consistência diminuída. Surto nº 1.

Microscopicamente, o músculo apresentou degeneração hialina de fibras difusa moderada, vacuolização, focos com intensa miofagia, infiltrado focal eosinofílico, edema intersticial, áreas com fibrose, hemorragia multifocal e proliferação vascular moderada (Figura 07).

No rim, foi observada hiper celularidade de leve a moderada, infiltrado linfocitário multifocal intersticial e degeneração tubular leve. O pulmão apresentou hiperplasia linfóide peribronquial.

Para melhor observação das áreas de fibrose, foi realizada coloração de Tricômico de Masson (Figura 08). Assim, foram evidenciadas áreas com intensa fibrose e leve infiltração de tecido fibroso entre as fibras musculares envolvendo-as individualmente.

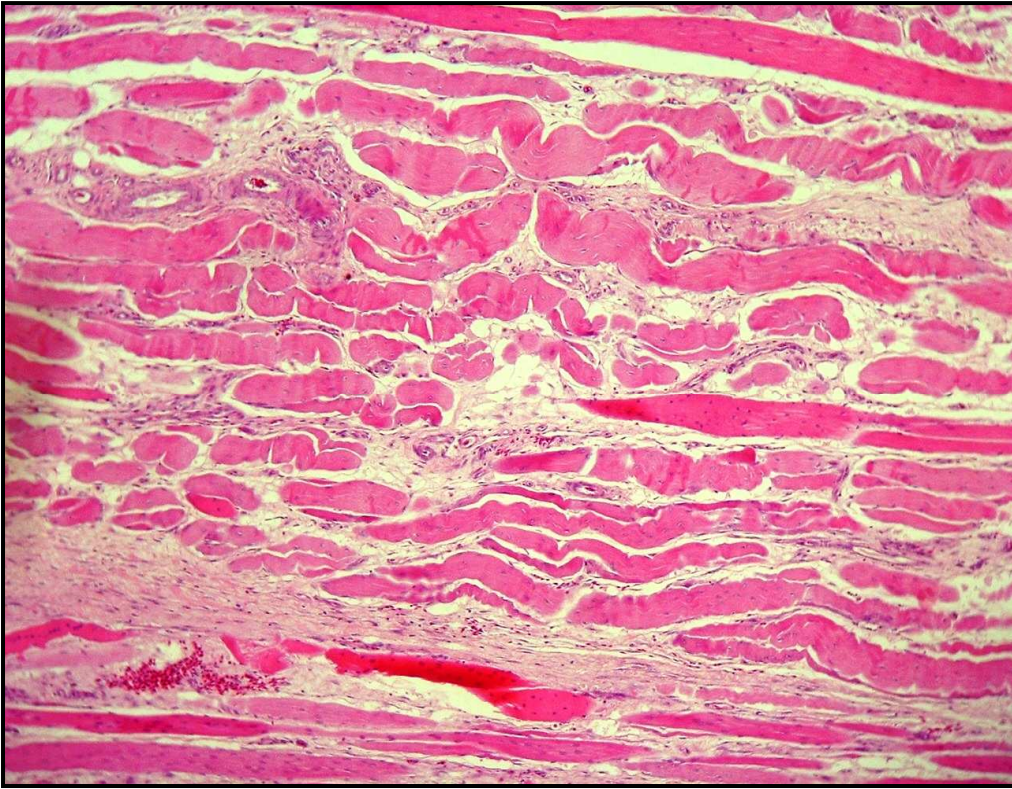


FIGURA 07 – Frango de corte com 115 dias. Músculo peitoral profundo com extensa área de necrose, intensa miofagia e fibrose. Surto nº1. H&E. MO. Obj. 40x.

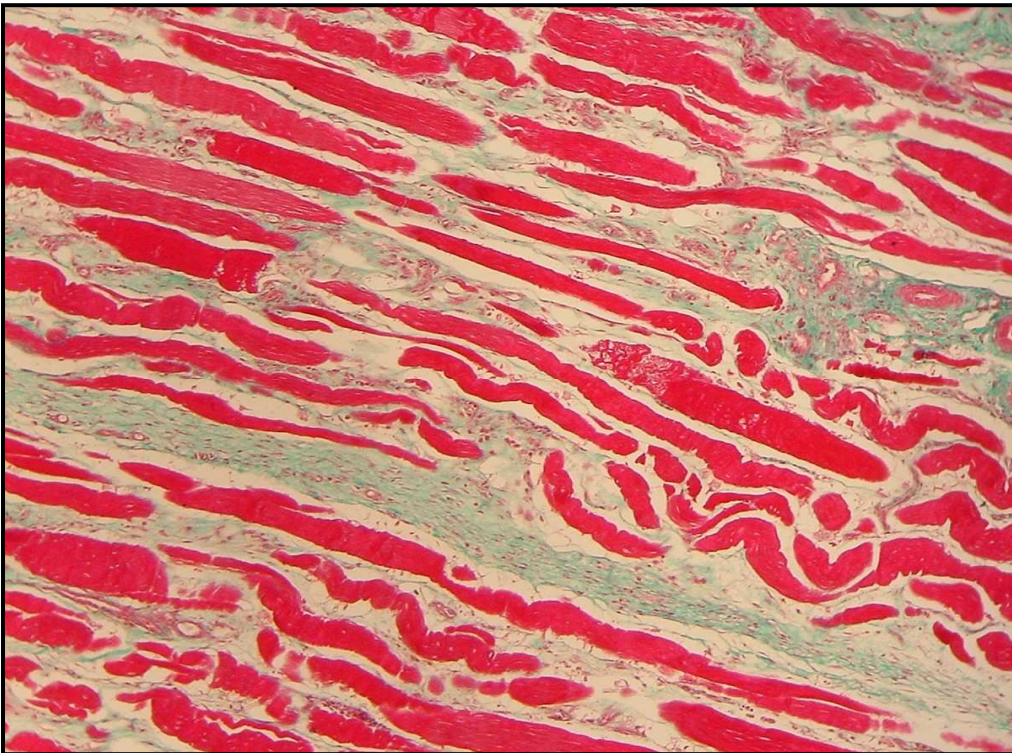


FIGURA 08 – Frango de corte com 115 dias. Músculo peitoral profundo com intensa fibrose. Tricômico de Masson. Surto nº1 MO. Obj. 40x.

4.2. Surto nº 02

Analisaram-se cinco lotes de frangos de corte, com idade de 30 dias, apresentando condenação bastante elevada no abatedouro devido à colibacilose.

A mortalidade durante a vida do lote não superou a meta esperada para a idade, porém a causa da morte da maioria dos frangos era a colibacilose.

Na necropsia, as aves apresentaram músculo peitoral profundo com estrias esbranquiçadas distribuídas por toda extensão, rins aumentados de volume, bursa aumentada de volume e algumas com aspecto gelatinoso, sendo que algumas aves apresentaram granuloma, devido à colibacilose.

Microscopicamente, o músculo peitoral apresentou degeneração hialina de fibras, algumas com intensa miofagia (Figura 8) e outras com vacuolização e edema intersticial leve. O rim apresentou hiper celularidade de leve a moderada, degeneração tubular moderada e infiltrado linfocitário multifocal. A traquéia apresentou infiltrado linfocitário difuso moderado na mucosa. Dois lotes apresentaram cortes de pulmão com hiperplasia linfóide peribronquial e infiltrado linfocitário intersticial moderado.

A sorologia e o PCR (BOOM et al., 1990) de rim, traquéia e pulmão realizados no período foram positivos para BI. Não se vacinavam os frangos de corte contra BI no período dos surtos, apenas as matrizes.

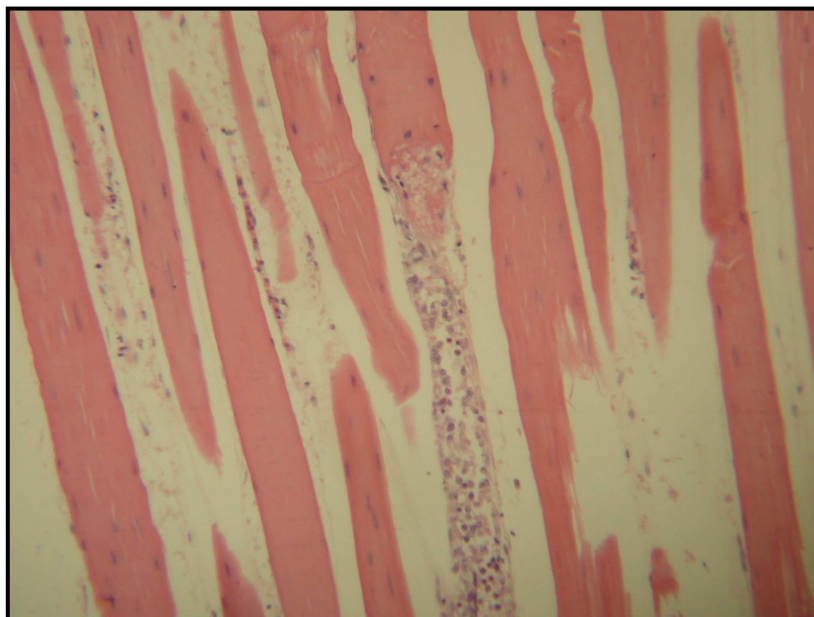


FIGURA 09 - Frango de corte com 30 dias. Corte longitudinal de músculo peitoral profundo demonstrando intensa miofagia de fibra. Surto nº 2. MO. Obj. 40x.

4.3. Surto nº 03

4.3.1. Lote A

Analisado lote de 35.000 matrizes de frangos de corte, com 36 semanas de idade, apresentando aumento de mortalidade quatro dias após a introdução de machos para reposição, queda de produção (4,4%), aves paradas, algumas com bico aberto, demora no consumo de ração de até cinco horas, sendo que a ingestão normal seria realizada em duas horas.

Foram necropsiadas oito aves. As fêmeas apresentaram alterações de formato de ovário, duas apresentaram formato pendular e outras duas ovário marcado como um cinto. Apenas uma apresentou músculo peitoral profundo de aspecto pálido. Um macho apresentou músculo peitoral com edema bastante acentuado, laringe com petéquias, tonsilas cecais avermelhadas e aumentadas de tamanho.

Microscopicamente, a traquéia apresentou infiltrado linfocitário difuso moderado na mucosa (Figura 10); pulmão com degeneração hialina dos vasos com endotélio reativo, hiperplasia linfóide peribronquial moderada, presença de exsudato catarral na luz de brônquio e calcificação focalmente extensa dos capilares aéreos; rim com hiperplasia de moderada a acentuada e difusa, infiltrado linfocitário multifocal e degeneração tubular moderada; o fígado apresentou infiltrado heterofílico moderado no espaço porta.

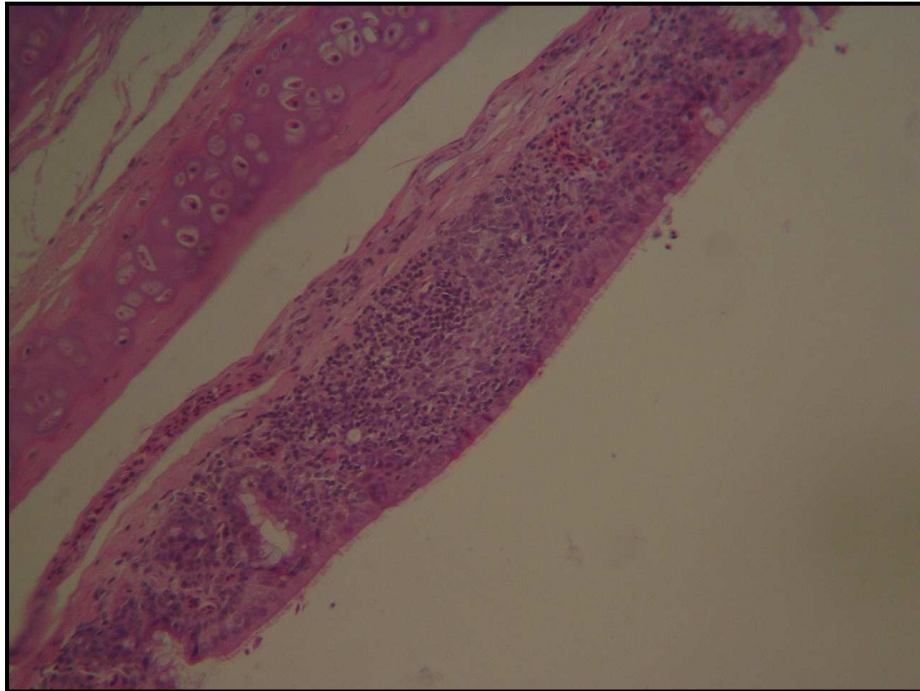


FIGURA 10 – Matriz com 36 semanas. Corte de traquéia demonstrando infiltrado linfocitário difuso moderado na mucosa. Surto nº 3. Lote A. H&E. MO obj. 100x.

4.3.2. Lote B

Outro lote, na mesma granja, com idade de 28 semanas, apresentou aumento de mortalidade, queda de produção (2.5%), aumento de refugagem de machos e demora no consumo de ração uma semana depois de observados os sinais clínicos no Lote A.

Não foram observadas lesões macroscópicas significativas exceto um macho com músculo peitoral profundo de coloração pálida.

Na microscopia, o músculo peitoral apresentou degeneração hialina difusa e leve edema intersticial; a traquéia apresentou infiltrado linfocitário difuso moderado na mucosa e infiltrado eosinofílico leve; rim com hiper celularidade de moderada a acentuada e difusa, infiltrado monuclear multifocal, degeneração tubular moderada (Figura 11 e 12) e alguns focos de necrose tubular.

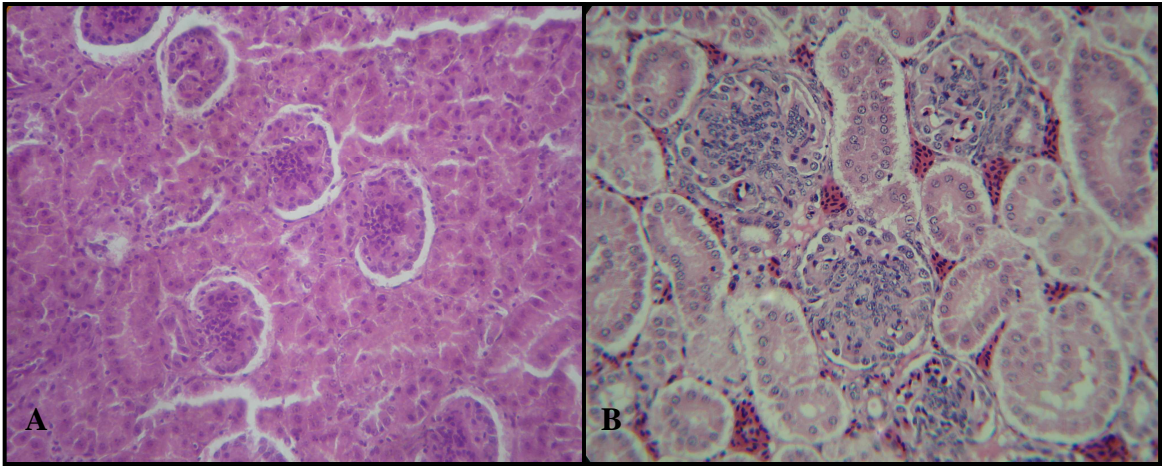


FIGURA 11 – Matriz com 28 semanas. A) Rim com glomérulos de tamanhos normais. B) Hiper celularidade de glomérulos. Surto nº 3. Lote B. H&E. MO. Obj. 40x.

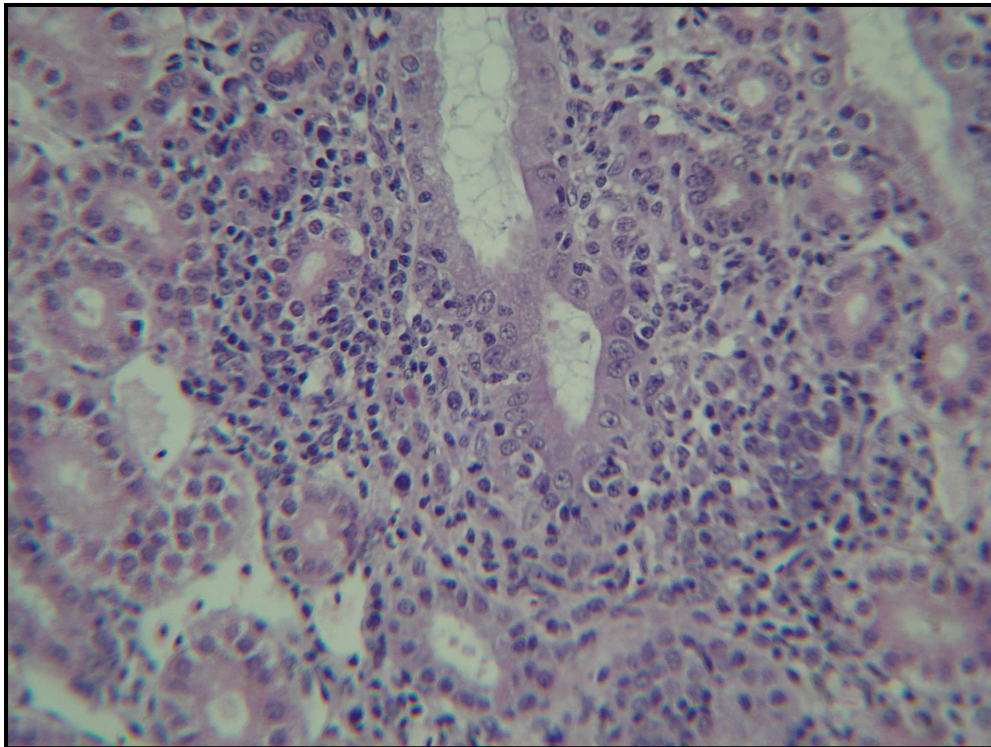


FIGURA 12 – Matriz com 28 semanas. Rim com infiltrado mononuclear intersticial. Surto nº 3. Lote B. H&E. MO. Obj. 40x.

4.4. Surto nº 04

Os casos descritos a seguir, referem-se a coletas de rotina em frangos de corte com 31 dias, devido ao aparecimento constante de lotes de baixo desempenho final e ronquidão.

Foram realizadas coletas de sangue para sorologia, órgãos para PCR e para exame histopatológico com suspeita de infecção pelo VBI.

Um dos lotes monitorados apresentou PCR positivo para VBI, porém se tratava de vírus vacinal.

4.4.1. Lote A

Estudou-se lote de frangos de corte com 31 dias. Macroscopicamente, foram observadas estrias esbranquiçadas no músculo peitoral profundo e rins levemente aumentados de volume.

Na microscopia, o músculo peitoral apresentou degeneração hialina de fibras, miofagia e vacuolização de fibras, além de edema intersticial. A traquéia apresentou infiltrado linfocitário leve na mucosa; rim com hiper celularidade glomerular moderada, degeneração tubular leve e infiltrado multifocal linfocitário.

4.4.2. Lote B

Analisaram-se frangos de corte com 32 dias. Na necropsia foram observadas as mesmas lesões do Lote A.

Microscopicamente, o músculo peitoral profundo apresentou degeneração hialina, vacuolização de fibras, edema intersticial, extensa área de necrose difusa acentuada com intensa miofagia e leve infiltrado linfocitário e heterofílico (Figura 13 e 14).

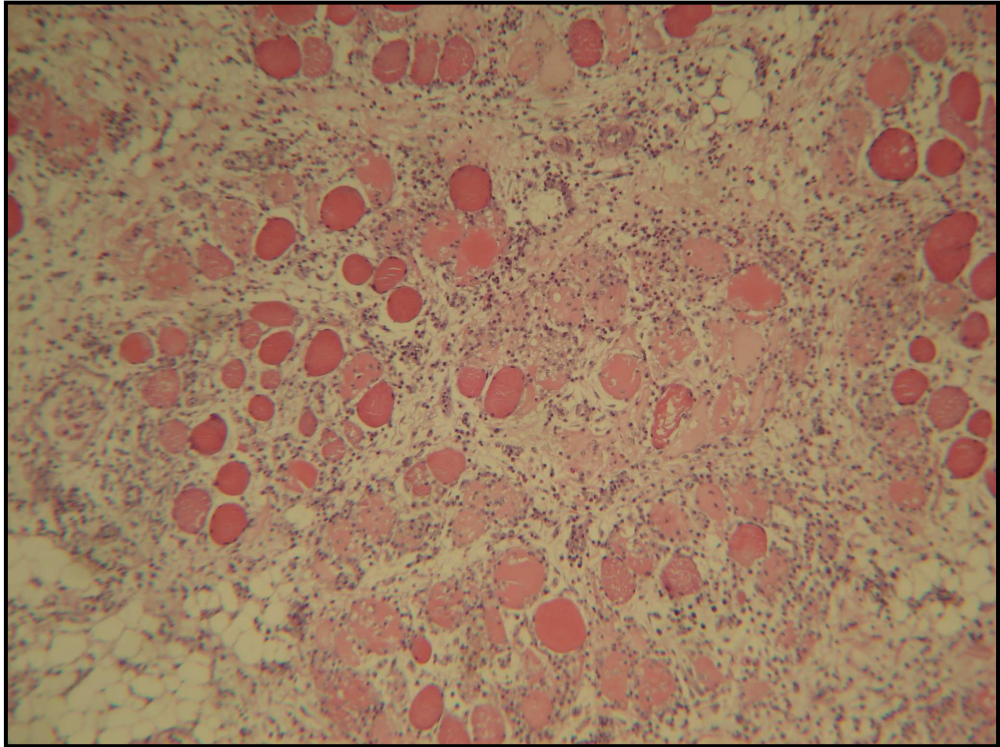


FIGURA 13 – Frango de corte com 32 dias. Músculo peitoral profundo apresentando miofagia intensa, vacuolização de fibras, degeneração hialina e edema intersticial. Surto nº 4. Lote D. H&E. MO obj. 40x.

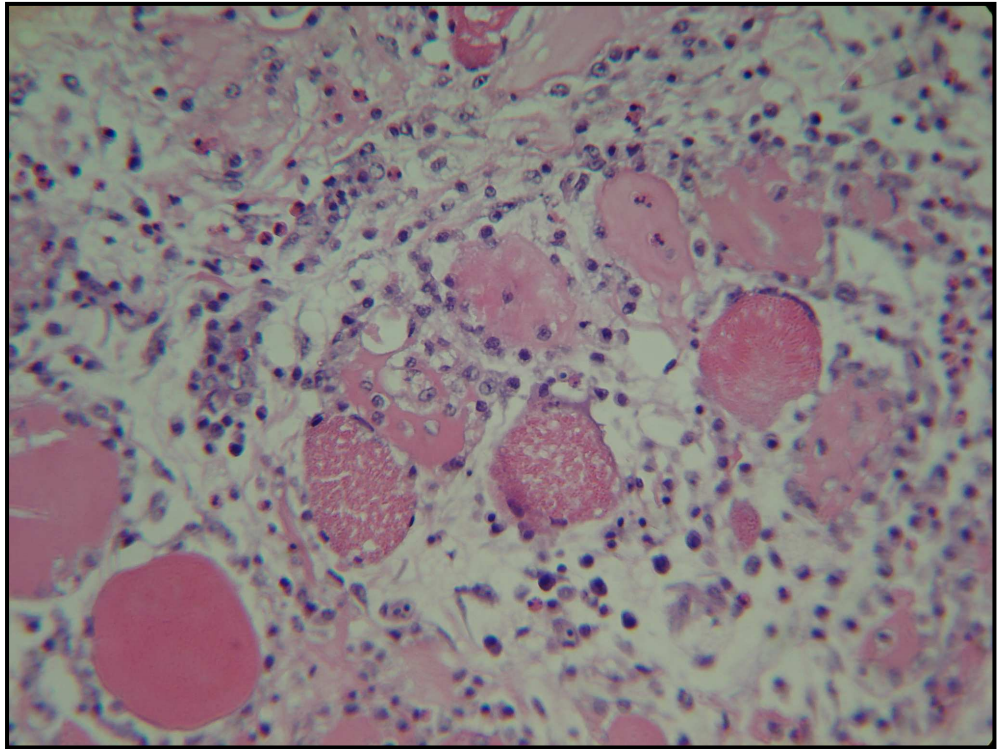


FIGURA 14 – Frango de corte com 32 dias. Músculo peitoral profundo apresentando miofagia intensa, vacuolização de fibras, degeneração hialina e edema intersticial. Surto nº 4. Lote D. H&E. MO obj. 40x.

5. DISCUSSÃO

O diagnóstico de miopatia pelo Vírus da Bronquite infecciosa das aves neste estudo foi confirmado pelos dados epidemiológicos, sinais clínicos, achados macro e microscópicos, pela sorologia positiva na maioria dos casos e PCR positivo no único caso em que foi realizada essa técnica.

O uso da sorologia também foi utilizado no diagnóstico da Bronquite Infecciosa quando do surgimento da variante nefropática (LAMAS, 1979).

No surto nº 03, uma análise de PCR foi positiva para VBI, porém a cepa identificada foi a vacinal, devido a uma reação de rolagem no incubatório entre aves vacinadas para as não vacinadas (PLONCOSKY 2006, comunicação pessoal).

Neste estudo foram descritas as lesões macro e microscópicas de nove casos de BI em frangos de corte e dois em matrizes, demonstrando que a doença é importante para ambos os tipos de exploração avícola.

Nos frangos de corte, a manifestação da doença ocorreu sempre na quarta semana de vida, coincidindo provavelmente com a queda nos níveis de anticorpos maternos, visto que, em alguns surtos não era realizada vacina de BI nas aves de corte no período, fator epidemiológico importante para diagnóstico clínico.

Outro fator que auxiliou no diagnóstico foi o controle da nefropatia e miopatia nos frangos de corte pela introdução da vacina, após a ocorrência constante dos surtos, ou pela troca da vacina por outras cepas vacinais onde já se vacinava ou ainda pelo reforço na vacinação em alguns casos. Lotes posteriores foram acompanhados e não foi observada reincidência dos surtos no local.

Os altos níveis de descarte e condenação nos lotes de frangos de corte ocorreram normalmente por infecção secundária por *E. coli*, com a presença ou não de granuloma. Essa associação também foi demonstrada experimentalmente por Cook et al. (1986) inoculando a bactéria e o VBI, observando o aumento da ocorrência de lesões por colibacilose devido à associação da infecção.

No surto nº 02, os sinais clínicos foram detectados pelo aumento da condenação no abatedouro sem ter ocorrido aumento na mortalidade do lote. Isso

ocorre porque a mortalidade se deve normalmente a infecções secundárias, e nestes surtos devido ao abate precoce (32 dias), não houve tempo suficiente para refugagem e aumento da mortalidade.

Em uma das integrações aqui estudadas, não foi observada alta condenação de animais no abate devido a rigoroso programa de descarte de animais refugos no campo para diminuir os custos de produção e aumentar a eficiência alimentar, visto que animais doentes ocupam espaço, servem como reservatório da doença para os animais saudáveis, e mesmo doentes, acabam ingerindo um pouco de alimento o que reduz os ganhos do lote.

Neste estudo foi observado que as alterações da traquéia foram constantes, apesar de ter ocorrido variação na intensidade das lesões. Já as lesões pulmonares raramente estavam presentes, e quando presentes eram de intensidade baixa e consistiam apenas de congestão e hiperplasia linfóide peribronquial.

Gomes (2005) descreve casos de miopatia em frangos de corte, onde foram observadas manchas pálidas difusas, uni ou bilateralmente no músculo peitoral superficial, e no peitoral profundo intensa palidez, edema gelatinoso difuso e discreta hemorragia na fáscia muscular. Estas lesões coincidem com as deste estudo, com exceção do edema gelatinoso que foi observado de forma discreta apenas em alguns casos.

Por outro lado, na microscopia, o mesmo autor e Dhinakar Raj e Jones (1996), descrevem apenas grande espaço entre as fibras musculares, ao contrário deste estudo, em que foram observadas lesões musculares de degeneração hialina, necrose, vacuolização, edema e hipercontração de fibras.

Nos frangos de corte, foi observado macroscopicamente músculo peitoral com estrias ou áreas esbranquiçadas, alguns com pequenas áreas avermelhadas e rins aumentados de volume e pálidos, afetando tanto o músculo peitoral profundo como o superficial. Esses achados contrariam as alterações provocadas pela Doença de Oregon, ou Doença do Músculo Verde, que afeta somente o músculo peitoral profundo (WIGHT e SILLER, 1980), e além disto, o músculo afetado pode apresentar-se esverdeado, achado que não foi observado em nenhum dos casos aqui registrados.

Neste estudo não foram observadas lesões de proventrículo em nenhum dos surtos acompanhados, lesão essa reportada na China em 1996 (CAVANAGH et al.,

2003), fato provavelmente relacionado com cepas virais diferentes ou outros fatores associados com a BI.

Em todos os casos aqui estudados, observou-se uma relação constante entre as lesões renais e musculares, mas não uma correlação positiva entre lesões traqueais e musculares, ou seja, nem todos os animais que apresentaram lesões musculares, apresentaram lesões de traquéia.

Na traquéia foi observado infiltrado inflamatório linfocitário, mas não foi observada descamação epitelial e perda dos cílios como descrevem Di Fabio et al. (2000). Este achado pode estar relacionado à evolução da doença, pois os autores acima observaram a lesão nos dois primeiros dias de infecção, e neste estudo os animais foram necropsiados após este período, podendo ter havido regeneração do epitélio.

A infecção por cepas nefropáticas cursa com tumefação e palidez renal, assim como túbulos e ureteres distendidos com uratos (LAMAS et al., 1979; CAVANAGH, et al. 2003). As duas primeiras alterações foram uma constante nos casos aqui estudados, mas a presença de uratos não foi observada em nenhum dos casos descritos, podendo estar relacionada a influências de outros fatores, como por exemplo, a desidratação das aves.

A nefrite intersticial observada neste estudo também foi descrita por Lamas et al. (1979).

Nos lotes de matrizes, observou-se queda nos níveis de postura e alta mortalidade, sinais clínicos também observados por Parsons et al. (1992) e Di Fabio et al. (2000).

Diferentemente do que relataram Wight e Siller (1980), na necrose do músculo peitoral profundo, observa-se necrose de massa muscular seguida por regeneração de fibras e infiltração gordurosa, assim como um encapsulamento da massa muscular necrótica.

Nas análises não foram observadas as lesões descritas pelos autores, mas sim, um processo reparativo pela proliferação de tecido fibroso. Essa constatação de fibrose ocorre devido à ação primária do vírus provocando degeneração e necrose muscular, com posterior reparação, e este por sua vez, torna-se progressivo, intensificando a fibrose em casos crônicos, como descrito no surto nº 01, frango de corte com 115 dias.

No caso de necrose isquêmica do músculo peitoral, observa-se também alterações vasculares (WIGHT e SILLER, 1980), que não foram observadas neste estudo.

Outra patologia que pode levar à necrose do músculo peitoral é a miopatia nutricional (distrofia muscular) que cursa com edema generalizado, porém mais pronunciado na região de pescoço, sob as asas e necrose muscular em outros músculos além do peitoral (FARIA e JUNQUEIRA, 2000). Em nenhum destes locais foram observadas essas alterações.

Não há regeneração nas lesões musculares, o que indica que a lesão ocorre na fibra como um todo, diferentemente do observado em outras miopatias onde geralmente a lesão é segmentar (WIGHT e SILLER, 1980).

No surto ocorrido em matrizes, foi observada degeneração hialina de vasos e presença de alguns trombos hialinos que podem ser resultantes da deposição de imunocomplexos levando à degeneração vascular e formação de trombos.

A degeneração hialina de vasos não foi vista nos casos de frangos de corte, contrariando, portanto, a literatura (DHINAKAR RAJ e JONES, 1996) que descreve estas alterações resultando em deposição de imunocomplexos, sendo a possível causa das lesões musculares, segundo os autores.

6. CONCLUSÕES

A BI é uma doença importante em aves pelo alto índice de mortalidade ou condenação por infecções secundárias.

As lesões renais e musculares sempre estão associadas, porém não ocorre lesão respiratória em todos os casos de miopatia.

As lesões musculares são diferentes daquelas observadas em outras doenças que cursam com miopatia.

Determinadas cepas do vírus da Bronquite Infecciosa das aves podem levar à degeneração e necrose muscular, visto que, nos surtos em que foi realizada a sorologia, o resultado foi positivo para o VBI. A utilização de imunoistoquímica seria uma opção para identificar se há replicação viral no músculo.

Novos estudos fazem-se necessários para tentar identificar a cepa viral associada com a miopatia.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, JT.; RESENDE, JS.; FLATSCHART, R.B. et al.; Caracterização molecular de isolados brasileiros do vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG) de parte de N. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, Santos: Facta, 2006. p. 209. Suplemento 8.

BACK, A.; *Manual de Doenças de Aves*. Cascavel: 2002. 246p. Cap. 2: Bronquite Infecciosa das galinhas, p. 97-100.

BOOM, R.; SOL; C. J. A.; SALIMANS, M. M. M.; JANSEN, C. L.; WERTHEIM-VAN DILLEN, P. M. E.; VAN DER NOORDAA, J.; Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology* 28(3):495-503, 1990.

BRENTANO, L.; ESTEVES, P.A.; TREVISOL, I.M. et al.; Seqüenciamento do gene S₁ de vírus de bronquite infecciosa (IBV) isolados de surtos da doença associada a lesões de miopatia peitoral. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, Santos: Facta, 2006. p.241. Suplemento 8.

BRENTANO, L.; KLEIN, T.A.P.; JAENISCH, F.R. et al.; Isolamento do vírus de bronquite infecciosa das aves de surtos da doença associada a lesões atípicas de miopatia de músculo peitoral. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, Santos: Facta, 2005. p.232. Suplemento 7.

BUTCHER, G.D.; WINTERFIELD R.W.; SHAPIRO, D.P.; Pathogenesis of H13 nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Avian Diseases*, v.34, n.4, p.916-921, oct/dec, 1990.

CARDOSO, T.C.; MONTASSIER, H.J.; GALLETI, M.C.M.; PINTO, A.A.; Evaluation of indirect Elisa for monitoring antibodies against infectious bronchitis virus. *Revista de Microbiologia*, v.27, p. 64-69, 1996.

CAVANAGH, D.; NAQI, S.A.; Infectious Bronchitis. *Disease of Poultry*. 11^o ed. cap.3; p. 101-117. 1 CD-ROM, 2003.

COOK, J.K.A.; ORBELL, S.J.; WOODS, M.A. et al.; A survey of the presence of a new infectious bronchitis virus designated 4/91 (793/B). *Veterinary Record*, v.138, p.178-180, Fev.: 1996.

COOK, J. K.A.; Controle da Bronquite Infecciosa. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1990, Campinas. *Anais...* Campinas: Facta, 1990. p. 43-49.

COOK, J.K.A.; HUGGINS, M.B.; Newly isolated serotypes of infectious bronchitis virus: their role in disease. *Avian Pathology*. v.15, p.129-138, 1986.

COLUSI, A.D.; GARBINI, J.D.; Primera Comprobacion de Bronquitis Infecciosa Aviar en la Republica Argentina: Aislamiento del Virus Causal. *Revista de Medicina Veterinária*. v. 46, p. 77-84, 1965.

DHINAKAR RAJ G.; JONES, R.C.; Immunopathogenesis of infection in SPF chicks and commercial broiler chickens of a variant infectious bronchitis virus of economic importance. *Avian Pathology*. v.25, p. 481-501, 1996.

Di FABIO, J.; Classificação viral X Variantes Brasileiras. *Aveworld*, ano 2, n.12, p.20-25, out/nov: 2004.

Di FABIO, J; ROSSINI, L.I.; ORBELL, S.J. et al.; Characterization of Infectious Bronchitis Viruses Isolated from Outbreaks of Disease in Commercial Flocks in Brazil. *Avian Diseases*, v. 44, p. 582-589, 2000.

Di FABIO, J.; ROSSINI, L.I.; Bronquite Infecciosa das Galinhas. Cap. 5.4. In: BERCHIERI JÚNIOR, A. ; MACARI, M.; *Doença da Aves*. Campinas: Facta, 2000. 506p. p.293-300.

FARIA, D. E. de; JUNQUEIRA, O.M.; Enfermidades Nutricionais. Cap. 8. In: BERCHIERI JÚNIOR, A. ; MACARI, M.; *Doença da Aves*. Campinas: Facta, 2000. 506p. p.431-448.

Di FABIO, J.; Bronquite Infecciosa das Galinhas: Aspectos Clínicos e Controle da BIG no Brasil. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. *Anais...* Santos: Facta,1993. p.1-8.

EL-HOUADFI, M.D.; JONES, R.C.; COOK, J.K.A. et al.; The Isolation and Characterisation of Six Avian Infectious Bronchitis Viruses Isolated in Morocco. *Avian Pathology*. v.15, p. 93-105, 1986.

GELB, J. Jr.; WOLF, J.B.; MORAN, C.A.; Variant Serotypes of Infectious Bronchitis Virus Isolated from Commercial Layer and Broiler Chickens. *Avian Diseases*, v. 35, p. 82-87, 1991.

GOMES, L.M.; Miopatia do músculo peitoral, associado ao isolamento de um vírus variante de bronquite infecciosa, em frangos de corte – relato de casos. 2004. 12p. Monografia (Pós-graduação *Latu Sensu* em Ciências Avícolas) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2004.

GOUGH, ;RANDALL, C.J.; DAGLESS, M.; A new strain of infectious bronchitis virus infecting domestic fowl in Great Britain. *Veterinary Record*. v.130, p. 493-494, 1992.

HIDALGO, H.; GALLARDO, R.; ROSENDE, S.; Isolation of infectious bronchitis virus from broiler chickens in Chile. *Avian Diseases*. v.20, n.3, p.601-603, 1976.

HIPÓLITO, O.; SILVA, J.M.L. da; HSIUNG, H.M. et al.; Bronquite infecciosa das galinhas: a doença no Brasil. São Paulo, 1979, 72p.

HIPÓLITO, O.; BOTTINO, J.; PINTO, A.; Estudo de duas amostras de vírus isoladas de casos de aves com a “síndrome nefrite-nefrose”. *Ciência e Cultura*. v.25, n.6, p. 569, 1973.

HIPÓLITO, O.; Isolamento e identificação do vírus da bronquite infecciosa das galinhas no Brasil. *Arquivos da Escola Superior de Veterinária*. v.10, p.131-163, 1957. Minas Gerais.

ITO, N.M.K.; Bronquite Infecciosa das Galinhas. In: SIMPÓSIO TÉCNICO SOBRE MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE, 2, 1999. Chapecó. *Anais Eletrônicos...* Chapecó: 1999. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/publicações/anais/anais9910_ito.pdf Acesso em: 25 jan. 2006.

JIA, W.; MONDAL, S.P.; NAQI, S.A.; Genetic and Antigenic Diversity in Avian Infectious Bronchitis Virus Isolates of the 1940s. *Avian Diseases*. v. 46, p. 437-441, 2002.

JULY, J.R.; HIPÓLITO, O.; Considerações sobre a síndrome nefrite nefrose das galinhas: Aspectos ultraestruturais da partícula viral. *Arquivo do Instituto de Biologia*. São Paulo. v. 40, n. 4, p. 381-385, 1973.

LAMAS, J.M S. da; HWANG, M.H.; CESARO, A.J.; Aspectos clínicos e anatomopatológicos da síndrome nefrite-nefrose (SNN) em frangos de corte. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 1979, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte. p.414-422,1979.

LANDMAN, B.S.; POPE, C.R.; ZIEGLER, A.F. et al.; Protection of chickens after live and inactivated virus vaccination against challenge with nephropathogenic infectious bronchitis virus PA/Wolgemuth/98. *Avian Diseases*. v.46, p.938-944, 2002.

LIN, Z.; KATO, A.;KUDOU, K. et al.; Typing of recent infectious bronchitis vírus isolates causing nephritis in chicken. *Archives of Virology*. v.120, p.145-149, 1991.

MURPHY, F.; GIBBS, E.P.J.; HORZINEK, M.C. et al.; *Veterinary Virology*. 3th ed. London: American Press, 1999. 600p. Cap. 33: Coronaviridae, 495-508.

PARSONS, D.; ELLIS, M.M.; CAVANAGH, D. et al.; Characterization of Infectious Bronchitis Virus Isolated from Vaccinated Broiler Breeder Flocks. *The Veterinary Records*, v. 131, p.408-411, Oct: 1992.

PENA, L.J.; SANTOS, B.M. dos; ROBERTI, R.B. et al.; Bronquite Infecciosa das Galinhas. *Arquivo do Instituto de Biologia*, São Paulo, v.72, n.3, p.397-404, jul/set, 2005.

PLONCOSKY, E.; comunicação pessoal, 2006.

PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B. et al.; *Laboratory Methods in Histotechnology*. Washington: American Registry of Pathology, 1992. p.32.

RESENDE, J.S. de; Genotipificação de isolados de vírus da bronquite infecciosa das galinhas em surtos ocorridos na avicultura industrial de Minas Gerais, Brasil, de 1972 a 1989. 2003.111p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2003.

TREVISOL, I.M.; BRENTANO, L.; ESTEVES, P.A. et al.; Teste de proteção vacinal para uma amostra de bronquite infecciosa isolada de caso de miopatia frente amostra de vacina comercial H120. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, Santos,

2006. p.240. Facta – Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas. Prêmio Lamas 2006. Suplemento 8.

WIGHT, P.A.L.; SILLER, W.G.; Pathology of deep pectoral myopathy of broilers. *Veterinary Pathology*. v.17, p. 29-39, 1980.

WIT, de J.J.; Technical Review: Detection of infectious bronchitis virus. *Avian Pathology*. v.29, p.71-93, 2000.